

**VIABILITY AND FUNGISTATIC ACTIVITY OF *TRICHODERMA VIRIDE*
DURING STORAGE IN PEAT**

Oles Honchar Dnipro National University (Dnipro, Ukraine)

odrehval@gmail.com

Micromycetes of the genus Trichoderma are widely used in plant protection against mycosis pathogens due to their broad spectrum of antagonistic activity and diverse mechanisms of action on phytopathogens. The process of deep cultivation of the fungus, compared to the surface one, is characterized by less laboriousness, it is easier to control and automate. The biomass of the fungus grown in deep conditions can be introduced into various substrates, such as composted manure, pulp, biochar, wood pellets, talc and peat, and used against soil phytopathogens by pre-sowing treatment of seeds or by applying the preparation to the root zone before planting plants. It is advisable to produce such forms of the preparation if they have a guaranteed storage of at least 6 months.

The storage of three variants of the peat form of the preparation based on Trichoderma viride KMV-F-15, grown in deep conditions in three different media, was studied. It was found that during storage of all variants of the preparation at a temperature of 29°C (accelerated test), the viability and fungistatic activity of the fungus did not significantly decrease for 6 months, and at room temperature, which simulates storage in an industrial warehouse, for 15 months. The number of CFU/g of the preparation at the end of the storage period remained greater than 1×10⁶, which is considered sufficient for the manifestation of biological activity. The fungistatic activity of a 1.0% solution of the peat form of the preparation T. viride KMB-F-15 against the soil pathogen of grain crops Fusarium culmorum remained higher than 60% throughout the entire storage period. No significant effect of the composition of the nutrient medium for the accumulation of fungal biomass in deep conditions on its storage in peat was established.

Key words: *Trichoderma, antagonism, phytopathogenic fungi, peat form of the preparation, expiration date.*

Connection of the publication with planned research work.

This article is related to the scientific work of the Department of Microbiology, Virology and Biotechnology of Oles Honchar Dnipro National University: "Interrelationships of microorganisms in biocenoses" (state registration number 0125U002226).

Introduction.

Fungi of the genus *Trichoderma* are present in almost all soils, are easily isolated and cultivated on artificial nutrient media. According to literature sources, representatives of this genus are considered the most widely used active ingredients of biological products and constitute 50-60% of biological control agents for pathogens of mycoses of agricultural plants. This genus includes the largest number of species (13 representatives) used in plant protection [1]. Most often, *T. harzianum*, *T. viride* and *T. virens* are used as the basis of biological products [2].

The positive effect of *Trichoderma* on plants is due to the direct inhibition of pathogens through antibiosis due to the synthesis of secondary metabolites, mycoparasitism, as well as competition for nutrients and living space through the formation of mycelial biomass, inactivation of enzymes and toxins of pathogens, induction of systemic resistance of plants [3-5]. Representatives of this genus are able to suppress a number of soil pathogens, such as *Sclerotium rolfsii*, *Macrophomina phaseolina* [6], *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium solani* та *Rhizoctonia violaceae* [2]. In addition to the antagonistic effect on phytopathogens, micromycetes of the genus produce substances of phytohormonal nature that enhance plant growth and development (in particular, the content of chlorophyll increases), promote their

assimilation of nutrients and the efficiency of fertilizer use, and also form cellulase enzymes, which allows them to be used as destroyers of plant residues [5-7].

It is known that *Trichoderma* is able to reproduce asexually, forming vegetative mycelium, chlamydo-spores and conidia. When cultivating the fungus in deep conditions, chlamydo-spores are usually formed, while when cultivated on the surface, conidia are formed. The process of deep cultivation, compared to surface cultivation, is less labor-intensive, it is easier to control and automate. The biomass of *Trichoderma* spp. obtained by deep cultivation of the fungus can be introduced into composted manure, pulp, biochar, wood pellets, talc and peat [8].

It is important to choose a carrier for a biological agent that allows preserving its functional properties (viability, spore germination rate, enzymatic activity) during long-term storage and facilitates its application on target organisms. It is considered advisable to produce such forms of preparations if their expiration date is 6 months or more [9]. Thus, there are reports that after 24 weeks of storage of *T. harzianum* at room temperature in a substrate consisting of peat, cow manure, biochar and nutrients, the number of colony-forming units (CFU) of the fungus remained at a high level (7.98 × 10⁶ CFU/g) [10]. At the same time, Rimkus A. et al. showed that in a peat biopreparation based on *T. asperellum* MSCL 309 during a year of storage at a temperature of 15°C, the number of CFU of the fungus decreased by less than an order of magnitude [8].

Sense to the fact the peat is widely used as a substrate for growing plants, the peat form of biological products is convenient for controlling soil pathogens. It can be applied directly, for example, by applying it to the soil during sowing or planting plants [9].

In addition to the viability of the biological agent during long-term storage, it is important to determine its effectiveness against phytopathogenic fungi. It is also of interest to investigate the effect of the composition of the nutrient medium for obtaining fungal biomass at the stage of deep cultivation on the storage efficiency of the peat form of the biological product.

The aim of the study.

To determine the viability and fungistatic activity of the *Trichoderma viride* KMB-F-15 during storage in peat depending on the composition of the nutrient medium used at the stage of deep cultivation of the fungus.

Object and research methods.

The object of the research was the accumulation of biomass of *T. viride* KMB-F-15 during deep cultivation on various nutrient media, its viability and fungistatic activity against *Fusarium culmorum* during storage in peat. *T. viride* KMB-F-15 is stored in the collection of microorganisms of the Department of Microbiology, Virology and Biotechnology DNU, and has a wide range of antagonistic activity against phytopathogens.

For cultivation of *T. viride* KMB-F-15 in deep conditions, three variants of nutrient media were used. Media No. 1 (g/l): glycerol – 35.0; K₂HPO₄ – 0.99; (NH₄)₂SO₄ – 3.0; MgSO₄×7H₂O – 0.5; KCl – 0.5; FeSO₄×7H₂O – 0.01. Media No. 2 (g/l): corn extract – 25.0; green molasses – 20.0; K₂HPO₄ – 1.0; KCl – 0.5; FeSO₄×7H₂O – 0.01; MgSO₄×7H₂O – 0.5. Media No. 3 (g/l): yeast autolysate – 3.0; sucrose – 20.0. Inoculation was carried out in an amount of 1.0% of the medium volume with a suspension of conidia (1×10⁷ spores/ml) of a 7-day culture grown on Čapek-Dox agar. Cultivation was carried out on a microbiological rocker (200 rpm) in 500 ml Erlenmeyer flasks with 150 ml of medium at 26°C for three days. After deep cultivation, a microscopic examination of the culture fluid was carried out, making a “crushed drop” preparation, and the dry biomass of the fungus was determined by weight.

To receive the peat form of the preparation, peat for seedlings of Ukrainian production with a pH of 5.5-6.5 was used. 90 ml of culture liquid and 270 ml of sterile tap water were added to 0.5 kg of sterile peat. Three variants of the biological preparation were received, depending on the applied nutrient medium for deep cultivation. Each variant was divided in half and placed in zip-bags, in which holes for aeration were made with a needle evenly every 3 cm. The variants of the preparation were stored in a thermostat at 29°C and at room temperature. The number of *T. viride* KMB-F-15 CFU in 1 g of the preparation was determined by the method of sowing 10-fold dilutions on Čapek-Dox medium with colony counting for 2-3 days of incubation at 26°C.

The fungistatic activity of *T. viride* KMB-F-15 during storage of the preparation was determined simultaneously with viability, investigating the colonization of the agar medium surface and its competitiveness against the plant-pathogenic fungus *Fusarium culmorum* IMV-F-50716 from the collection of microorganisms of the Institute of Microbiology and Virology named after D.K. Zabolotny of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv). Sterile filter paper discs with a diameter of 0.4 cm were evenly moistened with a 1% suspension of the biological preparation and placed on the surface of potato-glucose agar in Petri dishes with a diameter of 90 mm at a distance of 4 cm from the agar block with *F.*

culmorum with a diameter of 0.4 cm, cut from a 7-day culture. The dishes were incubated for 7 days at 26°C. The viability of *T. viride* KMB-F-15 was determined on the third day by the area of the colonized surface and expressed as a percentage of the total surface area of the dish. Fungistatic activity was determined on the seventh day of incubation by the percentage of growth inhibition (PI %) of *F. culmorum* according to the formula:

$$PI \% = [(S_1 - S_2) / S_1] \times 100,$$

where S₁ – the area of the *F. culmorum* colony in the control (in the absence of a filter paper disk soaked in a biological preparation solution), S₂ – the area of the *F. culmorum* colony in the experiment [11]. To process the photographs of the plates, the ImageJ 1.53k software (National Institutes of Health, USA) was used.

Statistical data processing was carried out using the computer program Statgraphics Centurion XV version 15.01.02. All experiments were performed in triplicate, the arithmetic mean and the error of the arithmetic mean were determined. One-way analysis of variance (ANOVA test) and Tukey’s multiple criterium were used. All differences were considered statistically significant at P<0.05.

Research results and their discussion.

T. viride KMB-F-15 accumulated biomass from 9.7 to 11.5 g/l in three nutrient media used for deep cultivation. There was no statistically significant difference between the mean values (P>0.05) and it can be stated that all the testing nutrient media compositions are equally suitable for obtaining fungal biomass.

Microscopic research of the culture fluid showed that a large number of chlamydospores accumulated in medium No. 2, and in mediums No. 1 and No. 3, the fungal biomass consisted mainly of mycelium and single chlamydospores. The storage of variants of the peat preparation (No. 1-3), obtained respectively after adding biomass from 3 nutrient media to peat, was studied. Samples of the preparations were stored in a thermostat at 29°C (accelerated test) and at room temperature (simulating storage in an industrial warehouse).

At the beginning of storage of the preparation at 29°C, the number of CFU/g of fungus in all variants of the preparation was about 1×10⁶ (fig. 1).

After two weeks of storage of the preparation, the number of CFU/g increased by approximately an order

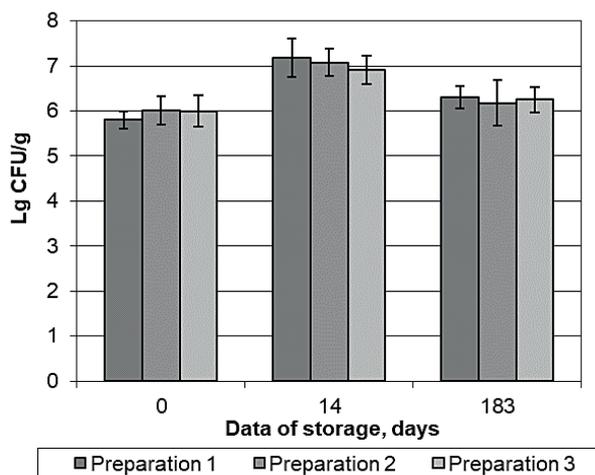


Figure 1 – Lg CFU/g *Trichoderma viride* KMB-F-15 for different data of storage in days (t=29°C).

of magnitude, which can be explained by the formation of conidia on the surface of the peat. Particularly abundant formation of conidia was observed for variant No. 1. This fact confirms the opinion of some researchers that peat is a favorable substrate for maintaining and increasing the number of cells of microorganisms introduced into it [8].

After 6 months of storage, the number of CFU/g in all variants of the preparation decreased compared to the previous determination for second week, but remained at a fairly high level, more than 1×10^6 CFU/g, which is considered sufficient for the manifestation of biological activity of the preparation [8, 12].

Storage of the three peat preparation variants at room temperature was effective for 15 months, the number of CFU/g in all preparation variants even increased compared to the initial level (fig. 2).

In addition to determining the number of CFU/g of *T. viride* KMV-F-15, the ability of the fungus in a 1.0% suspension of the preparation to colonize the surface of the nutrient medium (for three days) and to exhibit fungistatic activity (for 7 days) in a binary culture with the phytopathogen *F. culmorum* IMV-F-50716 was studied.

After two weeks of exposure of the preparation in a thermostat, the viability of *T. viride* in terms of the percentage of colonization of the surface of the nutrient medium significantly ($P < 0.05$) increased for variant No. 1, on the surface of which abundant conidia formation was observed (table 1). After three months of storage, there was no statistically significant difference in the viability of the fungus in all variants of the preparation compared to the beginning of the experiment.

After 6 months of exposure in the thermostat, the viability of the fungus significantly decreased in all variants of the preparation compared to the initial indicators, and for variant No. 2 also compared to the 3rd month of exposure. A significant decrease in the viability of the fungus in variant No. 2 is probably due to the formation of biomass containing a large number of chlamydospores, which are inferior to conidia in storage [13].

Statistical analysis showed that the composition of the medium in which the fungal biomass was received was not crucial for preserving its viability in peat, since there was no significant difference between the viability of the fungus in the three variants of the preparation.

Table 1 – Viability of *T. viride* KMV-F-15 in peat preparation during storage at 29°C

Variant	Colonization of medium surface, %			
	During inoculation	Two weeks	Three months	Six months
1	69.9±2.4 ^{aA}	85.5±1.8 ^{bA}	63.6±4.3 ^{aCA}	50.3±2.7 ^{cA}
2	75.6±4.8 ^{aA}	80.7±2.1 ^{aA}	66.8±3.3 ^{aA}	35.5±2.9 ^{bA}
3	80.3±1.8 ^{aA}	81.1±1.5 ^{aA}	63.6±3.6 ^{abA}	44.3±8.3 ^{bA}

Notes: different lowercase letters in the row indicate a statistically significant difference in the viability of the fungus during storage (according to the Tukey criterion, $P < 0.05$); the same uppercase letters in the column indicate the absence of a statistically significant difference in the viability of the fungus in different variants of the preparation (according to the Tukey criterion, $P > 0.05$).

The ability to colonize the surface of the medium of *T. viride* throughout the entire storage period of the peat preparation at room temperature did not significantly

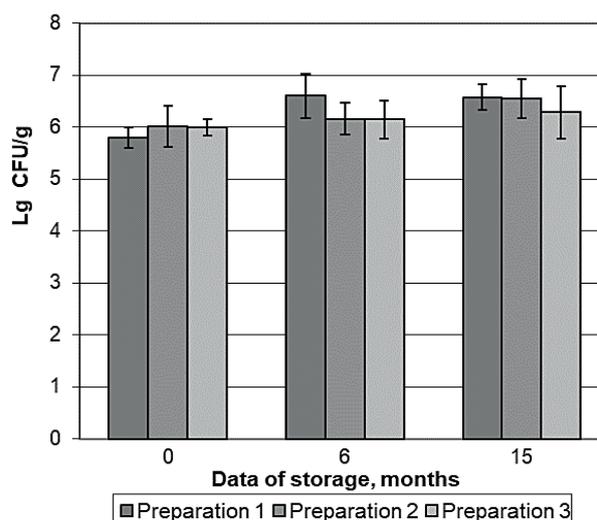


Figure 2 – Lg CFU/g *Trichoderma viride* KMV-F-15 for different data of storage in months (t=20°C).

decrease for variants No. 1 and No. 2 (table 2). For the variant No. 3, a significant decrease in viability was established compared to the initial indicator. Also, a statistically significant lower viability of the fungus in this variant of the preparation was noted compared to the variants No. 1 and No. 2 at the 6th month. However, after 15 months of storage in peat, regardless of the composition of the nutrient medium used at the stage of deep cultivation, the ability to colonize the surface of the fungus was almost the same (62.6-64.6%).

The percentage of inhibition of the *F. culmorum* growth by *Trichoderma* after two weeks of exposure of variant No. 1 of the preparation in the thermostat significantly increased compared to the initial value, in the other two variants the differences were insignificant (table 3).

Table 2 – Viability of *T. viride* KMV-F-15 in the peat preparation during storage at room temperature (t=20°C)

Variant	Colonization of medium surface, %			
	During inoculation	Six months	Twelve months	Fifteen months
1	69.9±2.4 ^{aA}	64.5±1.5 ^{aA}	59.3±5.1 ^{aA}	64.6±1.4 ^{aA}
2	75.6±4.8 ^{aA}	63.6±2.9 ^{aA}	59.2±6.7 ^{aA}	62.6±1.4 ^{aA}
3	80.3±1.8 ^{aA}	53.7±0.1 ^{bB}	52.0±2.4 ^{bA}	62.7±1.9 ^{cA}

Notes: different lowercase letters in the row indicate a statistically significant difference in the viability of the fungus during storage (according to the Tukey criterion, $P < 0.05$); different uppercase letters in the column indicate a statistically significant difference in the viability of the fungus in different variants of the preparation (according to the Tukey criterion, $P < 0.05$).

After three months of exposure in the thermostat, the fungistatic activity of all variants of the preparation decreased compared to the previous determination (after two weeks), for variants No. 2 and No. 3 there was no significant decrease compared to the beginning of the experiment, unlike variant No. 1. After six months, the fungistatic activity significantly decreased for the variant No. 2 of the preparation compared to the beginning of the exposure at 29°C, which is consistent with the data on the decrease in the viability of *T. viride* in this variant (table 1). For the variants No. 1 and No. 3,

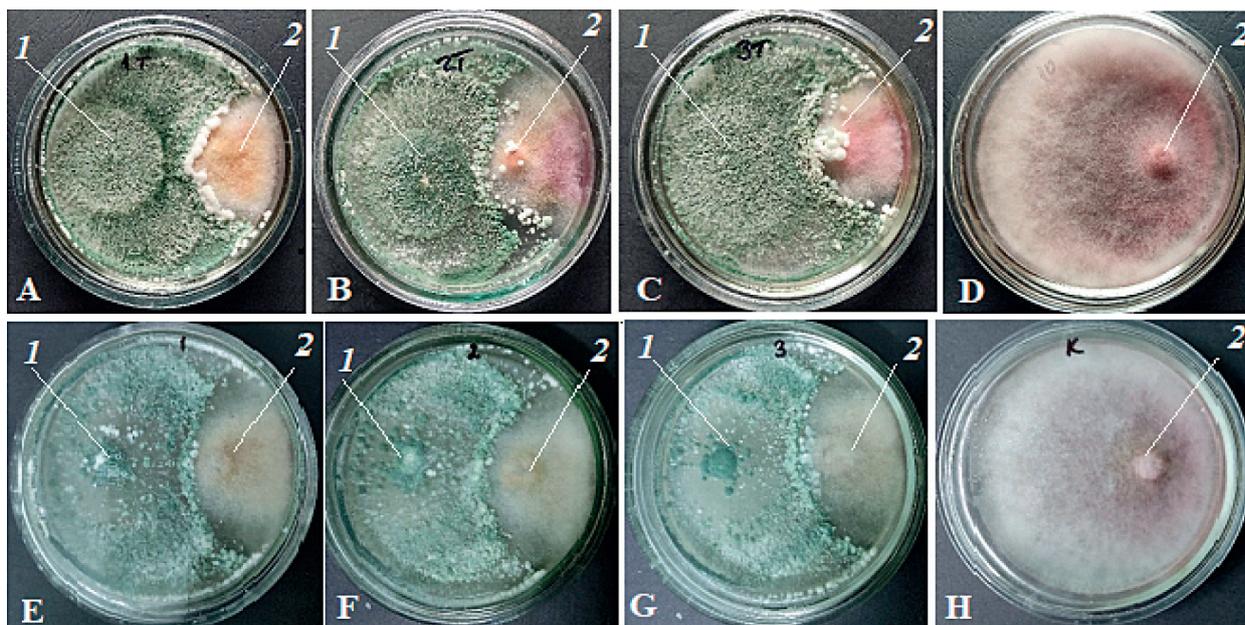


Figure 3 – Determination of fungistatic activity of *T. viride* in binary culture with *F. culmorum*: A, B, C – at the beginning of storage of all variants of the preparation, respectively, D – control of phytopathogen growth; E, F, G – after 15 months of storage of all variants, H – control of phytopathogen growth. Designations: 1 – *T. viride*; 2 – *F. culmorum*

the decrease in the fungistatic activity compared to the initial value was insignificant.

Depending on the variant of the preparation, the fungistatic activity after six months of incubation in a thermostat was within 67.9-78.4% inhibition of the growth of *F. culmorum*. The indicator of biological activity of antagonists of more than 60.0%, determined in binary cultures with phytopathogens, is considered to be quite high [14].

Table 3 – Fungistatic activity of *Trichoderma viride* KMV-F-15 during storage of the peat preparation at a temperature of 29°C

Variant	Inhibition of <i>Fusarium culmorum</i> growth, %			
	During inoculation	Two weeks	Three months	Six months
1	84.6±1.8 ^{aA}	94.2±0.6 ^{bA}	74.1±0.7 ^{cA}	78.4±3.1 ^{acA}
2	80.7±2.6 ^{abA}	89.4±2.8 ^{ba}	76.5±1.3 ^{acA}	67.9±1.9 ^{cA}
3	80.6±1.3 ^{abA}	91.9±1.4 ^{ba}	73.5±1.8 ^{abA}	70.1±6.5 ^{abA}

Notes: different lowercase letters in the row indicate a statistically significant difference in the fungistatic activity of the fungus during storage (according to the Tukey criterion, P<0.05); the same uppercase letters in the column indicate the absence of a statistically significant difference in the fungistatic activity of the fungus in different variants of the preparation (according to the Tukey criterion, P>0.05).

The fungistatic activity of all variants of the preparation during storage at room temperature did not significantly decrease during 15 months (table 4, fig. 3) and at the end of the storage period was within 74.1-75.2% inhibition of *F. culmorum* growth.

Statistical analysis showed no effect of the composition of the nutrient medium for biomass accumulation in deep conditions on its fungistatic activity during storage in peat.

Thus, peat is a substrate rich in nutrients for *T. viride*, due to which the viability and fungistatic activity of the fungus is maintained at a high level for 6 months at a temperature of 29°C and 15 months at room temperature.

Table 4 – Fungistatic activity of *Trichoderma viride* KMV-F-15 during storage of the peat preparation at room temperature (t=20°C)

Variant	Inhibition of <i>Fusarium culmorum</i> growth, %			
	During inoculation	Two weeks	Three months	Six months
1	84.6±1.8 ^{aA}	74.8±3.9 ^{aA}	72.5±3.7 ^{aA}	74.1±1.0 ^{aA}
2	80.7±2.6 ^{aA}	69.3±1.3 ^{ba}	72.9±2.3 ^{abA}	75.0±1.8 ^{abA}
3	80.6±1.3 ^{aA}	68.5±5.4 ^{abA}	64.5±4.3 ^{ba}	75.2±2.1 ^{abA}

Notes: different lowercase letters in the row indicate a statistically significant difference in the fungistatic activity of the fungus during storage (according to the Tukey criterion, P<0.05); the same uppercase letters in the column indicate the absence of a statistically significant difference in the fungistatic activity of the fungus in different variants of the drug (according to the Tukey criterion, P>0.05).

It should be noted that in this research, the fungistatic activity of *T. viride* in peat preparation was determined against *F. culmorum*, a dangerous pathogen of small grain crops that causes root rot and ear damage [15]. Mycotoxins produced by *F. culmorum* (trichothecenes, zearalenone and fusarins), accumulating in plant tissues, can enter food and feed and pose a significant risk to human and animal health [16, 17]. According to the literature, it is known that some *Trichoderma* strains are able to inhibit the synthesis of mycotoxins. Thus, *T. atroviride* AN240 and *T. viride* AN430 not only effectively suppressed the growth of *F. culmorum* KF846, but also the accumulation of toxins both in laboratory and field conditions [15]. Since root rot pathogens are transmitted through the soil and through crop residues [17], pre-sowing treatment of seed material with fungicides is important, in particular based on microbes that are antagonists of phytopathogens. Therefore, the peat form of the drug based on *T. viride* KMV-F-15, which in vitro showed effectiveness against *F. culmorum*, may be promising for use in field conditions.

Conclusions.

Viability (up to 3.7×10⁶ CFU/g) and fungistatic activity (up to 75.2% inhibition of *F. culmorum* IMV-F-50716

growth) of *T. viride* KMV-F-15 in the peat form of the preparation was maintained at a high level for 15 months at room temperature. A significant effect of the composition of the nutrient medium for the accumulation of fungal biomass in deep conditions on its storage in peat was not established. Prospects for further research. It is planned to conduct a test of the effectiveness of the use

of the peat form of the preparation *T. viride* KMV-F-15 against soil phytopathogens in field conditions.

Prospects for further research.

It is planned to conduct a test of the effectiveness of the use of the peat form of the preparation *T. viride* KMV-F-15 against soil phytopathogens in field conditions.

DOI 10.29254/2077-4214-2026-1-180-398-408

УДК 579.64 + 632.9

Дрегваль О. А., Зубарева І. М., Гаврилюк В. Г., Лаврентьєва К. В., Скляр Т. В.

ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ ТА ФУНГІСТАТИЧНА АКТИВНІСТЬ *TRICHODERMA VIRIDE* ПІД ЧАС ЗБЕРІГАННЯ У ТОРФІ

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара (м. Дніпро, Україна)

odrehval@gmail.com

Мікроміцети роду *Trichoderma* широко застосовуються у захисті рослин від збудників мікозів завдяки широкому спектру антагоністичної активності та різноманітним механізмам дії на фітопатогени. Процес глибинного культивування гриба, порівняно з поверхневим, характеризується меншою трудомісткістю, його легше контролювати та автоматизувати. Вирощену в глибинних умовах біомасу гриба можна вносити в різні субстрати, такі як компостований гній, жом, біовугілля, гранули деревини, тальк та торф, і використовувати проти ґрунтових фітопатогенів шляхом передпосівної обробки насіння або внесенням препарату в прикореневу зону перед посадкою рослин. Такі форми препарату доцільно виробляти, якщо вони мають гарантований термін зберігання не менше 6 місяців.

Досліджено зберігання трьох варіантів торф'яної форми препарату на основі *Trichoderma viride* KMB-F-15, вирощеної в глибинних умовах у трьох різних середовищах. Встановлено, що під час зберігання усіх варіантів препарату за температури 29°C (прискорене випробування) життєздатність та фунгістатична активність гриба суттєво не знижувалася упродовж 6 місяців, а за кімнатної температури, що імітує зберігання на промисловому складі – упродовж 15 місяців. Кількість КУО/г препарату в кінці терміну зберігання залишалася більшою, ніж 1×10⁶, що вважається достатнім для прояву біологічної активності. Фунгістатична активність 1% розчину торф'яної форми препарату *T. viride* KMB-F-15 відносно ґрунтового патогену зернових культур *Fusarium culmorum* залишалася вищою за 60% упродовж усього періоду зберігання. Не було встановлено суттєвого впливу складу поживного середовища для накопичення біомаси гриба в глибинних умовах на її зберігання в торфі.

Ключові слова: *Trichoderma*, антагонізм, фітопатогенні гриби, торф'яна форма препарату, термін придатності.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Дана стаття має зв'язок з науково-дослідною роботою кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара: «Взаємовідносини мікроорганізмів в біоценозах» (номер державної реєстрації 0125U002226).

Вступ.

Гриби роду *Trichoderma* присутні майже в усіх ґрунтах, легко виділяються та культивуються на штучних поживних середовищах. За даними літературних джерел представники цього роду вважаються найбільш застосованими активними інгредієнтами біопрепаратів і складають 50-60 % агентів біологічного контролю за збудниками мікозів сільськогосподарських рослин. Цей рід охоплює найбільшу кількість видів (13 представників), які використовуються у захисті рослин [1]. Найчастіше як основу біопрепаратів застосовують *T. harzianum*, *T. viride* та *T. virens* [2].

Позитивний вплив *Trichoderma* на рослини обумовлений безпосереднім пригніченням збудників хвороб за допомогою антибіозу внаслідок виділення вторинних метаболітів, мікопаразитуванням, а також конкуренцією за поживні речовини та життє-

вий простір шляхом утворення міцеліальної біомаси, інактивацією ферментів і токсинів патогенів, індукцією системної резистентності рослин [3-5]. Представники цього роду здатні пригнічувати ряд ґрунтових патогенів, таких як *Sclerotium rolfsii*, *Macrophomina phaseolina* [6], *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium solani* та *Rhizoctonia violaceae* [2]. Крім антагоністичної дії відносно фітопатогенів, мікроміцети роду *Trichoderma* продукують речовини фітогормональної природи, які посилюють ріст та розвиток рослин (зокрема збільшується вміст хлорофілів), сприяють засвоєнню ними поживних речовин і ефективності використання добрив, а також утворюють целюлазні ферменти, що дозволяє використовувати їх як деструкторів рослинних решток [5-7].

Відомо, що *Trichoderma* здатна розмножуватися безстатевим шляхом, утворюючи вегетативний міцелій, хламідоспори та конідії. При культивуванні гриба в глибинних умовах зазвичай утворюються хламідоспори, тоді як при поверхневому – конідії. Процес глибинного культивування, порівняно з поверхневим, менш трудомісткий, його легше контролювати та автоматизувати. Біомасу *Trichoderma* spp., отриману глибинним вирощуванням гриба, можна вносити

у компостованій гній, жом, біовугілля, гранули деревини, тальк та торф [8].

Важливо підібрати носій для біологічного агенту, який дозволяє зберігати його функціональні властивості (життєздатність, швидкість проростання спор, ферментативну активність) під час тривалого зберігання та полегшувати його застосування на цільових організмах. Вважається доцільним виробництво таких форм препаратів, якщо термін їх придатності складає від 6 місяців і більше [9]. Так, існують повідомлення, що після 24 тижнів зберігання *T. harzianum* за кімнатної температури в субстраті, що складався з торфу, коров'ячого гною, біовугілля та поживних речовин, кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) гриба залишалася на високому рівні ($7,98 \times 10^6$ КУО/г) [10]. У той же час Rimkus A. et al. показано, що у торф'яному біопрепараті на основі *T. asperellum* MSCL 309 упродовж року зберігання за температури 15°C кількість КУО гриба знижувалася менш, ніж на порядок [8]. Оскільки торф широко застосовують як субстрат для вирощування рослин, торф'яна форма біопрепаратів зручна для контролю ґрунтових патогенів. Її можна застосовувати безпосередньо, наприклад, шляхом внесення в ґрунт під час посіву або посадки рослин [9].

Крім життєздатності біологічного агенту в процесі довготривалого зберігання, важливо визначити його ефективність відносно фітопатогенних грибів. Також представляє інтерес дослідити вплив складу поживного середовища для отримання біомаси гриба на етапі глибинного культивування на ефективність зберігання торф'яної форми біопрепарату.

Мета дослідження.

Визначити життєздатність та фунгістатичну активність штаму *Trichoderma viride* KMB-F-15 під час зберігання в торфі залежно від складу поживного середовища, використаного на етапі глибинного культивування гриба.

Об'єкт і методи дослідження.

Об'єктом дослідження було накопичення біомаси *T. viride* KMB-F-15 при глибинному культивуванні на різних поживних середовищах, її життєздатність та фунгістатична активність по відношенню до *Fusarium culmorum* у процесі зберігання в торфі. Штам *T. viride* KMB-F-15 зберігається в колекції культур мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології ДНУ імені Олеса Гончара, має широкий спектр антагоністичної активності відносно фітопатогенів.

Для культивування *T. viride* KMB-F-15 у глибинних умовах використовували 3 поживних середовища. Середовище №1 (г/л): гліцерин – 35; K_2HPO_4 – 0,99; $(NH_4)_2SO_4$ – 3; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,5; KCl – 0,5; $FeSO_4 \times 7H_2O$ – 0,01. Середовище №2 (г/л): кукурудзяний екстракт – 25; зелена патока – 20; K_2HPO_4 – 1; KCl – 0,5; $FeSO_4 \times 7H_2O$ – 0,01; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,5. Середовище №3 (г/л): дріжджовий автолізат – 3; сахароза – 20. Засів здійснювали у кількості 1% від об'єму середовища суспензією конідій (1×10^7 спор/мл) 7-денної культури, вирощеної на агарі Чапека-Докса. Культивування здійснювали на мікробіологічній качалці (200 об/хв) в колбах Ерленмейера на 500 мл із 150 мл середовища при 26°C упродовж 3 діб. Після глибинного культивування проводили мікроскопічне дослідження культуральної рідини, виготовляючи препа-

рат «роздавленої краплі», та визначали суху біомасу гриба ваговим методом.

Для отримання торф'яної форми препарату використовували торф для розсади рослин вітчизняного виробництва з показником рН 5,5-6,5. До 0,5 кг стерильного торфу додавали 90 мл культуральної рідини та 270 мл стерильної водопровідної води. Отримували 3 варіанти біопрепарату відповідно від застосованого поживного середовища для глибинного культивування. Кожний варіант ділили навпіл та поміщали у зіп-пакети, в яких рівномірно через кожні 3 см робили голкою отвори для аерації. Варіанти препарату зберігали в термостаті за 29°C та за кімнатної температури. Кількість КУО *T. viride* KMB-F-15 в 1 г препарату визначали методом висіву 10-кратних розведень на середовище Чапека-Докса з підрахунком колоній на 2-3 добу інкубації за 26°C.

Фунгістатичну активність *T. viride* KMB-F-15 під час зберігання препарату визначали одночасно з життєздатністю, досліджуючи колонізацію поверхні агаризованого середовища та її конкурентоспроможність відносно патогенного для рослин гриба *Fusarium culmorum* IMB-F-50716 із колекції культур мікроорганізмів Інституту мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАНУ (м. Київ). Стерильні диски фільтрувального паперу діаметром 0,4 см рівномірно змочували 1% суспензією біопрепарату та поміщали на поверхню картопляно-глюкозного агару в чашках Петрі діаметром 90 мм на відстані 4 см від блоку агару з *F. culmorum* діаметром 0,4 см, вирізаного з семиденної культури. Чашки інкубували 7 днів при температурі 26°C. Життєздатність *T. viride* KMB-F-15 визначали на третій день за площею колонізованої поверхні і виражали у відсотках від загальної площі поверхні чашки. Фунгістатичну активність визначали на сьомий день інкубації за відсотком інгібування росту (PI %) *F. culmorum* за формулою:

$$PI \% = [(S_1 - S_2) / S_1] \times 100,$$

де S_1 – площа колонії *F. culmorum* у контролі (у відсутності диску фільтрувального паперу, просоченого розчином біопрепарату), S_2 – площа колонії *F. culmorum* у досліді [11]. Для обробки фотографій чашок використовували програмне забезпечення ImageJ 1.53k (National Institutes of Health, USA).

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Statgraphics Centurion XV version 15.01.02. Усі досліді проводили в трьох повторах, визначали середнє арифметичне та помилку середнього арифметичного. Використовували однофакторний дисперсійний аналіз (тест ANOVA) і множинний критерій Тьюкі. Всі відмінності вважали статистично значущими за $P < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення.

Штам *T. viride* KMB-F-15 накопичував біомасу від 9,7 до 11,5 г/л у трьох застосованих для глибинного культивування поживних середовищах. Оскільки статистично значущої різниці між середніми значеннями не було ($P > 0,05$), можна стверджувати, що всі досліджувані складі поживних середовищ однаково придатні для отримання біомаси гриба.

Мікроскопічне дослідження культуральної рідини показало, що в середовищі №2 накопичувалася велика кількість хламідоспор, а у середовищах №1 та №3 біомаса гриба складалася в основному з міцелію та одиничних хламідоспор.

Досліджували зберігання 3 варіантів торф'яного препарату (№1-3), отриманих відповідно після внесення біомаси з 3 поживних середовищ у торф. Зразки препаратів зберігали в термостаті за 29°C (прискорене випробування) та за кімнатної температури (імітує зберігання на промисловому складі).

На початку зберігання препарату за 29°C кількість КУО/г гриба во всіх варіантах препарату була близько 1×10^6 (рис. 1).

Після 2 тижнів зберігання препарату кількість КУО/г збільшилася приблизно на порядок, що можна пояснити утворенням конідій на поверхні торфу. Особливо рясне утворення конідій спостерігалось для 1 варіанту. Цей факт підтверджує думку деяких дослідників, що торф є сприятливим субстратом для підтримки та збільшення кількості клітин мікроорганізмів, внесених у нього [8].

Через 6 місяців зберігання кількість КУО/г у всіх варіантах препарату знизилась порівняно з попереднім визначенням на 2 тижень, але залишалась на доволі високому рівні, більше ніж 1×10^6 КУО/г, що вважається достатнім для прояву біологічної активності препаратом [8, 12].

Зберігання трьох варіантів торф'яного препарату за кімнатної температури було ефективним упродовж 15 місяців, кількість КУО/г у всіх варіантах препарату навіть збільшилася порівняно з початковим рівнем (рис. 2).

Крім визначення кількості КУО/г *T. viride* КМВ-F-15, вивчали здатність гриба в 1% суспензії препарату колонізувати поверхню поживного середовища (на 3 добу) та проявляти фунгістатичну активність (на 7 добу) у бінарній культурі з фітопатогеном *F. culmorum* ІМВ-F-50716.

Через 2 тижні витримки препарату в термостаті життєздатність *T. viride* за відсотком колонізації поверхні поживного середовища достовірно ($P < 0,05$) зростала для варіанта 1, на поверхні якого спостерігалось рясне утворення конідій (табл. 1). Через 3 місяці зберігання статистично значущої різниці життєздатності гриба в усіх варіантах препарату порівняно з початком досліду не було.

Таблиця 1 – Життєздатність *T. viride* КМВ-F-15 у торф'яному препараті в процесі зберігання за температури 29°C

Варіант препарату	Колонізація поверхні поживного середовища, %			
	На початок	2 тижні	3 місяці	6 місяців
1	69,9±2,4 ^{aA}	85,5±1,8 ^{bA}	63,6±4,3 ^{aCA}	50,3±2,7 ^{CA}
2	75,6±4,8 ^{aA}	80,7±2,1 ^{aA}	66,8±3,3 ^{aA}	35,5±2,9 ^{bA}
3	80,3±1,8 ^{aA}	81,1±1,5 ^{aA}	63,6±3,6 ^{abA}	44,3±8,3 ^{bA}

Примітки: різними маленькими літерами в рядку вказано статистично значуща різниця життєздатності гриба в процесі зберігання (за критерієм Тьюкі, $P < 0,05$); однаковими великими літерами у стовпчику вказано відсутність статистично значущої різниці життєздатності гриба в різних варіантах препарату (за критерієм Тьюкі, $P > 0,05$).

Через 6 місяців витримки в термостаті життєздатність гриба достовірно знизилась в усіх варіантах препарату порівняно з початковими показниками, а для 2 варіанту також порівняно з 3 місяцем витримки. Значне зниження життєздатності гриба у 2 варіанті, ймовірно, пов'язано із закладанням біомаси, що мі-

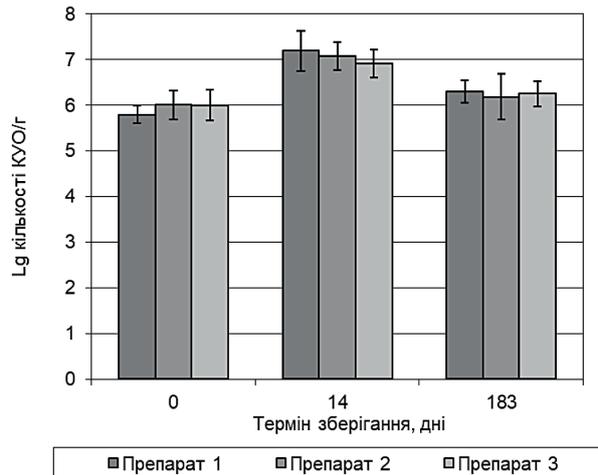


Рисунок 1 – Кількість КУО/г *Trichoderma viride* КМВ-F-15 на різні терміни зберігання за температури 29°C.

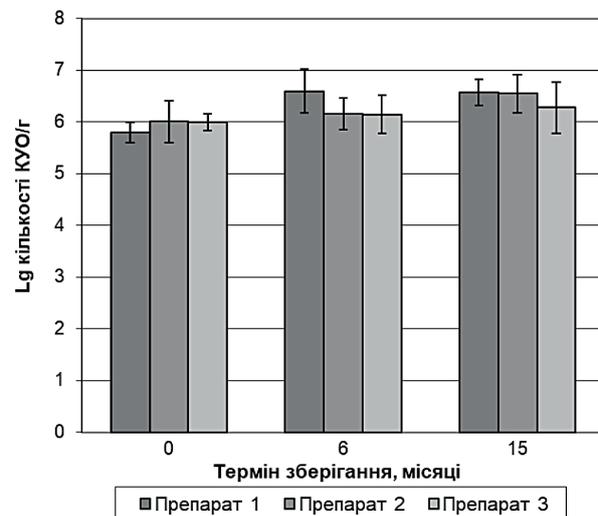


Рисунок 2 – Кількість КУО/г *Trichoderma viride* КМВ-F-15 на різні терміни зберігання за кімнатної температури.

стила велику кількість хламідоспор, які поступають конідіям за зберіганням [13].

Статистичний аналіз показав, що склад середовища, в якому була отримана біомаса гриба, не мав вирішального значення для зберігання її життєздатності у торфі, оскільки достовірної різниці між життєздатністю гриба в трьох варіантах препарату не було.

Здатність колонізувати поверхню середовища *T. viride* упродовж усього терміну зберігання торф'яного препарату в кімнатних умовах суттєво не знижувалась для 1 та 2 варіанту препарату (табл. 2). Для 3 варіанту встановлено достовірне зниження життєздатності порівняно з початковим показником. Також відмічена статистично достовірна нижча життєздатність гриба у цьому варіанті препарату порівняно з 1 та 2 варіантом на 6-й місяць. Проте через 15 місяців зберігання у торфі, незалежно від складу поживного середовища, використаного на етапі глибинного культивування, здатність колонізувати поверхню грибом була майже однаковою (62,6-64,6%).

Відсоток інгібування росту фітопатогенного гриба *F. culmorum* триходермою через 2 тижні витримки 1 варіанту препарату в термостаті достовірно підвищувався порівняно з початковим значенням, у

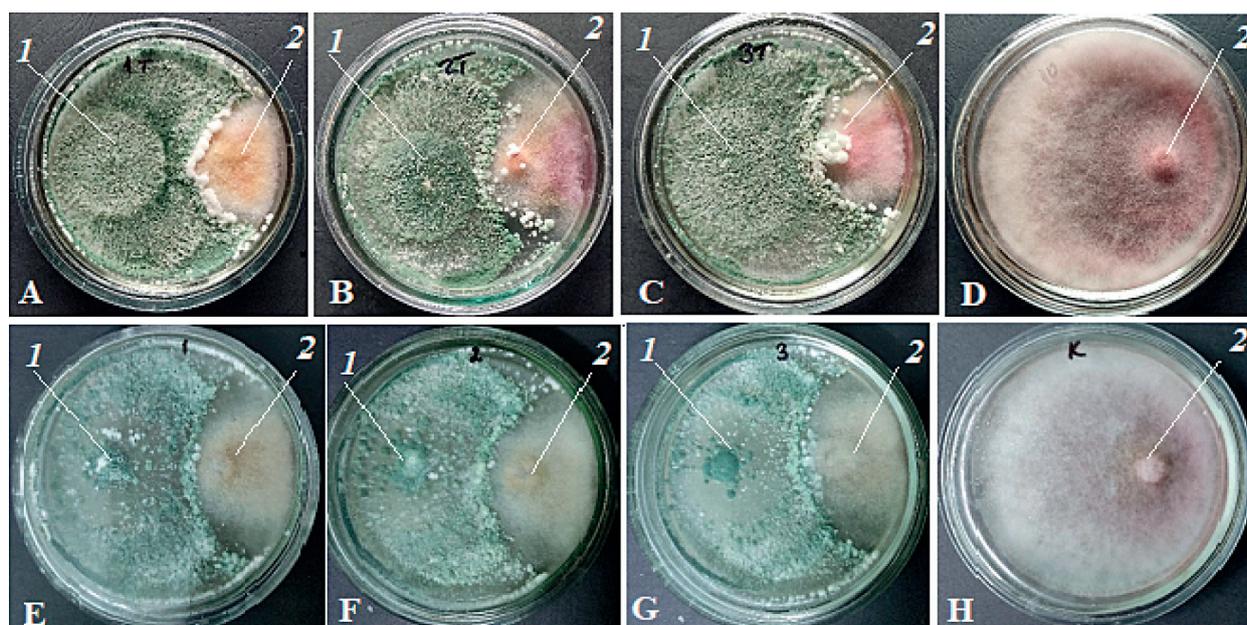


Рисунок 3 – Визначення фунгістатичної активності *T. viride* в бінарній культурі з *F. culmorum*: А, В, С – на початку зберігання 1, 2, 3 варіантів препарату відповідно, D – контроль росту фітопатогена; Е, F, G – через 15 місяців зберігання 1, 2, 3 варіантів препарату відповідно, H – контроль росту фітопатогена. Позначення: 1 – *T. viride*; 2 – *F. culmorum*.

Таблиця 2 – Життєздатність *T. viride* КМВ-F-15 у торф'яному препараті в процесі зберігання за кімнатної температури

Варіант препарату	Колонізація поверхні поживного середовища, %			
	На початку	6 місяців	12 місяців	15 місяців
1	69,9±2,4 ^{аА}	64,5±1,5 ^{аА}	59,3±5,1 ^{аА}	64,6±1,4 ^{аА}
2	75,6±4,8 ^{аА}	63,6±2,9 ^{аА}	59,2±6,7 ^{аА}	62,6±1,4 ^{аА}
3	80,3±1,8 ^{аА}	53,7±0,1 ^{бВ}	52,0±2,4 ^{бА}	62,7±1,9 ^{сА}

Примітки: різними маленькими літерами в рядку вказано статистично значуща різниця життєздатності гриба в процесі зберігання (за критерієм Тьюкі, P<0,05); різними великими літерами у стовпчику вказано статистично значуща різниця життєздатності гриба в різних варіантах препарату (за критерієм Тьюкі, P<0,05).

двох інших варіантів відмінності були недостовірні (табл. 3).

Після 3 місяців витримки в термостаті фунгістатична активність усіх варіантів препарату знизилася порівняно з попереднім визначенням (через 2 тижні), для 2 та 3 варіантів достовірного зниження порівняно з початком експериментом не було, на відміну від 1 варіанту. Через 6 місяців фунгістатична активність достовірно знижувалася для 2 варіанту препарату порівняно з початком витримки за 29°C, що узгоджується

Таблиця 3 – Фунгістатична активність *Trichoderma viride* КМВ-F-15 під час зберігання торф'яного препарату за температури 29 °C

Варіант препарату	Інгібування росту <i>Fusarium culmorum</i> , %			
	На початку	2 тижні	3 місяці	6 місяців
1	84,6±1,8 ^{аА}	94,2±0,6 ^{бА}	74,1±0,7 ^{сА}	78,4±3,1 ^{сА}
2	80,7±2,6 ^{аА}	89,4±2,8 ^{бА}	76,5±1,3 ^{сА}	67,9±1,9 ^{сА}
3	80,6±1,3 ^{аА}	91,9±1,4 ^{бА}	73,5±1,8 ^{аА}	70,1±6,5 ^{аА}

Примітки: різними маленькими літерами в рядку вказано статистично значуща різниця фунгістатичної активності гриба в процесі зберігання (за критерієм Тьюкі, P<0,05); однаковими великими літерами у стовпчику вказано відсутність статистично значущої різниці фунгістатичної активності гриба в різних варіантах препарату (за критерієм Тьюкі, P>0,05).

ся з даними щодо зниження життєздатності *T. viride* у цьому варіанті (табл. 1). Для 1 та 3 варіанту препарату зниження фунгістатичної активності порівняно з початковим значенням було недостовірним.

У залежності від варіанту препарату фунгістатична активність після 6 місяців витримки в термостаті була в межах 67,9-78,4% інгібування росту *F. culmorum*. Показник біологічної активності антагоністів більше 60%, визначений у бінарних культурах з фітопатогенами, вважається достатньо високим [14].

Фунгістатична активність усіх варіантів препарату при зберіганні в кімнатних умовах суттєво не знижувалася впродовж 15 місяців (табл. 4, рис. 3) і в кінці терміну зберігання була в межах 74,1-75,2% інгібування росту *F. culmorum*.

Таблиця 4 – Фунгістатична активність *Trichoderma viride* КМВ-F-15 під час зберігання торф'яного препарату за кімнатної температури

Варіант препарату	Інгібування росту <i>Fusarium culmorum</i> , %			
	На початку	6 місяців	12 місяців	15 місяців
1	84,6±1,8 ^{аА}	74,8±3,9 ^{аА}	72,5±3,7 ^{аА}	74,1±1,0 ^{аА}
2	80,7±2,6 ^{аА}	69,3±1,3 ^{бА}	72,9±2,3 ^{абА}	75,0±1,8 ^{абА}
3	80,6±1,3 ^{аА}	68,5±5,4 ^{абА}	64,5±4,3 ^{бА}	75,2±2,1 ^{абА}

Примітки: різними маленькими літерами в рядку вказано статистично значуща різниця фунгістатичної активності гриба в процесі зберігання (за критерієм Тьюкі, P<0,05); однаковими великими літерами у стовпчику вказано відсутність статистично значущої різниці фунгістатичної активності гриба в різних варіантах препарату (за критерієм Тьюкі, P>0,05).

Статистичний аналіз показав відсутність впливу складу поживного середовища для накопичення біомаси в глибинних умовах на її фунгістатичну активність під час зберігання в торфі.

Таким чином, торф являє собою субстрат, багатий на поживні речовини для *T. viride*, завдяки чому життєздатність та фунгістатична активність гриба зберіга-

ється на високому рівні упродовж 6 місяців за температури 29°C та 15 місяців за кімнатної температури.

Треба відмітити, що в цьому дослідженні фунгістатичну активність *T. viride* в торф'яному препараті визначали відносно *F. culmorum*, небезпечного патогену дрібнозернових культур, який спричинює кореневу гниль та ураження колосу [15]. Мікотоксини, що продукує *F. culmorum* (трихотецени, зеараленон і фузарини), накопичуючись у тканинах рослин, можуть потрапляти в продукти харчування та корми і представляти значний ризик для здоров'я людини та тварин [16, 17]. За даними літератури відомо, що деякі штами *Trichoderma* здатні інгібувати синтез мікотоксинів. Так, *T. atroviride* AN240 та *T. viride* AN430 не тільки ефективно пригнічували ріст *F. culmorum* KF846, а й накопичення токсинів як у лабораторних, так і в польових умовах [15]. Оскільки збудники кореневої гнилі передаються ґрунтом та через поживні залишки [17], важливим є передпосівна обробка насінневого матеріалу фунгіцидами, зокрема на основі

мікробів-антагоністів фітопатогенів. Тому торф'яна форма препарату на основі *T. viride* KMB-F-15, яка в умовах *in vitro* показала ефективність проти з *F. culmorum*, може бути перспективною при використанні в польових умовах.

Висновки.

Життєздатність (до $3,7 \times 10^6$ КУО/г) та фунгістатична активність (до 75,2% інгібування росту *F. culmorum* IMB-F-50716) *T. viride* KMB-F-15 у торф'яній формі препарату зберігалася на високому рівні упродовж 15 місяців за кімнатної температури. Суттєвого впливу складу поживного середовища для накопичення біомаси гриба в глибинних умовах на її зберігання в торфі не встановлено.

Перспективи подальших досліджень.

Планується проведення випробування ефективності застосування торф'яної форми препарату *T. viride* KMB-F-15 проти ґрунтових фітопатогенів у польових умовах.

References / Література

- Rush TA, Shrestha HK, Gopalakrishnan Meena M, Spangler MK, Ellis JC, Labbé JL, et al. Bioprospecting *Trichoderma*: A systematic roadmap to screen genomes and natural products for biocontrol applications. *Front Fungal Biol.* 2021;2:716511. DOI: [10.3389/ffunb.2021.716511](https://doi.org/10.3389/ffunb.2021.716511).
- Kopilov EP, Pavlenko AA, Tsekhmister GV, Kyslynska AS. Antagonistic activity of a new strain of *Trichoderma viride* and its effect on micro-mycetes population in the root zone of corn plants. *Silskohospodarska mikrobiologiya.* 2020;31:16-26. DOI: [10.35868/1997-3004.31.16-25](https://doi.org/10.35868/1997-3004.31.16-25).
- Oszust K, Pylak M, Fraç M. *Trichoderma*-based biopreparation with prebiotics supplementation for the naturalization of raspberry plant rhizosphere. *Int J Mol Sci.* 2021;22:6356. DOI: [10.3390/ijms22126356](https://doi.org/10.3390/ijms22126356).
- Modrzewska M, Blaszczyk L, Stepień L, Urbaniak M, Waskiewicz A, Yoshinari T, et al. *Trichoderma* versus *Fusarium*-inhibition of pathogen growth and mycotoxin biosynthesis. *Molecules.* 2022;27(23):8146. DOI: [10.3390/molecules27238146](https://doi.org/10.3390/molecules27238146).
- Sood M, Kapoor D, Kumar V, Sheteiw MS, Ramakrishnan M, Landi M, et al. *Trichoderma*: The "Secrets" of a multitiered biocontrol agent. *Plants.* 2020;9(6):762. DOI: [10.3390/plants9060762](https://doi.org/10.3390/plants9060762).
- Sridharan AP, Thankappan S, Karthikeyan G, Uthandi S. Comprehensive profiling of the VOCs of *Trichoderma longibrachiatum* EF5 while interacting with *Sclerotium rolfsii* and *Macrophomina phaseolina*. *Microbiol Res.* 2020;236:126436. DOI: [10.1016/j.micres.2020.126436](https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126436).
- Pavlenko AA, Kopylov YeP, Cehmister GV. Eфекtyvnist zastosuvannya shtamu *Trichoderma viride* z vysokoyu anatognistychnoyu ta celyulolitychnoyu aktyvnistyuu. *Silskohospodarska mikrobiologiya.* 2021;33:88-95. DOI: [10.35868/1997-3004.33.88-95](https://doi.org/10.35868/1997-3004.33.88-95). [in Ukrainian].
- Rimkus A, Namina A, Dzierkale MT, Grigs O, Senkovs M, Larsson S. Impact of growth conditions on the viability of *Trichoderma asperellum* during storage. *Microorganisms.* 2023;11(4):1084. DOI: [10.3390/microorganisms11041084](https://doi.org/10.3390/microorganisms11041084).
- Martinez Y, Ribera J, Schwarze FW, De France K. Biotechnological development of *Trichoderma*-based formulations for biological control. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2023;107(18):5595-5612. DOI: [10.1007/s00253-023-12687-x](https://doi.org/10.1007/s00253-023-12687-x).
- Unsoed P, As Y, Sumadi S, Simarmata T. Viability of *Trichoderma harzianum* grown on different carrier formulation. *KnE Life Sciences: 2nd International Conference on Sustainable Agriculture and Food Security: A Comprehensive Approach (ICSAFS).* 2017;2017:95-101. DOI: [10.18502/kl.v2i6.1024](https://doi.org/10.18502/kl.v2i6.1024).
- Senkovs M, Dzierkale MT, Rimkus A, Grigs O, Nikolajeva V. Application of a posttreatment to improve the viability and antifungal activity of *Trichoderma asperellum* biomass obtained in a bioreactor during submerged cultivation. *Biology (Basel).* 2022;11(11):1610. DOI: [10.3390/biology11111610](https://doi.org/10.3390/biology11111610).
- Suherah, Kuswinanti T, Rosmana A, Rasyid B. The effect of organic medium use in formulation of *Trichoderma harzianum* and *Pleurotus ostreatus* in viability and decomposition of cacao pod husks waste. *Pak J Biotechnol.* 2018;15(1):95-100.
- Prasad RD, Rangeshwaran R, Anuroop CP, Phanikumar PR. Bioefficacy and shelf life of conidial and chlamydo-spore formulations of *Trichoderma harzianum* Rifai. *J Biol Control.* 2002;16:145-148. DOI: [10.18311/jbc/2002/4124](https://doi.org/10.18311/jbc/2002/4124).
- Rozhkova TO, Bilyavska LO. Antagonistychna aktyvnist hrybiv *Gliocladium* sp. v umovakh *in vitro*. *Silskohospodarska mikrobiologiya.* 2022;36:55-63. DOI: [10.35868/1997-3004.36.55-63](https://doi.org/10.35868/1997-3004.36.55-63). [in Ukrainian].
- Blaszczyk L, Ćwiek-Kupczyńska H, Hoppe Gromadzka K, Basińska-Barczak A, Stepień Ł, Kaczmarek J, et al. Containment of *Fusarium culmorum* and its mycotoxins in various biological systems by antagonistic *Trichoderma* and *Clonostachys* strains. *J Fungi.* 2023;9(3):289. DOI: [10.3390/jof9030289](https://doi.org/10.3390/jof9030289).
- Wagacha JM, Muthomi JW. *Fusarium culmorum*: infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection.* 2007;26(7):877-885. DOI: [10.1016/j.cropro.2006.09.003](https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.09.003).
- Khemir E, Chekali S, Moretti A, Gharbi MS, Allagui MB, Gargouri S. Impacts of previous crops on inoculum of *Fusarium culmorum* in soil, and development of foot and root rot of durum wheat in Tunisia. *Phytopathol Mediterr.* 2020;59(1):187-201. DOI: [10.36253/phyto-10827](https://doi.org/10.36253/phyto-10827).

ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ ТА ФУНГІСТАТИЧНА АКТИВНІСТЬ *TRICHODERMA VIRIDE* ПІД ЧАС ЗБЕРІГАННЯ У ТОРФІ Дрегваль О. А., Зубарева І. М., Гаврилюк В. Г., Лаврентьева К. В., Скляр Т. В.

Резюме. Представники роду *Trichoderma* вважаються найбільш застосованими активними інгредієнтами біопрепаратів і складають 50-60% агентів біологічного контролю за збудниками мікозів сільськогосподарських рослин. Отриману глибинним вирощуванням біомасу *Trichoderma* spp. можна вносити у різні носії, такі як компостований гній, жом, біовугілля, гранули деревини, тальк та торф. Вважається доцільним виробництво таких форм препаратів, якщо термін їх придатності складає не менше пів року.

Мета дослідження – визначити життєздатність та фунгістатичну активність штаму *Trichoderma viride* KMB-F-15 під час зберігання в торфі залежно від складу поживного середовища, використаного на етапі глибинного культивування гриба.

Об'єкт і методи дослідження: вихід сухої біомаси *T. viride* КМВ-F-15 в кінці глибинного культивування визначали ваговим методом; життєздатність гриба під час зберігання – висівом 10-тикратних розведень на агар Чапека-Докса з підрахунком КУО, а також у бінарній культурі з *Fusarium culmorum* за колонізацією поверхні чашки з глюкозо-картопляним середовищем навколо паперового диску, просоченого 1% розчином препарату (на 3 добу); фунгістатичну активність визначали за відсотком інгібування росту фітопатогенного гриба *F. culmorum* у бінарній культурі (на 7 добу).

Торф'яна форма препарату на основі *T. viride* КМВ-F-15 добре зберігалася впродовж 6 місяців за температури 29°C та 15 місяців за кімнатної температури. Кількість КУО/г препарату в кінці терміну зберігання в обох температурних режимах залишалася більшою 1×10^6 , фунгістатична активність гриба відносно *F. culmorum* була вищою за 60% упродовж усього періоду зберігання.

Життєздатність (до $3,7 \times 10^6$ КУО/г) та фунгістатична активність (до 75,2% інгібування росту *F. culmorum* ІМВ-F-50716) *T. viride* КМВ-F-15 у торф'яній формі препарату зберігалася на високому рівні упродовж 15 місяців за кімнатної температури. Суттєвого впливу складу поживного середовища для накопичення біомаси гриба в глибинних умовах на її зберігання в торфі не встановлено.

Ключові слова: *Trichoderma*, антагонізм, фітопатогенні гриби, торф'яна форма препарату, термін придатності.

VIABILITY AND FUNGISTATIC ACTIVITY OF *TRICHODERMA VIRIDE* DURING STORAGE IN PEAT

Drehval O. A., Zubareva I. M., Gavryliuk V. G., Lavrentieva K. V., Sklyar T. V.

Abstract. Representatives of the genus *Trichoderma* are considered the most widely used active ingredients of biological products and constitute 50-60% of biological control agents for pathogens of mycoses of agricultural plants. The biomass of *Trichoderma* spp. obtained through deep cultivation can be introduced into various media, such as composted manure, pulp, biochar, wood pellets, talc, and peat. It is considered advisable to produce such forms of preparations if their shelf life is at least half a year.

The aim of our research was to determine the viability and fungistatic activity of the *Trichoderma viride* КМВ-F-15 during storage in peat depending on medium composition used at the stage of deep cultivation of fungus.

Research object and methods: the yield of dry biomass of *T. viride* КМВ-F-15 at the end of deep cultivation was determined by the weight method; the viability of the fungus during storage was determined by sowing 10-fold dilutions on Czapek-Dox agar with counting the CFU, as well as in a binary culture with *Fusarium culmorum* by colonizing the surface of a glucose-potato agar plate around a paper disk impregnated with a 1% solution of the preparation (for 3 days); fungistatic activity was determined by the percentage of inhibition of the growth of the phytopathogenic fungus *F. culmorum* in a binary culture (for 7 days).

The peat form of the preparation based on *T. viride* КМВ-F-15 was well stored for 6 months at a temperature of 29°C and 15 months at room temperature. The number of CFU/g of the preparation at the end of the storage period in both temperature regimes remained greater than 1×10^6 , the fungistatic activity of the fungus against *F. culmorum* was higher than 60% throughout the entire storage period.

The viability (up to 3.7×10^6 CFU/g) and fungistatic activity (up to 75.2% inhibition of *F. culmorum* ІМВ-F-50716 growth) of *T. viride* КМВ-F-15 in the peat form of the preparation were maintained at a high level for 15 months at room temperature. No significant effect of the composition of the nutrient medium for the accumulation of fungal biomass in deep conditions on its storage in peat was established.

Key words: *Trichoderma*, antagonism, phytopathogenic fungi, peat-based formulation, shelf-life.

ORCID and contributionship: / ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Drehval O. A.: <https://orcid.org/0000-0002-0560-5514>^{BCD}

Zubareva I.M.: <https://orcid.org/0000-0002-8160-6519>^{DE}

Gavryliuk V. G.: <https://orcid.org/0000-0003-0112-3275>^{DE}

Lavrentieva K.V.: <https://orcid.org/0000-0002-2711-7968>^{DE}

Sklyar T. V.: <https://orcid.org/0000-0003-0224-2460>^{AF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors of the article confirm that they have no conflict of interest. / Автори статті підтверджують відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Drehval Oksana Anatoliivna / Дрегваль Оксана Анатоліївна

Oles Honchar Dnipro National University / Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара

Ukraine, 49000, Dnipro, 24 N. Armstrong St., 17th building / Україна, 49000, м. Дніпро, вул. Н. Армстронга, 24, корп. 17

Tel.: +380990034230 / Тел.: +380990034230

E-mail: odrehval@gmail.com

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

This article is distributed under the terms of the *Creative Commons Attribution (CC-BY) License*, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited © All authors, 2026 / Ця стаття розповсюджується на умовах ліцензії *Creative Commons Attribution (CC-BY)*, яка дозволяє необмежене використання, поширення та відтворення в будь-якому форматі за умови належного цитування оригінальної роботи © Всі автори, 2026

Received 19.10.2025 / Стаття надійшла 19.10.2025 року
Accepted 18.02.2026 / Стаття прийнята до друку 18.02.2026 року
Published 27.03.2026 / Опубліковано 27.03.2026 року