

На правах рукописи



ДОЛИНСКАЯ ЕВГЕНИЯ ВИКТОРОВНА

**ВЛИЯНИЕ ГРИБОВ *TRICHODERMA ASPERELLUM*
НА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ**

03.01.05 – Физиология и биохимия растений

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Красноярск – 2011

Работа выполнена в ФГАОУ ВПО «Сибирский федеральный университет»
на кафедре водных и наземных экосистем

Научный руководитель: доктор биологических наук, доцент
Голованова Тамара Ивановна

**Официальные
оппоненты:** доктор биологических наук, профессор
Муратова Елена Николаевна

кандидат биологических наук, доцент
Киселева Ирина Сергеевна

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Защита состоится « 16 » декабря 2011 г. в 10⁰⁰ на заседании диссертационного совета ДМ 212.099.15 при Сибирском федеральном университете по адресу: 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79, ауд. Р8-06.
e-mail: nikgna@gmail.com

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Сибирского федерального университета.

Автореферат разослан ноября 2011 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
д.б.н., доцент



Н.А. Гаевский

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Среди биотических факторов большое влияние на растительный организм оказывают почвенные микроорганизмы. Воздействие микроорганизмов может сказываться как отрицательно, так и положительно на ростовые процессы растений (Мелентьев, 2007; Голованова и др., 2010). Фитопатогенные микроорганизмы синтезируют фитотоксины, способные подавлять или задерживать рост растений, а иногда и вовсе приводить к их гибели (Дунаевский, 2005; Siddiqui, 2005). Растения взаимодействуют и с полезными микроорганизмами, которые являются продуцентами комплекса антибиотических веществ, обладающих высокой физиологической активностью и подавляют рост целого ряда фитопатогенных грибов и бактерий, что позволяет им достаточно быстро вытеснять из грунтов или субстратов патогенную микрофлору (Александрова, 2000; Полянская и др., 2002; Голованова и др., 2009; 2010; Мельникова и др., 2009). Их антагонистические свойства используются в сельскохозяйственной биотехнологии для разработки и производства биологических средств защиты растений против ряда заболеваний (Боронин, 1998; Van Loon, 2009). Микроорганизмы-антагонисты фитопатогенов способны оказывать положительное влияние на комплекс физиолого-биохимических программ, протекающих в растительном организме: повышать доступность для растений элементов питания за счет фиксации азота, солубилизации фосфатов, улучшения водного и минерального статуса, что определяет формирование урожая; а также уменьшают стрессовое воздействие на растение неблагоприятных условий среды (Голованова, Долинская, 2008; Жуков и др., 2009; Демченко, 2010; Lambers et. al., 2009; Lemanceau et. al., 2009).

Выяснение механизмов формирования и функционирования ассоциаций растений и микроорганизмов является одним из актуальных вопросов биологии. В настоящее время накоплено много данных о процессах, происходящих на поверхности корня и в прикорневой зоне (Игнатов, 2005; Кацы, 2007; Мелентьев, 2007). Большинство работ посвящено исследованию закономерностей формирования и развития микробных сообществ на корневой поверхности в различные фазы роста и развития растений; соотношению и составу групп микроорганизмов в ризосфере отдельных видов растений (Кузьмина, Мелентьев, 2003; Vais Harsh et al., 2008; Муратова и др., 2009; Сичкарук, 2006). Однако физиолого-биохимические изменения, происходящие в растениях, под воздействием микроорганизмов во многом остаются невыясненными. Изучение механизма взаимодействия высших растений с микроорганизмами-антагонистами фитопатогенов открывает перспективы их использования в регуляции ростовых процессов растительных организмов и требует более детального рассмотрения. Принципиально новым является изучение биофизических процессов, происходящих в растении под действием микроорганизмов-антагонистов фитопатогенов.

Цель и задачи исследования. Исследование влияния грибов *Trichoderma asperellum* на физиолого-биохимические и биофизические процессы растений.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить действие грибов штамма *Trichoderma asperellum* М 99/5 на физиолого-морфологические параметры растений пшеницы.

2. Исследовать влияние грибов *T. asperellum* на накопление углеводов и белков в растениях; на общее содержание хлорофилла и соотношение форм хлорофилла *a* и *b*.

3. Выявить действие грибов *T. asperellum* на параметры термоиндуцированных изменений флуоресценции хлорофилла *a* в растениях.

4. Изучить действие грибов *T. asperellum* на кинетические параметры флуоресценции хлорофилла и скорость электронного транспорта.

5. Определить влияние *T. asperellum* на состояние растений, зараженных штаммом *Fusarium sporotrichioides* Z3-06.

Научная новизна. Показано, что под действием грибов *Trichoderma asperellum* М 99/5 происходит увеличение содержания углеводов и белков в растениях. Данные микроорганизмы оказывают влияние на фотосинтетический аппарат растений: увеличивается содержание зеленых пигментов, изменяется соотношение форм хлорофиллов в сторону увеличения хлорофилла *b*, что свидетельствует об активации ФСII. Выявлено, что под влиянием *T. asperellum* происходит изменение соотношения гранальных и агранальных структур хлоропластов в сторону увеличения доли относительного содержания хлорофилла в гранальных участках. Установлено, что данные микромицеты повышают устойчивость растений к повышенным температурам, а также снимают ингибирующий эффект *Fusarium sporotrichioides*.

Впервые показаны изменения, которые происходят в кинетических параметрах и характере индуцированной кривой флуоресценции под влиянием грибов *Trichoderma asperellum*.

Практическая значимость. Полученные данные вносят вклад в исследования по изучению физиолого-биохимических процессов, происходящих в растении в ответ на действие грибов *Trichoderma asperellum*. Оказывая влияние на комплекс физиолого-биохимических процессов, протекающих в растении, использование микроорганизмов-антагонистов является перспективным направлением в повышении продуктивности сельскохозяйственных культур. Результаты исследования могут быть использованы для разработки приемов рационального применения *Trichoderma* в практике растениеводства для реализации оптимального продукционного процесса у растений.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Грибы *Trichoderma asperellum* оказывают стимулирующее влияние на метаболические процессы растений пшеницы, увеличивая содержание углеводов, белков; хлорофилла *a* и *b*.
2. Под действием *T. asperellum* у растений увеличивается эффективность ФС II и повышается устойчивость к высоким температурам.
3. *Trichoderma asperellum* не нарушает скорость фотосинтетического электронного транспорта; снимает ингибирующее влияние патогенного штамма *Fusarium sporotrichioides* Z3-06.

Апробация работы. Результаты исследований по теме диссертации были представлены на Всероссийской конференции молодых ученых «Экология в современном мире: взгляд научной молодежи (Улан-Удэ, 2007); второй международной научно-практической конференции «Проблемы биологии, экологии, географии, образования: история и современность» (Санкт-Петербург, 2008); Международной научной конференции «Теоретические и прикладные аспекты биохимии и биотехнологии растений» (Минск, 2008); Международной научной конференции «Проблемы

биоэкологии и пути их решения» (II Ржавитинские чтения) (Саранск, 2008); I международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Фундаментальные и прикладные исследования в биологии» (Донецк, 2009); Международной конференции молодых ученых «Молодежь в науке – 2009» (Минск, 2009); Международной научно-методической конференции «Методы изучения продукционного процесса растений и фитоценозов» (Нальчик, 2009); VI-ой Международной научной конференции «Регуляция роста, развития и продуктивности растений» (Минск, 2009); II Междисциплинарном Микологическом форуме (Москва, 2010); III Международной научно-практической конференции «Экологическое равновесие и устойчивое развитие территории» (Санкт-Петербург, 2010); I Международных Беккеровских чтениях (Волгоград, 2010); V-ой Всероссийской конференции молодых ученых «Стратегия взаимодействия микроорганизмов и растений с окружающей средой» (Саратов, 2010); II-ой Международной научно-методологической конференции «Роль физиологии и биохимии в интродукции и селекции овощных, плодово-ягодных и лекарственных растений» (Москва, 2011); VII Съезде общества физиологов растений России. Международной конференции «Физиология растений – фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий» (Нижний Новгород, 2011); Международной научно-практической конференции «Ботанические чтения» (Ишим, 2011); Международном молодежном научно форуме «ЛОМОНОСОВ-2011» (Москва, 2011); 2-ой Международной конференции «Регуляция роста и развития растений: Физиолого-биохимические и генетические аспекты» (Харьков, 2011).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 36 работ, в том числе 4 публикации в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Личный вклад соискателя. Автор принимал непосредственное участие в постановке задач, проведении экспериментальных работ, в обработке и анализе полученных данных.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов и списка литературы, включающего 217 наименований, в том числе 102 на иностранных языках. Работа изложена на 146 страницах компьютерного текста, содержит 11 таблиц и 30 рисунков.

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность и благодарность своему научному руководителю д.б.н., доценту Тамаре Ивановне Головановой за помощь на всех этапах работы. Д.б.н., доценту Н.А. Гаевскому за помощь в обсуждении результатов. Автор благодарен д.б.н., профессору Т.И. Громовых и к.б.н., доценту Ю.А. Литовка за предоставленные штаммы микромицетов.

КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **введении** дано обоснование темы диссертации, ее научная новизна, определена практическая значимость, сформулированы цель и задачи исследования.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе обобщены результаты исследований по растительно-микробным взаимодействиям. Рассмотрены вопросы отрицательного и положительного действия микроорганизмов на растения; показана способность микроорганизмов-антагонистов

фитопатогенов влиять на рост и развитие растений с целью повышения урожайности, улучшения качества продукции, а также устойчивости к неблагоприятным факторам среды.

ГЛАВА II. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали растения мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L) сортов Тулунская-12, Омская-32 и селекционной линии КС-15, отличающиеся по продуктивности.

Растения выращивали в условиях светокультуры и условиях естественного освещения. В условиях светокультуры температура воздуха колебалась в пределах $25 \pm 2^\circ\text{C}$, облученность на уровне посева – 80 Вт/м^2 , влажность воздуха - $75 \pm 3 \%$, $\text{pH}=6$. В условиях естественного освещения температура воздуха колебалась в пределах $25\text{-}30^\circ\text{C}$, влажность воздуха – $72\text{-}77\%$.

Колонизацию части растений проводили методом обработки семян сухим споровым материалом грибов *Trichoderma asperellum* M 99/5, титр составил 10^8 . Часть семян замачивали на 24 ч в культуральных фильтрах штамма Z3-06 *Fusarium sporotrichioides*. Контролем служил вариант, где семена не были обработаны данными микроскопическими грибами.

Площадь листовой пластинки определяли методом расчетного коэффициента, характерного для злаковых растений (Усманов и др., 2001).

Содержание хлорофилла измеряли спектрофотометрически в этанольных экстрактах (Гольд, 1971). *Содержание суммарных углеводов* определяли в этанольных экстрактах методом Дюбуа (Dibois, 1956). *Содержание суммарных белков* определяли по биуретовой реакции (Досон и др., 1991).

В качестве *индикатора состояния фотосинтетических мембран* использовали метод термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции хлорофилла (Гаевский, Сорокина, Гольд и др., 1991). Рассчитывали переменную флуоресценцию – R_1 , термоустойчивость и соотношение максимумов кривой – R_2 , поскольку отсутствовал второй максимум брали значения флуоресценции при 65°C . $R_1 = (M_1 - \text{Фл}_{30}) / M_1$; $R_2 = M_1/M_2$, где M_1 - значение низкотемпературного максимума, M_2 – значение флуоресценции при 65°C , Фл_{30} – значение флуоресценции при 30°C .

Термоустойчивость определяли путем построения биссектрисы из места пересечения касательных к термограмме, приложенных в участках минимального и максимального роста флуоресценции.

Скорость электронного транспорта и кинетические параметры световой кривой измеряли на junior-PAM (Walz, 2007).

Для статистической обработки экспериментальных результатов использовали специализированный пакет программы Microsoft Excel 2007. Оценку достоверности различий средних проводили на основе критерия Стьюдента, при уровне вероятности не менее 95 %. Достоверность действия фактора проводили с использованием дисперсионного анализа. В таблицах и рисунках приведены средние арифметические значения с двухсторонним доверительным интервалом из 3-5 независимых экспериментов, каждый из которых проведен в 3 биологических повторностях. Первичные процессы фотосинтеза изучали на 40 растениях в каждом из вариантов.

ГЛАВА III. ВЛИЯНИЕ ГРИБОВ *TRICHODERMA ASPERELLUM* НА ФИЗИОЛОГО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ

3.1. Влияние *Trichoderma asperellum* на энергию прорастания и всхожесть растений пшеницы

Установлено, что в условиях естественного освещения опудривание семян спорами *T. asperellum* увеличивало энергию прорастания и всхожесть от 6 до 16% в зависимости от сорта (рис. 1). Аналогичное действие *T. asperellum* проявилось в условиях светокультуры. Наибольший стимулирующий эффект наблюдался у растений потенциально высокоурожайной селекционной линии КС-15.

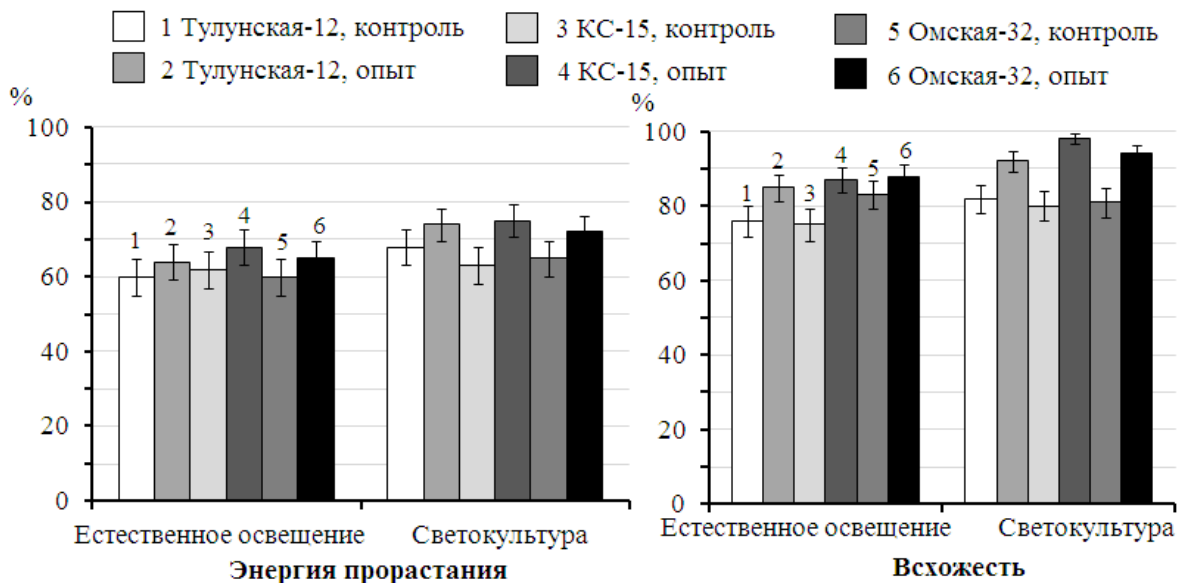


Рисунок 1 – Влияние гриба *Trichoderma asperellum* на энергию прорастания и всхожесть растений пшеницы, в зависимости от условий выращивания.

Примечание: контроль – растения, семена которых необработаны спорами гриба *T. asperellum*; опыт - растения, семена которых обработаны спорами гриба *T. asperellum*.

3.2. Влияние грибов *Trichoderma asperellum* на физиолого-морфологические параметры растений пшеницы

При исследовании влияния грибов *T. asperellum* на ростовые процессы исследуемых растений пшеницы на всех сроках вегетации было отмечено его стимулирующее влияние на длину надземной части и корневой системы. Наибольший эффект был отмечен в возрасте десяти суток (рис. 2).

Грибы *T. asperellum* способствовали не только линейному росту, но и оказывали влияние на продуктивность растений, включающую накопление биомассы. Результаты исследований показали, что в условиях естественного освещения грибы *T. asperellum* оказали достоверное положительное влияние на накопление сырой биомассы растением (табл. 1). Увеличение содержания сырой биомассы в опытных растениях могло быть связано как с увеличением содержания воды в тканях, так и с накоплением в них сухого вещества. Данные по содержанию воды в растениях показали, что оводненность растений, семена которых были обработаны спорами гриба *T. asperellum* меньше, чем оводненность необработанных растений (табл. 1). Следовательно, продукты жизнедеятельности *Trichoderma asperellum* оказывали стимулирующее влияние на накопление биомассы растениями пшеницы за счет накопления в них сухого вещества. Данный факт подтверждается результатами по накоплению сухой биомассы растениями

(табл. 1). Максимальное увеличение сухой биомассы наблюдалось у растений в опытных вариантах. Наиболее эффективное действие гриба-антагониста проявилось на растениях селекционной линии КС-15; так прирост сухой биомассы с 10 по 30 сутки у растений этой линии в 2 раза превысил данный показатель у контрольного варианта.

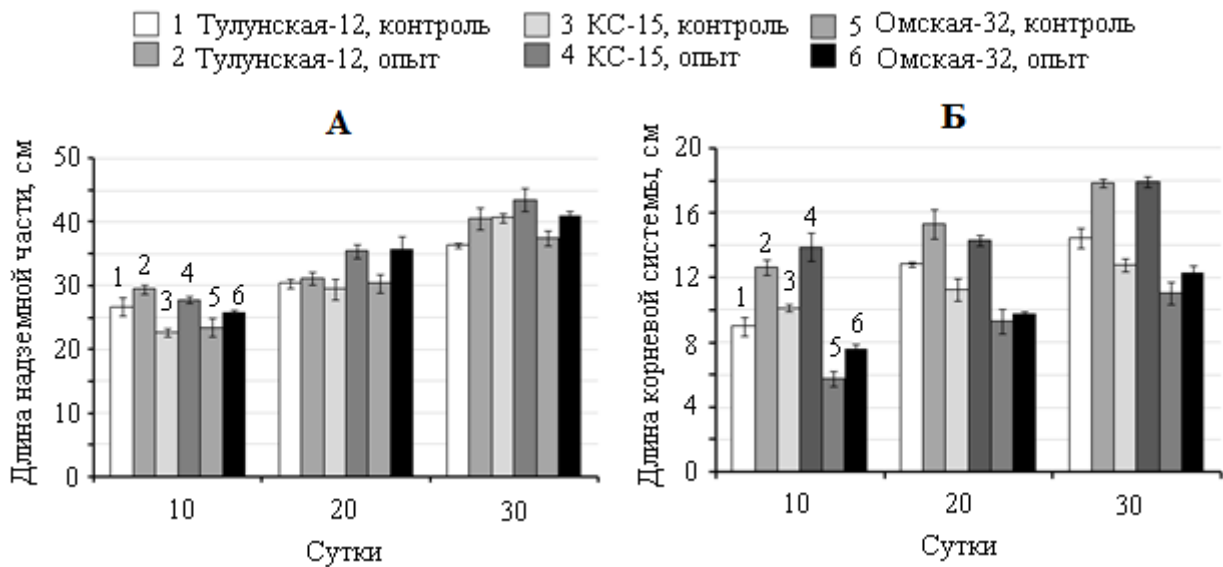


Рисунок 2 – Влияние гриба *Trichoderma asperellum* на длину надземной части (А) и корневой системы (Б) растений пшеницы, выращенных в условиях естественного освещения.

Примечание: как на рис. 1.

Аналогичное стимулирующее действие грибов *Trichoderma asperellum* проявилось в условиях светокультуры. Увеличивалась длина надземной части, корневой системы, накопление срой и сухой биомассы. Следует отметить, что в данных условиях выращивания значения изучаемых показателей и степень эффективности грибов были выше, чем в условиях естественного освещения.

Определено действие антагонистически активного штамма *Trichoderma asperellum* М 99/5 на физиолого-морфологические параметры растений пшеницы, зараженных штаммом *Fusarium sporotrichioides* Z3-06. Исследования показали, что *F. sporotrichioides* снижал энергию прорастания и всхожесть растений; оказывал ингибирующее влияние на все физиолого-морфологические параметры. Данный факт согласуется с данными литературы (Müllenborn et al., 2008; Boutigny et al., 2010). В тоже время *T. asperellum* снимала ингибирующее действие *F. sporotrichioides* на ростовые процессы растений и оказывала стимулирующее влияние на растение уже на ранних этапах развития (табл. 2).

Можно считать установленным, что штамм *Trichoderma asperellum* М 99/5 положительно влиял на ростовые процессы пшеницы, независимо от сортовой принадлежности растений. Опытные растения были больше по величине, содержанию сырого и сухого вещества. Кроме того, как показали исследования, *T. asperellum* способствовала более быстрому прохождению фаз развития, достигая цветения в более короткие сроки, когда удлинение вегетативной части практически прекращается. Так начало цветения наблюдалось впервые в опытных вариантах, а лишь затем в контрольном варианте. Однако следует отметить тот факт, что в условиях светокультуры действие данного микроорганизма было более эффективно.

Таблица 1 – Влияние грибов *Trichoderma asperellum* на физиолого-морфологические параметры растений пшеницы, выращенных в условиях естественного освещения.

Сутки	Вариант опыта	Количество листьев	Содержание воды, %	Сырая биомасса, мг	Сухая биомасса, мг
10	Растения, семена которых необработаны спорами <i>Trichoderma asperellum</i>				
	Тулунская-12	2±0,0	87±0,37	313,3±8,8	35,3±4,3
	КС-15	2±0,0	90±0,37	300,0±5,8	34,7±1,9
	Омская-32	2±0,0	91±0,20	236,7±6,7	20,0±1,3
	Растения, семена которых обработаны спорами <i>Trichoderma asperellum</i>				
	Тулунская-12	2±0,0	86±0,51	380±11,5**	51,7±2,4**
	КС-15	2±0,0	85±0,71**	326,7±3,3**	56,7±7,7***
Омская-32	2±0,0	88±0,73*	345,0±5,0***	40,0±1,3***	
20	Растения, семена которых необработаны спорами <i>Trichoderma asperellum</i>				
	Тулунская-12	3,0±0,3	89±0,84	550,0±26,5	58,7±2,9
	КС-15	4,0±0,3	89±0,76	563,3±24,0	64,3±1,5
	Омская-32	3,0±0,0	90±0,42	403,3±20,3	44,3±1,9
	Растения, семена которых обработаны спорами <i>Trichoderma asperellum</i>				
	Тулунская-12	4,0±0,3	87±0,66	616,7±17,6	78,3±5,8*
	КС-15	4,0±0,3	87±0,63	650,0±30,5	80,7±7,7
Омская-32	4,0±0,0	88±0,72	513,3±75,3	60,0±1,3***	
30	Растения, семена которых необработаны спорами <i>Trichoderma asperellum</i>				
	Тулунская-12	6,0±0,3	87±0,54	1010±26,5	125,3±4,3
	КС-15	5,0±0,3	84±0,32	1010±28,9	158,7±6,4
	Омская-32	5,0±0,0	88±0,66	810±15,8	90,0±4,3
	Растения, семена которых обработаны спорами <i>Trichoderma asperellum</i>				
	Тулунская-12	7,0±0,3	85±0,22*	1187±42***	183,0±2,3***
	КС-15	6,0±0,3	79±0,51**	1277±21***	273,7±2,0***
Омская-32	6,0±0,3	85±0,28*	1020±15,3***	150,0±3,1**	

Таблица 2 – Физиолого-морфологические параметры растений пшеницы под действием микромицетов.

Сутки	Вариант опыта	Длина надземной части, см	Длина корневой системы, см	Сырая биомасса, мг	Сухая биомасса, мг
10	I	23,4 ± 1,45	5,7 ± 0,47	240 ± 10,1	20 ± 1,4
	II	17,0 ± 1,75*	3,7 ± 0,39*	130±10,2***	20 ± 1,3
	III	21,5 ± 1,15	5,9 ± 0,29**	210 ± 20,1**	20 ± 1,4
20	I	30,3 ± 1,42	9,3 ± 0,75	400 ± 20,3*	40 ± 1,8
	II	20,6 ± 2,46**	6,3 ± 0,60*	270±10,4***	30 ± 1,7**
	III	29,7 ± 2,20*	7,9 ± 0,71	340 ± 10,7**	40 ± 2,2
30	I	37,5 ± 1,25	11,00 ± 0,69	810 ± 39,3	90 ± 5,4*
	II	29,1 ± 1,70**	6,9 ± 0,54**	530 ± 30,1***	50 ± 2,1***
	III	37,5 ± 1,40**	9,9 ± 0,81*	750 ± 40,1**	70 ± 4,3**

Примечание: I – растения, необработанные микроорганизмами (контроль); II – растения, семена которых обработаны метаболитами *Fusarium sporotrichioides*; III – растения, подвергшиеся совместной обработке микроскопическими грибами (*T. asperellum* + *F. sporotrichioides*). * – различия достоверны при p=0,05; ** – различия достоверны при p=0,01; *** – различия достоверны при p=0,001.

3.3. Изменение площади листовой поверхности у растений пшеницы под действием грибов *Trichoderma asperellum*

Грибы *T. asperellum* способствовали увеличению листьев на растениях (табл. 1). Они оказывали влияние на развитие ассимиляционного аппарата растений, о чем свидетельствовало увеличение площади листьев на растениях, по сравнению с контролем, независимо от условий выращивания (рис. 3). Так, у растений, выращенных в условиях светокультуры, наибольший эффект был отмечен на 20 сутки: под действием *T. asperellum* площадь листьев превышала контроль в 1,5-2 раза в зависимости от сорта. Наиболее эффективное действие обработки семян спорами гриба *Trichoderma asperellum* проявилось на растениях пшеницы селекционной линии КС-15.

Таким образом, за счет действия *T. asperellum* растения пшеницы формировали большую листовую поверхность, что создавало условия для увеличения фотоассимиляционной деятельности растений, что по мнению (Ничипорович, 1963; Межунц и др., 2010) должно проявиться в увеличении общей продуктивности.

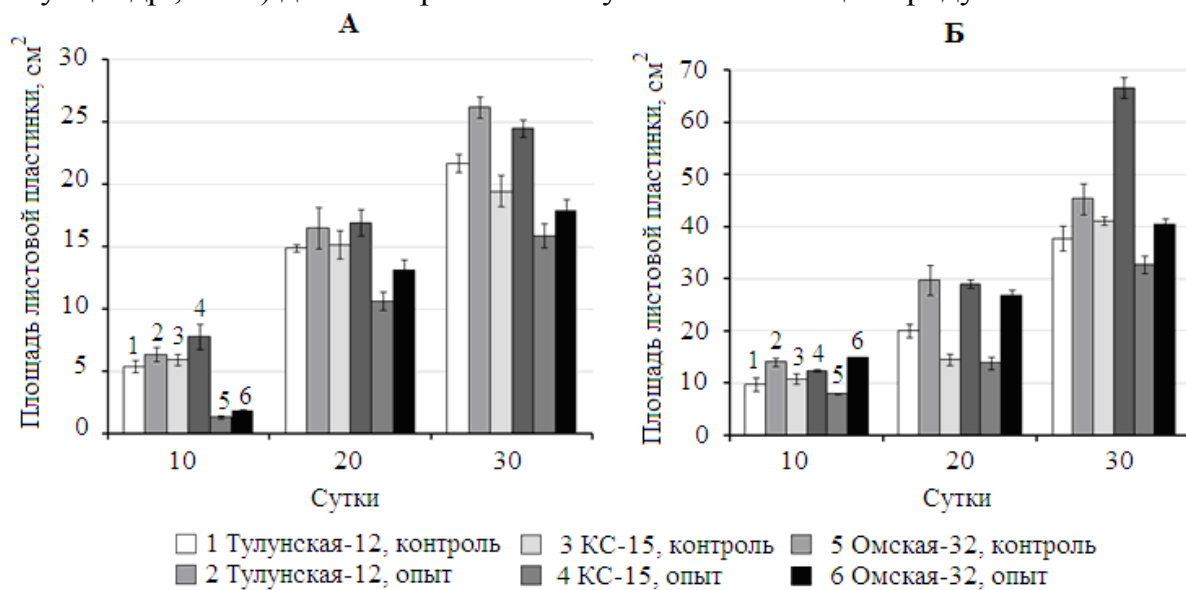


Рисунок 3 – Влияние гриба *Trichoderma asperellum* на площадь листовой пластинки растений пшеницы, выращенных в условиях естественного освещения (А) и светокультуры (Б).

Примечание: Контроль – растения, семена которых необработаны спорами гриба *T. asperellum*; опыт - растения, семена которых обработаны спорами гриба *T. asperellum*.

ГЛАВА IV. ИЗМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ РАСТЕНИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГРИБОВ *TRICHODERMA ASPERELLUM*

4.1. Изменение содержания хлорофилла *a* и *b* в листьях растений пшеницы под действием грибов *Trichoderma asperellum*

Показано, что независимо от условий выращивания на всех сроках вегетации у растений под действием *Trichoderma asperellum*, содержание хлорофилла в расчете на сырую массу было больше, чем у растений, не подвергавшихся обработке (табл. 3). В условиях естественного освещения у 10-и дневных растений пшеницы содержание хлорофилла *a* увеличилось от 50 до 80% в зависимости от сорта, количество хлорофилла *b* – от 24 до 88%, по сравнению с контролем (табл. 3).

Таблица 3 – Влияние грибов *Trichoderma asperellum* на содержание зеленых пигментов в растениях пшеницы.

Сутки	Вариант	Содержание фотосинтетических пигментов, мг/г сырой массы								
		Естественное освещение				Светокультура				
		Хлорофилл а	Хлорофилл b	Хлорофилл a+b	Отношение хлорофилла a/b	Хлорофилл а	Хлорофилл b	Хлорофилл a+b	Отношение хлорофилла a/b	
10	Сорт Тулунская-12									
	Контроль	1,12 ± 0,01	0,59 ± 0,02	1,71 ± 0,02	1,89 ± 0,01	1,46 ± 0,02	0,63 ± 0,01	2,09 ± 0,01	2,32 ± 0,01	
	Опыт	1,98±0,02***	0,73 ± 0,02*	2,71±0,02***	2,71±,01**	2,27±0,03***	0,94±0,01***	3,21±0,02***	2,41±0,02***	
	Сорт Омская-32									
	Контроль	0,76 ± 0,04	0,33 ± 0,03	1,09 ± 0,04	2,3 ± 0,02	0,84 ± 0,07	0,33 ± 0,05	1,17 ± 0,04	2,54 ± 0,05	
	Опыт	1,15 ± 0,04**	0,62±0,02***	1,77±0,04***	1,85±0,03**	1,31±0,08***	0,64±0,07***	1,95±0,06***	2,04±0,06***	
	Селекционная линия КС-15									
	Контроль	1,16 ± 0,07	0,61 ± 0,02	1,77 ± 0,05	1,90 ± 0,03	1,28 ± 0,01	0,68 ± 0,02	1,96 ± 0,01	1,88 ± 0,02	
	Опыт	2,02±0,02***	0,99±0,01***	3,01±0,02***	2,04±0,01***	2,19±0,03***	1,07±0,03***	3,26±0,03***	2,04±0,03***	
	20	Сорт Тулунская-12								
		Контроль	1,72 ± 0,04	0,73 ± 0,03	2,45 ± 0,04	2,36 ± 0,03	1,92 ± 0,04	0,83 ± 0,01	2,75 ± 0,03	2,31 ± 0,03
		Опыт	2,16±0,02***	1,02 ± 0,04**	3,18±0,03**	2,11 ± 0,03**	2,76±0,02***	1,39±0,02***	4,15±0,02***	1,99±0,02***
Сорт Омская-32										
Контроль		1,05 ± 0,03	0,74 ± 0,05	1,79 ± 0,05	1,42 ± 0,04	1,17 ± 0,04	0,76 ± 0,05	1,93 ± 0,04	1,54 ± 0,04	
Опыт		1,42± 0,04**	0,93 ± 0,06	2,35 ± 0,05*	1,53 ± 0,04*	1,57±0,06***	0,97±0,07***	2,54 ± ,06***	1,61±0,05***	
Селекционная линия КС-15										
Контроль		1,47 ± 0,06	0,87 ± 0,01	2,34 ± 0,05	1,69 ± 0,05	1,74 ± 0,01	0,89 ± 0,02	2,63 ± 0,01	1,95 ± 0,02	
Опыт		1,84 ± 0,03**	1,23±0,03***	3,07±0,03**	1,49 ± 0,03**	3,01±0,03***	1,35 ± ,02***	4,36±0,02***	2,22±0,02***	
30		Сорт Тулунская-12								
		Контроль	3,18 ± 0,01	0,96 ± 0,01	4,14 ± 0,01	3,31 ± 0,01	3,82 ± 0,01	1,21 ± 0,01	5,03 ± 0,01	3,16 ± 0,01
		Опыт	3,87±0,03***	1,15 ± 0,03**	5,02±0,03**	3,37 ± 0,03**	4,57 ± 0,03*	1,56 ± 0,03	6,13 ± 0,03*	2,93 ± 0,03*
	Сорт Омская-32									
	Контроль	2,44 ± 0,06	0,89 ± 0,05	3,33 ± 0,06	2,74 ± 0,05	3,24 ± 0,02	0,94 ± 0,03	4,18 ± 0,02	3,44 ± 0,02	
	Опыт	2,99 ± 0,07**	1,02 ± 0,06	4,01 ± 0,06*	2,93 ± 0,06**	3,79 ± 0,01**	1,34 ± 0,03	5,13 ± 0,02*	2,83 ± 0,01*	
	Селекционная линия КС-15									
	Контроль	3,01 ± 0,01	1,01 ± 0,02	4,02 ± 0,01	2,98 ± 0,01	3,31 ± 0,02	1,17 ± 0,01	4,48 ± 0,01	2,83 ± 0,02	
	Опыт	3,87±0,02***	1,09 ± 0,02	4,96±0,02**	3,55 ± 0,02**	4,37±0,03***	1,61±0,02***	5,98±0,02***	2,71±0,02***	

Примечание: Контроль – растения, семена которых необработаны спорами гриба *Trichoderma asperellum*; опыт - растения, семена которых обработаны спорами гриба *Trichoderma asperellum*. *, **, *** – различия достоверны при p=0,05; 0,01; 0,001, соответственно.

Под действием *T. asperellum* происходило изменение соотношения форм хлорофиллов. На более поздних этапах вегетации, независимо от условий выращивания, у растений под действием *T. asperellum* наблюдалось уменьшение соотношения хлорофилла *a* к *b* в опытном варианте, что может свидетельствовать о более эффективной работе ФС II в растениях на более поздних сроках вегетации (табл. 3). Результаты исследований по содержанию общего хлорофилла, хлорофилла *a*, *b* и соотношению форм хлорофилла у растений пшеницы, выращенных в разных условиях, показали, что наибольшую эффективность *Trichoderma asperellum* проявила на растениях пшеницы, выращенных в условиях светокультуры (табл. 3). Так на 20 сутки вегетации, эффективность действия *T. asperellum* на содержания общего хлорофилла у растений, выращенных в условиях светокультуры, было больше в 1,7 раз у растений сорта Тулунская-12 и более чем в 2 раза у растений селекционной линии КС-15, по сравнению с растениями, выращенными в условиях естественного освещения (табл. 3).

Таким образом, предпосевная обработка спорами гриба *Trichoderma asperellum* увеличивала общее содержание зелёных пигментов в листьях пшеницы в течение всего периода развития, независимо от сортовой принадлежности растений и условий выращивания. Наибольшую стимулирующую активность он проявлял на растениях пшеницы низкоурожайного сорта Тулунская-12 и потенциально высокоурожайной селекционной линии КС-15. Среднеурожайный сорт Омская-32 был наименее отзывчив на обработку грибом *Trichoderma asperellum*.

4.2. Влияние грибов *Trichoderma asperellum* на накопление белков и углеводов в растениях пшеницы

Установлено, что данный микроорганизм значительно увеличивал накопление углеводов в растениях на протяжении всего периода вегетации, не зависимо от условий выращивания (Рис. 4). Анализ изменения содержания углеводов у растений, выращенных в условиях естественного освещения, показал, что уже на самых ранних этапах развития в возрасте 10 дней у растений сортов Тулунская-12, Омская-32 и селекционной линии КС-15 опытные растения достоверно превышали контрольные на 33%, 26% и 21% соответственно (рис. 4 А). Результаты по влиянию грибов *Trichoderma asperellum* на суммарное содержание белков в листьях пшеницы показали, что в опытных вариантах содержание данных метаболитов больше по сравнению с контрольными растениями (рис. 4 Б).

На основании проведенных исследований можно сделать заключение, что грибок-антагонист *T. asperellum* оказывал положительное влияние на общее содержание углеводов и белка в растениях пшеницы всех исследуемых сортов. Наибольшее стимулирующее влияние данного микроорганизма отмечено на низкоурожайном сорте Тулунская-12.

ГЛАВА V. БИОФИЗИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ РАСТЕНИЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ГРИБОВ TRICHODERMA ASPERELLUM

5.1. Влияние грибов *Trichoderma asperellum* на термоиндуцированные изменения нулевого уровня флуоресценции хлорофилла

Данные о влиянии *T. asperellum* на термоиндуцированные изменения нулевого уровня флуоресценции хлорофилла у растений, выращенных в условиях естественного освещения, показали, что у данных растений пшеницы, значения вариабельной

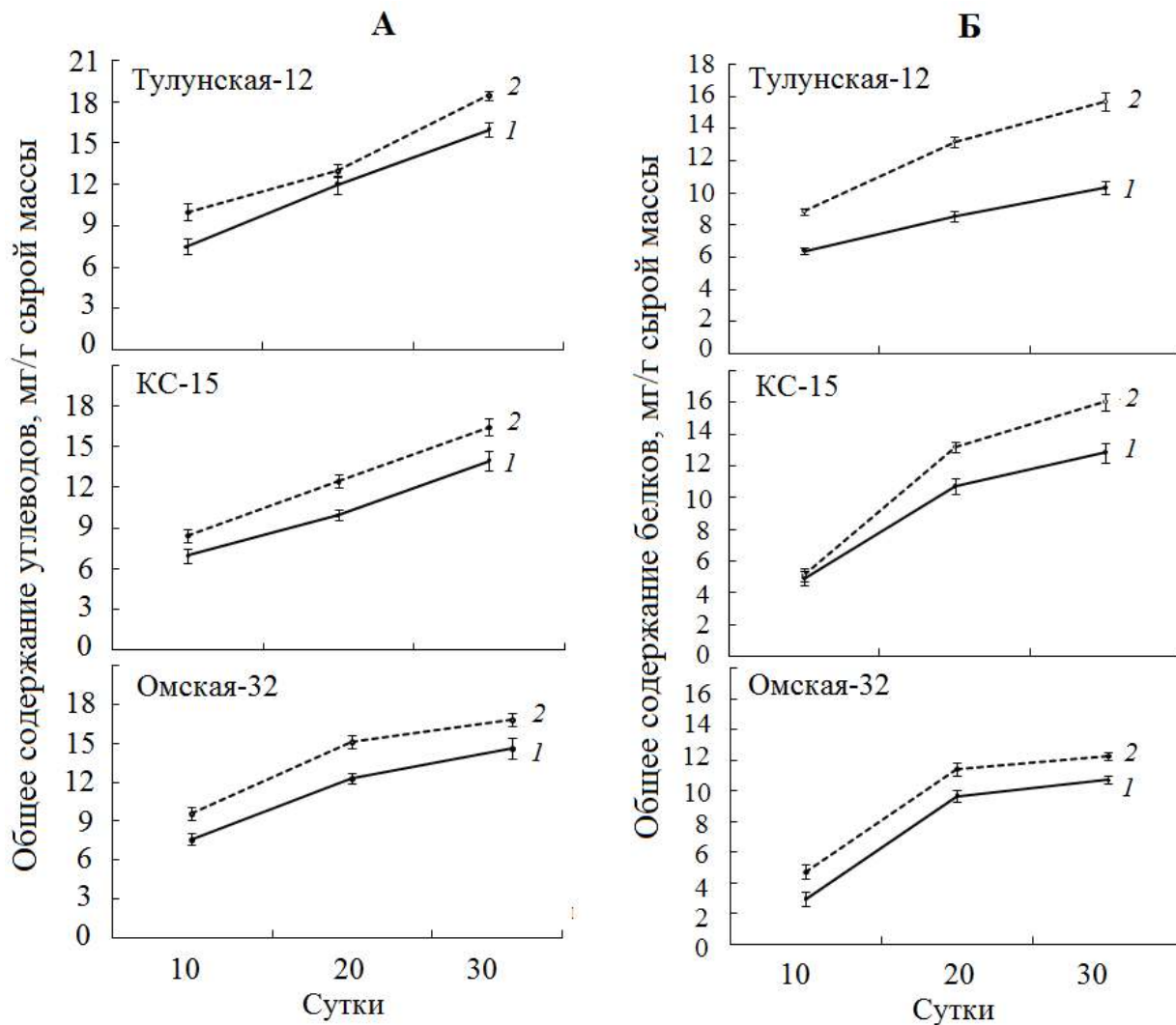


Рисунок 4 – Влияние гриба *Trichoderma asperellum* на общее содержание углеводов (А) и белков (Б) в растениях пшеницы, выращенных в условиях естественного освещения. Примечание: 1 – растения, необработанные спорами гриба *T. asperellum*; 2 – растения, обработанные спорами гриба *T. asperellum*.

флуоресценции на всех сроках вегетации были достоверно выше, чем у контрольных растений (табл. 4). Данные согласуются с работами, где было показано действие гриба *Trichoderma harzianum* на величину параметра R_1 в растениях амаранта (Голованова, Ширкевич, 2006). Более высокие значения варибельной флуоресценции у опытных растений свидетельствуют о том, что эффективность использования световой энергии ФС II у данных растений выше. Данный факт согласуется с данными, полученными по содержанию хлорофилла; у растений, семена которых подвергались обработке спорами *T. asperellum* содержание хлорофилла *b* было более высоким. Наиболее отзывчивыми на обработку данными микроорганизмами оказались растения низкоурожайного сорта Тулунская-12. Показателем состояния фотосинтетического аппарата, характеризующим относительное содержание хлорофилла *a* в гранальных и межгранальных участках мембран тилакоидов, является параметр R_2 , который увеличивается с ростом гранальности. Как следует из представленных данных, величина параметра R_2 изменялась на протяжении всего вегетационного периода, при этом значения R_2 у растений подвергшихся обработке *Trichoderma asperellum* были достоверно выше, чем у растений контрольных вариантов.

Таблица 4 – Термоиндуцированные изменения нулевого уровня флуоресценции хлорофилла у растений пшеницы, выращенных в условиях естественного освещения.

Сутки	Вариант	R ₁	R ₂	Термоустойчивость, °С
15	Сорт Тулунская-12			
	Контроль	0,525±0,001	2,470±0,001	38,50±0,61
	Опыт	0,592±0,002*	2,670±0,004***	40,30±0,71*
	Селекционная линия КС-15			
	Контроль	0,555±0,003	3,170±0,002	41,25±0,25
	Опыт	0,610±0,001**	3,440±0,003*	44,50±0,60***
30	Сорт Тулунская-12			
	Контроль	0,600±0,001	2,210±0,016	42,80±0,40
	Опыт	0,740±0,002***	2,820±0,010***	45,10±0,30***
	Селекционная линия КС-15			
	Контроль	0,620±0,005	2,450±0,002	43,25±0,42
	Опыт	0,690±0,003*	2,920±0,002***	46,30±0,35***
45	Сорт Тулунская-12			
	Контроль	0,490±0,001	2,620±0,012	37,00±2,14
	Опыт	0,610±0,002***	2,980±0,013***	38,2±1,79*
	Селекционная линия КС-15			
	Контроль	0,540±0,001	3,220±0,019	38,00±1,98
	Опыт	0,630±0,002***	3,940±0,011***	40,1±0,50***

Примечание: Контроль – растения, семена которых необработанны спорами гриба *T. asperellum*; опыт - растения, семена которых обработаны спорами гриба *T. asperellum*; R₁ – вариабельная флуоресценция; R₂ – соотношение гранальной и агранальной структуры хлоропластов; * – различия достоверны при p=0,05; ** – различия достоверны при p=0,01; *** – различия достоверны при p=0,001.

В процессе роста изменялась устойчивость растений к повышенным температурам (табл. 4). Наибольшей термоустойчивостью обладали растения селекционной линии КС-15. Аналогичная закономерность наблюдалась у растений, выращенных в условиях светокультуры.

Исходя из результатов термоиндуцированных изменений нулевого уровня флуоресценции хлорофилла, можно сделать заключение, что у растений, обработанных спорами гриба *Trichoderma asperellum*, независимо от условий выращивания, преобладает гранальная организация хлоропластов в сравнении с контрольными растениями. Значения вариабельной флуоресценции, у обработанных *T. asperellum* растений значительно выше, что позволяет сделать вывод о том, что эффективность захвата световой энергии возбуждения открытыми реакционными центрами ФС II у данных растений выше, что согласуется с данными, полученными по содержанию хлорофилла. Фотосинтетический аппарат растений пшеницы, обработанных грибами *Trichoderma asperellum* более устойчив к нагреванию.

5.2. Влияние грибов *Trichoderma asperellum* на первичные процессы фотосинтеза

Исследование первичных процессов фотосинтеза проводили с пшеницей сорта Омская-32, выращенной в условиях естественного освещения. В эксперименте использовали контрольные растения и растения, зараженные *Fusarium sporotrichioides*.

Грибы *T. asperellum* не оказывали значительного влияния на насыщающую скорость фотосинтеза; характер световой кривой растений, обработанных данными грибами,

совпадал со световой кривой, характерной для контрольных растений. В тоже время патогенный гриб *F. sporotrichioides* оказывал на насыщаемую скорость фотосинтеза заметное ингибирующее действие; значение скорости электронного транспорта было на 28% ниже значения скорости электронного транспорта растений контрольного варианта. Однако внесение *T. asperellum* в вариант с *F. sporotrichioides* нивелировало ингибирующий эффект данного патогена, выравнивало характер световой кривой и увеличивало значение скорости электронного транспорта на 46% (табл. 5).

Таблица 5 – Кинетические параметры индукционной кривой флуоресценции у 15-ти дневных растений пшеницы.

Варианты	Насыщающая скорость электронного транспорта	Квантовый выход	Нефотохимический компонент тушения	Фотохимический компонент тушения
I	32,6 ± 0,2	0,17 ± 0,01	0,66 ± 0,01	0,31 ± 0,01
II	33,1 ± 0,2	0,17 ± 0,01	0,60 ± 0,02	0,29 ± 0,01
III	23,2 ± 0,2	0,09 ± 0,01	0,70 ± 0,01	0,17 ± 0,01
IV	33,9 ± 0,2	0,18 ± 0,01	0,58 ± 0,01	0,29 ± 0,01

Примечание: I – растения, необработанные микроорганизмами (контроль); II – растения, семена которых обработаны спорами гриба *T. asperellum*; III – растения, семена которых обработаны метаболитами *F. sporotrichioides*; IV – растения, подвергшиеся совместной обработке микроскопическими грибами (*T. asperellum* + *F. sporotrichioides*).

На рис. 5 показано как изменяется скорость фотосинтетического электронного транспорта при индукционном переходе «темнота-свет» под действием микромицетов. Отличительной чертой фазы активации у растений, подвергшихся совместной обработке микромицетами и растений, обработанных патогеном *F. sporotrichioides* является задержка процесса активации скорости электронного транспорта до 70-ой секунды после включения актиничного света. Под влиянием патогена *F. sporotrichioides* нарушалась скорость транспорта электронов, в то время как дополнительное внесение *T. asperellum* в вариант с патогеном снимала это ингибирующее действие.

Результаты проведенных исследований не выявили достоверных различий по величине квантового выхода между растениями контрольного варианта и растениями, обработанными грибами *T. asperellum* (табл. 5). Под влиянием патогена Z3-06 *F. sporotrichioides* происходило снижение квантового выхода на 44% относительно контроля. Однако, дополнительное внесение *T. asperellum* в вариант с *F. sporotrichioides* снимало ингибирующий эффект и почти в 2 раза увеличивало значение квантового выхода. Установлено, что *Trichoderma asperellum* способствовала снижению значения нефотохимического компонента тушения, а, следовательно, в обработанных растениях происходила более интенсивная зарядка мембраны, ускорялся отток H^+ - градиента на синтез АТФ, а затем на темновые реакции, что в свою очередь способствовало накоплению основных метаболитов. Результаты согласуются с данными, полученными по влиянию микроорганизмов на содержание белков и углеводов в растениях.

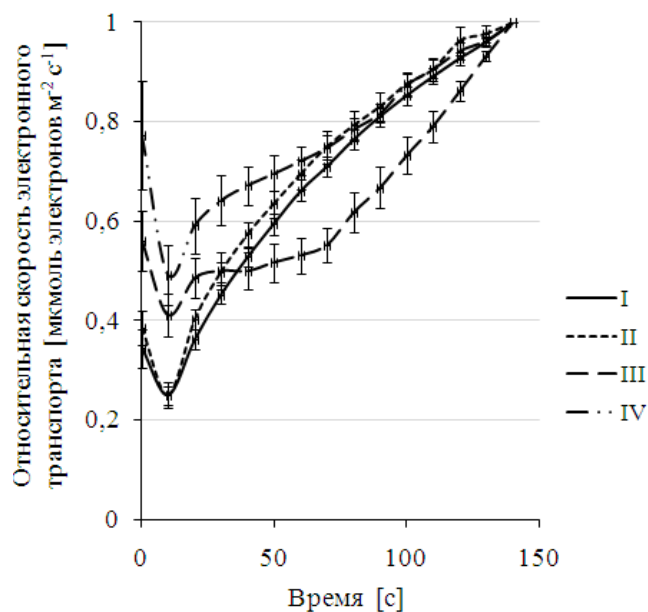


Рисунок 5 – Скорость фотосинтетического электронного транспорта при индукционном переходе «темнота-свет» у растений пшеницы. Конечное значение скорости принято за единицу. Примечание: I – растения, необработанные микроорганизмами (контроль); II – растения, семена которых обработаны спорами гриба *T. asperellum*; III – растения, семена которых обработаны метаболитами *F. sporotrichioides*; IV – растения, подвергшиеся совместной обработке микроскопическими грибами.

Таким образом, установлено, что предпосевная обработка семян спорами гриба *T. asperellum* не нарушала скорость электронного транспорта, способствовала увеличению значения квантового выхода и фотохимического компонента тушения, понижала значения нефотохимического компонента тушения. При дополнительном внесении *T. asperellum* в почву растений, зараженных *F. sporotrichioides*, она снимала ингибирующее действие данного патогена и тем самым способствовала нормализации обменных процессов в растении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Накопленные к настоящему времени данные убедительно свидетельствуют о том, что большое влияние на рост и развитие растений оказывают почвенные микроорганизмы. Следует отметить, что среди них встречаются как фитопатогены, оказывающие отрицательное воздействие, так и микроорганизмы – антагонисты фитопатогенов, оказывающие положительное влияние на растительный организм. Представителями последней группы являются микроскопические грибы рода *Trichoderma*. Продукты жизнедеятельности грибов рода *Trichoderma* способны усиливать обмен веществ в растении, увеличивать процент всхожести семян. Однако стоит отметить, что стимулирующее свойство различных представителей рода *Trichoderma* проявляется избирательно в зависимости от вида, сорта растения и штамма используемого микроорганизма (Голованова и др., 2009; 2010; Кожухарь и др., 2010; Vinale et al., 2007). Среди них штамм *Trichoderma asperellum* 99/5 обладает наибольшей активностью в борьбе с патогенами злаков, поэтому он был выбран для изучения влияния на физиолого-биохимические показатели растений пшеницы разных сортов, отличающихся по потенциальной продуктивности и на биофизические характеристики их фотосинтетического аппарата.

Установлено, что стимулирующий эффект действия данного микроорганизма обнаруживался уже на самых ранних стадиях развития растений, начиная с прорастания семян. Результаты согласуются с данными других исследователей (Сейкетов, 1982; Алимова и др., 2006; Neuhof et al., 2007). Предпосевная обработка семян спорами *T. asperellum* приводила к повышению их энергии прорастания и всхожести, увеличивала

количество листьев, длину надземной части, корневой системы, способствовала накоплению биомассы растением, положительно влияла на площадь листовой поверхности. Морфологические изменения, происходящие в растении это первое, что мы можем зафиксировать. Однако эти внешние проявления являются результатом более глубоких изменений, происходящих внутри растения.

Необходимо учитывать, что между данными микроорганизмами и тканями зависимого растения происходит непосредственное взаимодействие (Голованова, 2003). Данный факт свидетельствует о том, что именно экзометаболиты, выделяемые грибами *Trichoderma asperellum* могут включаться в метаболизм растений и оказывать влияние на биохимические и биофизические процессы, протекающие в растениях, что, в конечном счете, оказывает влияние на продуктивность растений, проявляющуюся в увеличении их биомассы.

Отмечено, что *Trichoderma asperellum* значительно увеличивала накопление белков и углеводов на протяжении всего периода вегетации. Однако эффективность действия *T. asperellum* проявлялась в зависимости от сортоспецифичности растения. Наиболее существенное увеличение общего содержания углеводов и белков было у растений низкоурожайного сорта Тулунская-12. На всех сроках вегетации у растений, семена которых были обработаны спорами гриба *T. asperellum*, содержание общего хлорофилла было больше чем у растений, не подвергавшихся обработке.

Совокупность изученных физиологических параметров: увеличение доли хлорофилла *b*, увеличение вариабельной флуоресценции и преобладание гранальной организации хлоропластов косвенно свидетельствует о более эффективном захвате световой энергии возбуждения открытыми реакционными центрами ФС II у растений, обработанных спорами гриба *Trichoderma asperellum*, по сравнению с контрольными растениями и растениями, обработанными метаболитами *Fusarium sporotrichioides*. Кроме этого, фотосинтетический аппарат растений пшеницы, обработанных грибами *Trichoderma asperellum*, более устойчив к действию высоких температур.

Данные по исследованию кинетических параметров флуоресценции показали, что *Trichoderma asperellum* не оказывала заметного влияния на скорость электронного транспорта. Установлено, что *T. asperellum* способствовала снижению значения нефотохимического компонента тушения, что способствовало накоплению основных метаболитов. Результаты исследований, по выяснению влияния грибов *Trichoderma asperellum* на растения, зараженные *Fusarium sporotrichioides*, показали, что *T. asperellum* снимала ингибирующий эффект данного патогена и значение всех исследуемых параметров были на уровне контрольных или же достоверно превышали их.

ВЫВОДЫ

1. Грибы штамма *Trichoderma asperellum* М 99/5 повышают энергию прорастания и всхожесть семян, положительно влияют на физиолого-морфологические параметры растений пшеницы.
2. В растениях пшеницы, обработанных *T. asperellum*, отмечено увеличение содержания углеводов и белков. Наиболее существенное влияние проявилось на низкоурожайном сорте Тулунская-12.

3. Под действием грибов *Trichoderma asperellum* в листьях растений пшеницы увеличивается общее содержание хлорофиллов, хлорофиллов *a* и *b*, изменяется соотношение их форм в сторону увеличения хлорофилла *b*, при этом отмечается сортоспецифичность действия данных микроорганизмов.

4. У растений, обработанных спорами гриба *T. asperellum*, независимо от условий выращивания, преобладает гранальная организация хлоропластов; эффективность ФС II у данных растений выше; фотосинтетический аппарат растений пшеницы, обработанных грибами *Trichoderma asperellum* более устойчив к нагреванию.

5. Параметры кинетики индукционной кривой флуоресценции изменяются в зависимости от типа микромицетов: *Trichoderma asperellum* не изменяя скорость фотосинтетического электронного транспорта; значения квантового выхода, фотохимического компонента тушения, снижает нефотохимический компонента тушения. *Fusarium sporotrichioides* снижает скорость электронного транспорта; оказывает негативное действие на кинетические параметры флуоресценции хлорофилла. Внесение *T. asperellum* в вариант с *F. sporotrichioides* снимает ингибирующее действие данного патогена.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в периодических изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Голованова Т.И., Долинская Е.В., Сичкарук Е.А. Роль грибов рода *Trichoderma* в повышении урожайности пшеницы и ячменя // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. Красноярск. 2009. Т. 6. С. 53–58.
2. Голованова Т.И., Долинская Е.В., Сичкарук Е.А. Взаимоотношения почвенного гриба *Trichoderma* и яровой пшеницы // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. Красноярск. 2009. Т. 7. С. 102–107.
3. Голованова Т.И., Литовка Ю.А., Долинская Е.В., Сичкарук Е.А. Влияние микромицетов на микробоценоз ризосферы растений пшеницы // Журнал «Иммунопатология». Москва. 2010. Т. 1. С. 96–97.
4. Голованова Т.И., Литовка Ю.А., Долинская Е.В., Сичкарук Е.А., Взаимоотношения пшеницы с микроорганизмами прикорневой зоны растений // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. Красноярск. 2010. Т. 9. С. 90–97.

В других научных изданиях:

5. Голованова Т.И., Долинская Е.В., Сичкарук Е.А. Растения и ассоциативные микроорганизмы // Материалы Второй международной научно–практической конференции «Проблемы биологии, экологии, географии, образования: история и современность». Санкт-Петербург. 2008. С. 113–115.
6. Голованова Т.И., Долинская Е.В., Сичкарук Е.А. О возможности использования микроорганизмов–антагонистов для повышения продуктивности растений // Международная научная конференция «Теоретические и прикладные аспекты биохимии и биотехнологии растений». Сборник научных трудов III Международной научной конференции. Минск, 14–16 мая. 2008. С. 396–398.

7. Долинская Е.В., Сичкарук Е.А., Песегова О.Л. Регуляция ростовых процессов растений под влиянием грибов *Trichoderma* // Материалы докладов XV Всероссийской молодежной научной конференции «Актуальные проблемы биологии и экологии». Сыктывкар. 2008. С. 68–70.
8. Голованова Т.И., Долинская Е.В., Костицына Ю.А. Влияние грибов рода *Trichoderma* на ростовые процессы растений пшеницы / Электронный научный журнал «Исследовано в России» 173 <http://zhurnal.ape.relam.ru/articles/2008/013.pdf>. – С. 173–182.
9. Голованова Т.И., Долинская Е.В. Оценка влияния спор гриба рода триходерма на фотосинтетический аппарат растений // Материалы Международной научной конференции «Проблемы биоэкологии и пути их решения» (II Ржавитинские чтения). Саранск, 15–18 мая. 2008. С. 201–203.
10. Долинская Е.В., Сичкарук Е.А., Валиулина А.Ф. Влияние грибов рода *Trichoderma* на параметры термоиндуцированных изменений флуоресценции хлорофилла // Материалы I международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Фундаментальные и прикладные исследования в биологии». – Донецк, 23–26 февраля. 2009. С. 232–234.
11. Гольд В.М., Голованова Т.И., Долинская Е.В., Гаевский Н.А. Участие *Trichoderma* в повышении урожайности растений семейства Мятликовых // Материалы Международной научно-методической конференции «Методы изучения продукционного процесса растений и фитоценозов». Нальчик, 18–21 июня. 2009. С. 59–61.
12. Долинская Е.В., Сичкарук Е.А., Валиулина А.Ф. Влияние грибов рода *Trichoderma* на растения пшеницы / Молодежь в науке – 2009: прил. к журн. «Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі». В 5 ч. Ч.4. Серия биологических наук, серия медицинских наук / редкол: И.Д. Волотовский [и др.]. – Минск: Белорус. Наука. 2010. С. 71–75.
13. Голованова Т.И., Литовка Ю.А., Долинская Е.В., Валиулина А.Ф., Сичкарук Е.А. Взаимоотношения микромицетов и растений пшеницы // Сборник материалов III Международной научно-практической конференции «Экологическое равновесие и устойчивое развитие территории». Санкт-Петербург, 30–31 марта. 2010. С. 349–352.
14. Голованова Т.И., Долинская Е.В., Валиулина А.Ф. Реакция растений пшеницы на влияние гриба *Trichoderma asperellum* // I Международные Беккеровские чтения. Волгоград, 27–29 мая. 2010. С. 49–50.
15. Голованова Т.И., Литовка Ю.А., Долинская Е.В., Сичкарук Е.А., Участие микроорганизмов в развитии растений // Тезисы докладов Международной конференции «Проблемы экологии» Чтения памяти проф. М. М. Кожова. Иркутск, 20–25 сентября. 2010. С. 130.
16. Долинская Е.В., Валиулина А.Ф. Участие микроорганизмов в регуляции ростовых процессов растений // Материалы V Всероссийской конференции молодых ученых «Стратегия взаимодействия микроорганизмов и растений с окружающей средой». Саратов, 28 сентября-1 октября. 2010. С. 92.
17. Долинская Е.В., Голованова Т.И., Валиулина А.Ф. Использование грибов рода *Trichoderma* в регуляции ростовых процессов растений семейства Мятликовые // Сборник материалов II-ой Международной научно-методологической конференции

- «Роль физиологии и биохимии в интродукции и селекции овощных, плодово-ягодных и лекарственных растений». Москва. 2011. С. 125–127.
18. Голованова Т.И., **Долинская Е.В.**, Валиулина А.Ф. Перспективы использования грибов рода *Trichoderma* для защиты растений от болезней и для повышения их продуктивности // Материалы VII Съезда общества физиологов растений России. Международная конференция «Физиология растений – фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий». Нижний Новгород. 2011. С. 188.
19. Голованова Т.И., Валиулина А.Ф., **Долинская Е.В.**, Сичкарук Е.А. Участие гриба рода *Trichoderma* в регуляции биофизических процессов в растениях пшеницы // Материалы I Международной научно–практической конференции «Ботанические чтения». Ишим, май. 2011. С. 26-27.
20. **Долинская Е.В.** Формирование хлорофиллового аппарата и первичные процессы фотосинтеза растений пшеницы под действием грибов *Trichoderma asperellum* // Материалы II международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Фундаментальные и прикладные исследования в биологии». Донецк, 2011. С. 186.