Optimization of *Trichoderma* spp. industrial cultivation

Glukhova L.B.^{1,2}, Kaposhko D.K.¹, Frank Yu.A.^{1,2}, Ivashenko D.A.², Ivashenko D.A.^{1,2}

¹Laboratory of Industrial Microbiology, Biological Institute, National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia;

²LLC 'Darwin', Tomsk, Russia

E-mail: bio.darwin@mail.com

Key message. The productivity of three *Trichoderma* spp. on different media was compared. The tolerance to salinization and inoculation temperature in the process of solid-state cultivation were determined.

Keywords: *Trichoderma* sp., productivity, growth media, temperature, solid state cultivation

Organic and intensive farming involves applying microorganisms in industrial volumes for crops protection and mineral nutrition of plants. Cultivation of microorganisms including fungi of the genus *Trichoderma*, still has some problems associated with productivity increasing of industrial strains and shelf life of biopesticides. *Trichoderma* spp. are widely used in agriculture for soil improvement and plant protection.

The aim of the research was to investigate dependence of *Trichoderma* spp. sporulation from different media conditions. In this study, *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma virens* were grown on CZ, CYA, CYAS (CYA with 5% NaCl), PDA, MEA. Effect of substrate temperature at the inoculation moment was studied on grain media. Productivity of fungi was determined by counting conidia with Hemocytometer after 5 days cultivation on agar media, and after 14 days cultivation on grains.

The maximal growth rate was observed in *T. virens* culture on MEA and PDA, *T. harzianum* culture on MEA, *T. viride* culture on CYA, 5 days. The maximum spores' number was found in *T. virens* and *T. viride* cultures on MEA reaching $1.2 \cdot 10^9$ spores·ml⁻¹. *T. harzianum* on MEA had yield an order less than other fungi and reached only $7.3 \cdot 10^8$ spores·ml⁻¹.

The tolerance to chloride salinity was observed in *T. viride* but not in *T. harzianum* and *T. virens*. 5% salinity 1.5 times decreased the productivity of *T. viride* from $7.3 \cdot 10^8$ spores·ml⁻¹ in control conditions (CYA) to $5 \cdot 10^8$ spores·ml⁻¹ (CYAS).

Productivity of the fungi during solid state cultivation was studied depending on the degree of grain preparedness, from undercooked to boiled, and the substrate temperature at the moment of inoculation. The sporulation of *Trichoderma* species on grain media revealed no dependence on the degree of grain preparedness. When inoculation was carried out in cooled grain, fungal productivity did not statistically differ. Inoculation in a substrate with temperature about 50 °C led to significant decrease of *T. viride* productivity, but not *T. harzianum* and *T. virens*.

Briefly, *T. virens*, *T. viride* and *T. harzianum* had maximum productivity on MEA. Grain culture medium is suitable for all studied species. *T. viride* is more sensitive to substrate temperature and had higher tolerance to salinity compared to *T. virens* and *T. harzianum*.

Оптимизация условий промышленного культивирования *Trichoderma* sp.

Глухова Л.Б.^{1,2}, Капошко Д.К.¹, Франк Ю.А.^{1,2}, Ивашенко Дан.А.², Ивашенко Ден.А.^{1,2}

¹Лаборатория промышленной микробиологии, Биологический Институт, Томский государственный университет,

Томск, Россия; ²Общество с ограниченной ответственностью «Дарвин», Томск, Россия

Аннотация. Проведено сравнение продуктивности трех видов *Trichoderma* на разных питательных средах, определена устойчивость к засолению, а также к начальной температуре инокуляции при твердофазном культивировании *Trichoderma*.

Ключевые слова: *Trichoderma* sp., продуктивность, питательные среды, температура, твердофазное культивирование

Органическое и интенсивное земледелие подразумевает применение культур микроорганизмов в промышленных объемах для защиты урожая и минерального питания растений. В культивировании микроорганизмов, к которым относятся грибы рода *Trichoderma*, до сих пор остаются некоторые проблемы, связанные с повышением продуктивности промышленных штаммов и продолжительностью хранения биопрепаратов. Грибы рода *Trichoderma* широко используются в сельском хозяйстве для улучшения здоровья почвенной микрофлоры и оздоровления растений.

Для решения проблемы, связанной с продуктивностью, было решено изучить влияние разных питательных сред на спороношение промышленных штаммов *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* и *Trichoderma virens*. Работу проводили на стандартных агаризованных средах CZ, CYA, CYAS (CYA с 5% NaCl), PDA, MEA. Изучение влияния температуры субстрата в момент инокуляции на продуктивность проводили на зерновой среде. Продуктивность культур определяли, подсчитывая количество спор в камере Горяева на 5 сутки для питательных сред, и на 14 сутки для зерновой среды.

Наиболее активный рост наблюдался у *T. virens* на питательных средах MEA и PDA, *T. harzianum* - на MEA, *T. viride* - на CYA, 5 сутки роста. Максимальное количество спор было отмечено у *T. virens* и *T. viride* на MEA и составило $1.2 \cdot 10^9$ спор/мл. При этом промышленный штамм *T. harzianum* на MEA давал на порядок меньше спор (в среднем $7.3 \cdot 10^8$ спор/мл).

Устойчивость к хлоридному засолению была отмечена у *T. viride*, со снижением продуктивности в 1.5 раза, с $7.3 \cdot 10^8$ спор/мл в контроле (CYA) до $5 \cdot 10^8$ спор/мл (CYAS). *T. harzianum* и *T. virens* были не устойчивы к данному типу засоления.

Продуктивность исследуемых микромицетов при твердофазном культивировании изучалась в зависимости от степени готовности зерна, от недоваренного до разваренного, и температуры субстрата при инокуляции. Продуктивность изученных штаммов *Trichoderma* на зерновой среде, не выявила зависимости от степени готовности зерна. Количество спор, при посеве в остывшее до комнатной температуры зерно, статистически не различалось. Инокуляция в зерновую среду температурой 50 °C приводила к достоверному снижению количества спор только у *T. viride*.

Таким образом, *T. virens*, *T. viride* и *T. harzianum* обладали продуктивностью на среде MEA. Зерновая питательная среда подходит для всех исследованных штаммов. *T. viride* является более чувствительным к температуре субстрата, а также устойчивым к засолению, в отличие от *T. virens* и *T. harzianum*.