

Влияние нового биокомпозита на основе грибов рода триходерма на почвенные микроорганизмы и растения разных таксонов

© 2021. А. А. Калинин¹, к. б. н., директор, Д. С. Давидюк¹, н. с.,
Н. А. Боков^{2,3}, магистрант, Р. И. Абубакирова², м. н. с.,
А. А. Широких^{2,3}, д. б. н., в. н. с., профессор,
¹ООО «Ризобиотики-Вятка»,
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, д. 198, корп. 2,
²ФАНЦ Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого,
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, д. 166а,
³Вятский государственный университет,
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,
e-mail: aleshirokikh@yandex.ru

В условиях модельных опытов проведена экологическая оценка нового биокомпозитного препарата на основе штаммов *Trichoderma* sp. L-6, L-3 и D-11, разрабатываемого для биодеструкции пожнивных остатков. Оценивали влияние биокомпозита (титр не менее 10⁹ кл./мл) на микробный комплекс дерновой почвы при внесении в количествах, соответствующих рекомендуемой (2 л/га), уменьшенной (1 л/га) и увеличенной (4 л/га) гектарным дозам. Спустя 45 сут учитывали численность основных эколого-трофических и таксономических групп микроорганизмов, участвующих в циклах трансформации азота и углерода. Расчёт экологических коэффициентов минерализации и педотрофности, характеризующих направленность микробиологических процессов, не выявил существенных изменений в структуре почвенного микробного сообщества по сравнению с интактной почвой. Тест-культурами для изучения фитотоксичности *Trichoderma* spp. служили *Triticum aestivum*, *Sinapis alba*, *Trifolium pannonicum*. Исходная препаративная форма всех исследуемых штаммов подавляла жизнедеятельность растений. При разбавлении 1:10 и 1:100 фитотоксичность уменьшалась, и проявлялись ростостимулирующие свойства штаммов. Наибольший уровень фитотоксического воздействия был обнаружен в отношении крестоцветной культуры, ростостимулирующий эффект – в отношении бобовой культуры. Для пшеницы эффекта не обнаружено. На основе полученных результатов сделаны рекомендации по практическому использованию биокомпозита на основе грибов триходерма.

Ключевые слова: *Trichoderma*, биопрепарат, почвенные микроорганизмы, фитотоксичность.

Effect of the new biological product created on the basis of *Trichoderma* on soil microorganisms and plants of different taxons

© 2021. A. A. Kalinin¹ ORCID: 0000-0001-6605-2290, D. S. Davidyuk¹ ORCID: 0000-0002-4014-9673,
N. A. Bokov^{2,3} ORCID: 0000-0002-1000-1192, R. I. Abubakirova² ORCID: 0000-0002-8526-2733,
A. A. Shirokikh^{2,3} ORCID: 0000-0002-7808-0376,
¹ООО “Rhizobiotics-Vyatka”,
198/2, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,
²Federal Agricultural Research Center of North-East named N. V. Rudnitsky,
166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,
³Vyatka State University,
36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,
e-mail: aleshirokikh@yandex.ru

The environmental assessment of a new biocomposite preparation based on *Trichoderma* sp. L-6, L-3, and D-11 strains for the biodegradation of crop residues was carried out under the conditions of model experiments. The effect of biocomposite (titer not less than 10⁹ cells/mL) on the microbial complex of turf soil was evaluated when applied in quantities corresponding to the recommended (2 L/ha), reduced (1 L/ha) and increased (4 L/ha) hectare doses. After 45 days the number of the main ecological-trophic and taxonomic groups of microorganisms involved in the nitrogen and carbon transformation cycles was taken into account. The calculation of ecological coefficients of mineralization and pedotrophy, which characterize the direction of microbiological processes, did not reveal significant changes in the

structure of the soil microbial community in comparison with intact soil. *Triticum aestivum*, *Sinapis alba*, and *Trifolium pannonicum* were used as test cultures to study the phytotoxicity of *Trichoderma* spp. The initial preparative form of all the studied strains suppressed the vital activity of plants. When diluted with 1:10 and 1:100, phytotoxicity decreased, and the growth-stimulating properties of the strains were manifested. The highest level of phytotoxic effects was found in the cruciferous culture, growth-stimulating effect – in the legume culture. Based on the results obtained, recommendations are made for the practical use of a biocomposite based on *Trichoderma* fungi.

Keywords: *Trichoderma*, biological product, soil microorganisms, phytotoxicity.

Микроскопические почвенные грибы *Trichoderma* spp. являются одними из наиболее широко используемых биоагентов в современном сельском хозяйстве [1]. Популярность этих грибов обусловлена способностью производить несколько сотен вторичных метаболитов, часть из которых являются антимикробными; индуцировать местную и системную резистентность растений к поражению вредителями и патогенами [2]; повышать эффективность использования питательных веществ (особенно азота), стимулировать рост растений и придавать устойчивость к абиотическим стрессам [3, 4]. Основным ограничением при использовании этих биоагентов является нестабильность их действия в полевых условиях по сравнению с химическими аналогами, которые в меньшей степени подвержены влиянию факторов окружающей среды [5]. Однако в закрытом грунте грибы *Trichoderma* широко и успешно используют вместо химических фунгицидов [6]. Биоконтрольный эффект *Trichoderma* связан с продукцией антибиотически активных алкилпирионов [7], поликетидных антибиотиков (харзианолид) [8], циклоспоринов [9] и линейных пептидов класса пептаиболов [10]. Синергизм пептаиболов с ферментами деградации клеточной стенки ингибируют рост микопатогенов и повышают резистентность растений к возбудителям болезней [4].

Токсины грибов триходерма могут являться причиной токсикозов почв [11]. Виридин, виридиол, глиотоксин, конингин А и В, триховиридин и другие являются примерами фитотоксических веществ, продуцируемых *Trichoderma* spp. [12]. Фитотоксичность виридиола изучена в большей степени, чем токсичность других вторичных метаболитов, синтезируемых видами *Trichoderma*. Виридиол адсорбируется в почве и проявляет максимальную токсичность по отношению к однолетним растениям. Типичными симптомами являются низкая всхожесть семян и недостаточное развитие корневой системы. Штаммы, выделяющие токсины, используются в качестве гербицидов [13]. Вариабельность уровня антимикробных соединений и

гербицидов, выделяемых грибами, влияет на возможность применения видов *Trichoderma* для биоконтроля фитопатогенов.

Грибы рода *Trichoderma* – активные целлюлозолитики. В сельском хозяйстве целюлазы триходермы впервые были использованы в производстве кормов. Разработаны технологии микробиологической биоконверсии отходов сельского хозяйства, пищевой и зерноперерабатывающей промышленности в высококачественные углеводно-белковые кормовые добавки и комбикорма [6, 7]. Получены опытные партии компостов на основе отходов с использованием микромицетов рода *Trichoderma*, выделенные на территории Республики Татарстан [13]. В последнее время наметилась тенденция нового применения *Trichoderma* spp. – в качестве основы биопрепаратов для более эффективной трансформации содержащих лигноцеллюлозу растительных полимеров в компоненты гумуса. При интродукции гриба в почву корневые, пожнивные и другие послеуборочные остатки способствуют её улучшению, так как являются отличным трофическим субстратом для роста триходермы [14]. В частности, разрабатывается новый биоконцентрированный препарат (ООО «Микробиотика», Республика Беларусь) на основе штаммов *Trichoderma* L-6, L-3 и D-1, который наряду с биоконтрольным и ростстимулирующим действием, обладает ферментативной активностью и может, при внесении в почву по стерне или другим послеуборочным остаткам, являться средством повышения почвенного плодородия. Препаративная форма биоконцентра представляет собой суспензионный концентрат – коллоидный раствор в виде жидкой сметанообразной массы вспомогательного вещества и биомассы выращенных по отдельности штаммов, объединяемых в равном объёмном соотношении непосредственно перед использованием.

Несмотря на отдельные работы, констатирующие положительные эффекты *Trichoderma* spp. в отношении микробного комплекса почвы и продуктивности отдельных сельскохозяйственных культур [15–17], нужно учитывать, что каждый штамм обладает

уникальным спектром вторичных метаболитов разнонаправленного действия. Отрицательные эффекты метаболитов *Trichoderma* на почвенную микробную систему и рост растений могут ограничить использование грибов как биотехнологических агентов. Для исключения возможных нежелательных последствий применения коммерческих штаммов *Trichoderma* spp. для растений и почвы необходима соответствующая экологическая оценка.

Целью работы являлось изучение влияния нового биокомпозита грибов рода триходерма на почвенный микробный комплекс и рост проростков культур разной таксономической принадлежности.

Объекты и методы исследования

Действие нового биокомпозитного препарата на основе грибов триходерма (титр не менее 1 млрд кл./мл) изучали в модельном эксперименте. В контейнеры объёмом 1,0 дм³ помещали по 425 г воздушно-сухой (в.-с.) дерновой почвы и увлажняли её до 80% от полной почвенной влагоёмкости. Биопрепарат, в зависимости от варианта, вносили в почву из расчёта $1,5 \cdot 10^5$; $0,75 \cdot 10^5$ и $3,0 \cdot 10^5$ кл./г, что соответствовало рекомендуемой (2 л/га), пониженной (1 л/га) и повышенной (4 л/га) гектарным дозам, с учётом объёмного веса почвы (1,3 г/см³). Контролем служила интактная почва. Каждый вариант закладывали в трёх повторениях. Контейнеры с почвой инкубировали в течение 45 сут при 20±2 °С.

Для характеристики экологического состояния почвы определяли численность различных эколого-трофических групп микроорганизмов (МО). Усваивающие органические формы азота (аммонифицирующие) МО учитывали на мясо-пептонном агаре (МПА), усваивающие минеральные источники азота (амилолитики) – на крахмало-аммиачном

агаре (КАА), целлюлозолитики – на агаре Гетчинсона (ГА) с фильтровальной бумагой, олиготрофные – на почвенном агаре (ПА), микроскопические грибы – на агаре Чапека (ЧА) [18]. Для характеристики изменений в структуре почвенного микробного сообщества рассчитывали коэффициенты минерализации (КАА/МПА) и педотрофности (ПА/МПА) [19]. Микроморфологию грибов изучали на живых препаратах при увеличении ×200 и ×400, микроскоп Leica DM 2500 (Германия).

Фитотоксическое действие оценивали, тестируя штаммы *Trichoderma* sp. L-6, L-3 и D-11 по отдельности. В качестве тест-культур использовали пшеницу яровую (*Triticum aestivum* L.) Приокская, клевер паннонский (*Trifolium pannonicum* L.) Снежок, горчицу белую (*Sinapis alba* L.). Семена замачивали на 20 ч в разведениях препарата водой 1:10, 1:100 и без разведения. Контролем служили семена, замоченные в дистиллированной воде. Обработанные семена проращивали в течение 6 сут при комнатной температуре (20±2 °С). Учитывали всхожесть, высоту побега, длину корня и сухую биомассу проростков.

Статистическую обработку результатов проводили стандартными методами с использованием встроенного пакета программ Excel.

Результаты и обсуждение

Определение численности МО методом посева из разведений на твёрдые питательные среды показало, что интактная дерновая почва, в соответствии с ориентировочной шкалой обогащённости почвы микрофлорой [19], может быть отнесена к «очень богатой» в отношении аммонифицирующих (14 млн КОЕ/г на МПА), амилолитических (28 млн КОЕ/г на КАА) и олиготрофных (72 млн КОЕ/г на ПА) МО (табл. 1).

Таблица 1 / Table 1

Количество микроорганизмов разных эколого-трофических и таксономических групп в зависимости от дозы внесённого в почву препарата
The number of microorganisms of different ecological-trophic and taxonomic groups depending on the dose of the drug introduced into the soil

Доза, л/га Dose, L/ha	Общая численность на ..., тыс. КОЕ/г в.с. почвы Total number on the ..., thousand CFU/g air dry soil				Доля зарастания ГА грибом <i>Trichoderma</i> , % / Percentage of overgrowth of HA by fungus, %
	МПА / MPA	КАА / SAA	ПА / SA	ЧА / ChA	
0	13939	28044	71770	130	56,7±20,2
1	9944	31876	94320	259	68,3±7,6
2	21795	35782	130410	87	58,3±17,6
4	14027	12013	43540	83	65,0±13,2
НСР ₀₉₅	7742	5012	63440	148	–

Коэффициенты, характеризующие направленность микробиологических процессов почвы
Coefficients characterizing the direction of soil microbiological processes

Доза, л/га Dose, L/ha	Коэффициенты / Coefficients of	
	минерализации / mineralization КАА / МПА SAA / MPA	педотрофности / pedotrophy ПА / МПА SA / MPA
0	2,01	5,15
1	3,21	9,49
2	1,64	5,98
4	0,87	3,10

В результате внесения в почву различных доз биокомпозита численность этих групп МО существенно не изменилась. В то же время количество грибных пропагул, учитываемых на ЧА и ГА, не превышало сотен тысяч КОЕ/г, что соответствует градации «очень бедная» почва. Путём прямой микроскопии колоний на ЧА установлено, что доля образуемых микромицетами рода *Trichoderma* колоний в почве контрольного варианта составляла 5%, тогда как в вариантах с внесением биопрепарата доленое участие триходермы в комплексе грибов изменялось в пределах от 22 до 38% в зависимости от дозы.

На ГА среди целлюлозолитиков также доминировала триходерма (рис. 1), но доля покрытия ею целлюлозного диска изменялась по вариантам несущественно (табл. 1).

Дополнительную информацию об экологическом состоянии микробного комплекса почвы дал расчёт экологических коэффициентов (табл. 2). Значения коэффициента минерализации (КМ), близкие к единице, принято считать показателем сбалансированности процессов разложения безазотистого и азотсодержащего органического вещества (ОВ) почвы; значения, превышающие единицу, указывают на повышенную интенсивность процессов минерализации ОВ и обеспеченность почвы минеральными формами азота; значения КМ 2–3 косвенно могут свидетельствовать о повышении скорости разложения гумуса. Внесение в почву биопрепарата оказало на процессы минерализации ОВ почвы регуляторное действие, на что указывает изменяющаяся по вариантам величина КМ (табл. 2).

Обработка почвы биопрепаратом в дозе 2 л/га (рекомендуемой) привела к незначительному снижению КМ с 2,0 в контроле до 1,6 в опытном варианте. При двукратном превышении рекомендуемой дозы (4 л/га) исходное значение КМ снизилось до 0,87, что может указывать на заторможенность процес-

сов минерализации по сравнению с контролем и вариантом со сниженной дозой препарата (1 л/га), в котором КМ, напротив, увеличился до 3,2. Ранее уже отмечалось, что внесение в почву *T. asperellum* положительно влияло на минерализацию органических субстратов и изменяло грибные популяции [17].

В зависимости от дозы препарата изменились различным образом по сравнению с контролем также значения индекса педотрофности, отражающего степень представленности в почве микрофлоры, связанной с формированием гумуса. При внесении пониженной дозы (1 л/га) он повысился (до 9,4), а при повышенной (4 л/га), напротив, – снизился до 3,1. Считается, что почвы с высокими значениями данного индекса более приближены к естественным ценозам изучаемой почвенно-климатической зоны и обладают большей устойчивостью к негативным воздействиям [13]. Отмеченные в модельном эксперименте эффекты биопрепарата, выразившиеся в изменении соотношения отдельных групп МО и направленности процессов трансформации почвенного органического вещества, можно, в определённой степени, экстраполировать и на реальные почвенные условия. Поэтому полевая доза внесения препарата должна корректироваться, в зависимости от степени обогащения МО и интенсивности процессов трансформации и гумификации ОВ конкретной почвы.

Одним из важных показателей экологической безопасности биопрепарата является его взаимодействие с культурным растением, то есть степень фитотоксичности интродукента. Исходная препаративная форма исследуемых штаммов подавляла на 76–89% всхожесть семян и на 38–62% линейный рост проростков всех тест-культур (рис. 2).

Наибольший уровень фитотоксического воздействия штаммов L-3 и L-6 был обнаружен в отношении крестоцветной культуры *S. alba*, но при разбавлении 1:10 их фитотоксичность

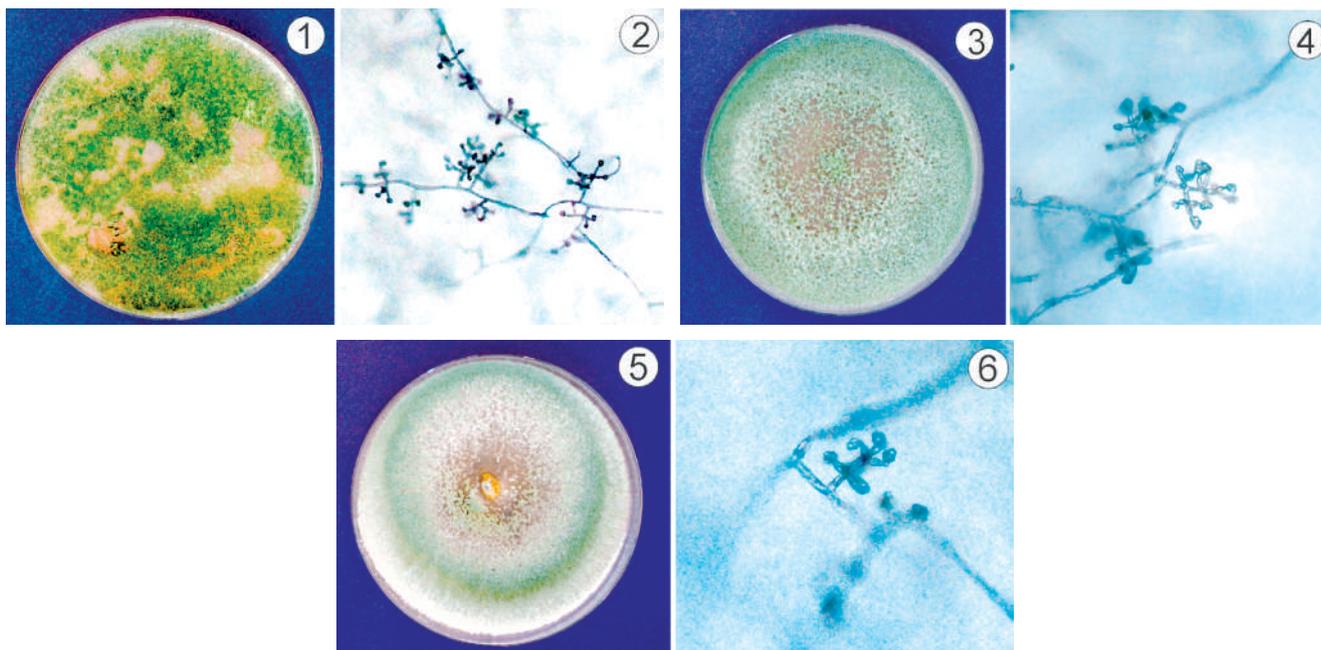


Рис. 1. Колонии и микроскопия *Trichoderma* spp.: штаммы L-6 (1, 2), L-3 (3, 4) и D-11 (5, 6)
Fig. 1. Colonies and microscopy of *Trichoderma* spp.: strains L-6 (1, 2), L-3 (3, 4), D-11 (5, 6)

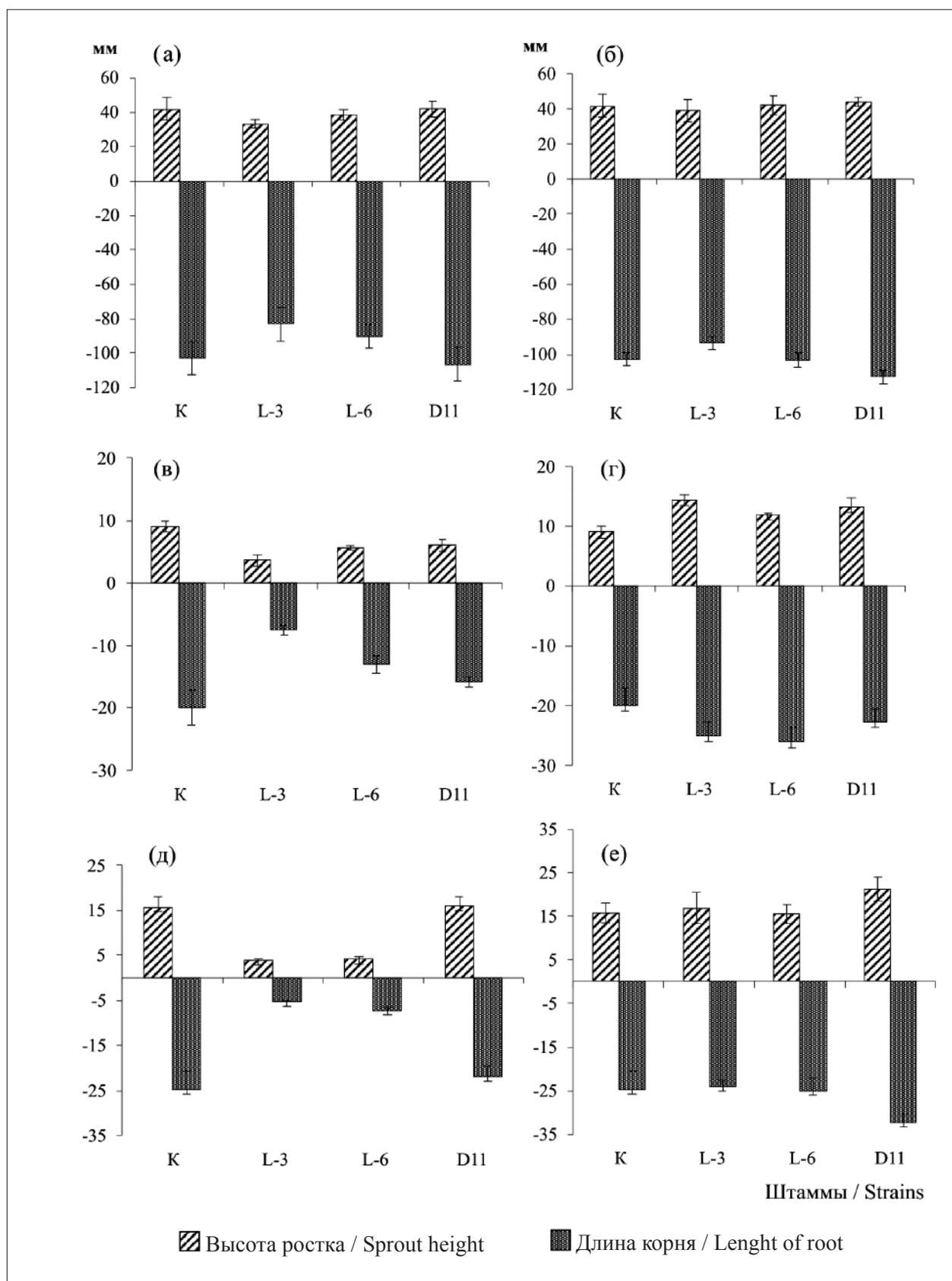


Рис. 2. Линейный рост проростков пшеницы яровой (а и б), клевера паннонского (в и г), горчицы белой (д и е) в зависимости от обработки исходной формой *Trichoderma* spp. (в и д), разведениями 1:10 (а, г, е) и 1:100 (б). К – контроль без обработки

Fig. 2. Linear growth of spring wheat seedlings (а and б), Pannonian clover (в and г), and white mustard (д and е) depending on treatment with the initial form of *Trichoderma* spp. (в and д), dilutions of 1: 10 (а, г, е) and 1: 100 (б). К – control without treatment

полностью устранялась, а для штамма D-11 по мере разбавления отмечены ростстимулирующие свойства (33–46%). Наибольший ростстимулирующий эффект штаммов L-3 и L-6 зафиксирован в отношении бобовой культуры *T. pannonicum*. Штамм D-11 при разведении стимулировал рост проростков горчицы и клевера. Чувствительность пшеницы в меньшей степени зависела от степени разведения исходной формы. Ростстимулирующий эффект *Trichoderma* spp. в отношении этой культуры не отмечен. Культуры *Trichoderma* выделяют разнообразные метаболиты, обладающие фитотоксичностью, наиболее известными из которых являются глиотоксин (эпидитиодикетопиперазин) и виридин (производное стирола) [12, 13]. Механизм токсичности данных веществ по отношению к растениям до конца не известен. Таксономически различные растения обладают разной чувствительностью к токсинам. Сообщалось, что при внесении в почву смеси *T. virens*-торф прорастание семян и рост проростков не снижались только у четырёх (подсолнечник, бобы, сахарная свекла и крестовник) из 29 видов культурных и сорных растений [20]. Стабильность действия токсинов определяется реакцией среды. Известно, что активность глиотоксина и виридина при низких значениях pH выше, чем при нейтральных [13]. Актуальную почвенную кислотность и различную фитотоксичность *Trichoderma* spp. в отношении таксономически разных культур необходимо учитывать в практической деятельности.

Таким образом, в лабораторных экспериментах изучены фитотоксичность и влияние на почвенный микробный комплекс нового биокомпозита на основе *Trichoderma* spp. Результаты показывают, что реакция почвенных МО может зависеть от количества внесённого интродукта, а также определяться исходным состоянием резидентного микробного сообщества. На растения концентрат суспензии исследованных штаммов оказывал фитотоксическое действие, степень проявления которого зависела от таксономической принадлежности тест-культуры. При разбавлении фитотоксичность уменьшалась, и проявлялись ростстимулирующие свойства *Trichoderma* spp. Полученные результаты говорят о достаточной экологической безопасности биокомпозитного препарата, при условии соблюдения рекомендуемых доз и учёта таких почвенных особенностей, как реакция почвенного раствора и степень обогащённости МО, участвующими в процессах трансформации ОБ.

References

1. Mukherjee P.K., Horwitz B.A., Herrera-Estrella A., Schmoll M., Kenerley C.M. *Trichoderma* research in the genome era // Ann. Rev. Phytopath. 2013. V. 51. P. 105–129. doi: 10.1146/annurev-phyto-082712-102353
2. Poveda J., Hermosa R., Monte E., Nicolás C. The *Trichoderma harzianum* Kelch protein ThKEL1 plays a key role in root colonization and the induction of systemic defense in Brassicaceae plants // Frontiers in Plant Science. 2019. V. 10. P. 1–14. doi: 10.3389/fpls.2019.01478
3. Lorito M., Woo S.L., Harman G.E., Monte E. Translational research on *Trichoderma*: from omics to the field // Annu. Rev. Phytopathol. 2010. V. 48. P. 395–417. doi: 10.1146/annurev-phyto-073009-114314
4. Mendoza-Mendoza A., Zaid R., Lawry R., Hermosa R., Monte E., Horwitz B.A., Mukherjee P.K. Molecular dialogues between *Trichoderma* and roots: role of the fungal secretome // Fungal Biology Reviews. 2018. V. 32. No. 2. P. 62–85. doi: 10.1016/j.fbr.2017.12.001
5. Zaidi N.W., Singh U.S. *Trichoderma* in plant health management // *Trichoderma: Biology and Applications* / Eds. P.K. Mukherjee, B.A. Horwitz, U.S. Singh, M. Mukherjee, M. Schmoll. Centre for Agriculture and Bioscience International, Oxfordshire-Boston, 2013. P. 230–247.
6. Blaszczyk L., Siwulski M., Sobieralski K., Lisiecka J., Jedryczka M. *Trichoderma* spp. – Application and prospects for use in organic farming and industry // Journal of Plant Protection Research. 2014. V. 54. No. 4. P. 310–317. doi: 10.2478/jppr-2014-0047
7. Rashad Y.M., Abdel-Azeem A.M. Recent progress on *Trichoderma* // Fungal Biotechnology and Bioengineering secondary metabolites / Eds. A.L. Hesham, R. Upadhyay, G. Sharma, C. Manoharachary, V. Gupta. Springer, Cham, 2020. P. 281–303.
8. Baker S.E., Perrone G., Richardson N.M., Gallo A., Kubicek C.P. Phylogenetic analysis and evolution of polyketide synthase-encoding genes in *Trichoderma* // Microbiology. 2012. V. 158. P. 147–154. doi: 10.1099/mic.0.053462-0
9. Tretyakova I.N., Park M.E., Baranova A.A., Lisetskaya I.A., Shuklina A.S., Rogozhin E.A., Sadykova V.S. Use of antimicrobial peptides secreted by *Trichoderma* micromycetes to stimulate embryogenic cultures of *Larix sibirica* // Russian Journal of Developmental Biology. 2018. V. 49. No. 6. P. 370–380. doi: 10.1134/S1062360419010053
10. Samson R.A., Houbraeken J., Thrane U., Frisvad J.C., Andersen B. Food and indoor fungi. Utrecht: The Netherlands, 2010. 246 p.
11. Aleksandrova A.V., Velikanov L.L., Sidorova I.I., Voronina E.Yu. Fungis of the genus *Trichoderma*. Zvenigorod Biological Station MSU // Trudy Zvenigorodskoy biologicheskoy stantsii imeni S.N. Skadovskogo. 2005. V. 4. P. 105–115 (in Russian).
12. Hermosa R., Cardoza R.E., Rubio M.B., Gutiérrez S., Monte E. Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma* // Biotechnology and biology

- of *Trichoderma*. Elsevier, 2014. P. 125–137. doi: 10.1016/B978-0-444-59576-8.00010-2
13. Alimova F.K. Industrial use of fungi of the genus *Trichoderma*. Kazan: KGU im. V.I. Ulyanova-Lenina, 2006. 209 p. (in Russian).
14. Zhang F., Huo Y., Cobb A.B., Luo G., Zhou J., Yang G., Zhang Y. *Trichoderma* biofertilizer links to altered soil chemistry, altered microbial communities, and improved grassland biomass // *Frontiers in Microbiology*. 2018. V. 9. P. 1–11. doi: 10.3389/fmicb.2018.00848
15. Zhang F.G., Zhu Z., Yang X.M., Ran W., Shen Q.R. *Trichoderma harzianum* T-E5 significantly affects cucumber root exudates and fungal community in the cucumber rhizosphere // *Appl. Soil. Ecol.* 2013. V. 72. P. 41–48. doi: 10.1016/j.apsoil.2013.05.016
16. Xiong W., Guo S., Jousset A., Zhao Q., Wu H., Li R., Shen Q. Bio-fertilizer application induces soil suppressiveness against *Fusarium* wilt disease by reshaping the soil microbiome // *Soil Biology and Biochemistry*. 2017. V. 114. P. 238–247. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.07.016>
17. Sadykova V.S., Kurakov A.V., Kuvarina A.E., Rogozhin E.A. Antimicrobial activity of fungi strains of *Trichoderma* from Middle Siberia // *Applied biochemistry and microbiology*. 2015. V. 51. No. 3 P. 355–361. doi: 10.1134/S000368381503014X
18. Workshop on Microbiology / Ed. A.I. Netrusova. Moskva: Akademiya, 2005. 603 p. (in Russian).
19. Titova V.I., Kozlov A.V. Methods for assessing the functioning of soil microbocenosis involved in the transformation of organic matter: scientific and methodological manual. Nizhniy Novgorod: Nizhegorodskaya s.-kh. akademiya, 2012. 64 p. (in Russian).
20. Bailey B.A. Direct effects of *Trichoderma* and *Gliocladium* on plant growth and resistance to pathogens // *Enzymes, biological control and commercial application V.2.* / Eds. G.E. Harman, C.P. Kubicek. London: Taylor and Francis Ltd., 1998. P. 185–204.