

УДК 632.937:632.4:633.853.493

## УСЛОВИЯ И СРОКИ ХРАНЕНИЯ РАЗНЫХ ПРЕПАРАТИВНЫХ ФОРМ МИКРОБИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ШТАММОВ-АНТАГОНИСТОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ БЕЛОЙ ГНИЛИ

Л.В. Маслиенко,  
доктор биологических наук

ФГБНУ ВНИИМК  
Россия, 350038, г. Краснодар, ул. им. Филатова, д. 17  
Тел.: (861) 275-85-19  
E-mail: [biometod@yandex.ru](mailto:biometod@yandex.ru)

*Для цитирования:* Маслиенко Л.В. Условия и сроки хранения разных препаративных форм микробиопрепаратов на основе перспективных штаммов-антагонистов возбудителя белой гнили// Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2015. – Вып. 4 (164). – С. 74–80.

**Ключевые слова:** белая гниль, рапс, штаммы-антагонисты, микробиопрепараты, препаративные формы.

В результате ступенчатого скрининга из коллекции лаборатории биометода ВНИИМК отобраны штаммы, активно разлагающие склероции белой гнили рапса и обладающие ростостимулирующей активностью к культуре рапса, – Xk-1-4 *Chaetomium olivaceum* и B-12 *Bacillus licheniformis*. В целях разработки элементов технологического регламента производства микробиопрепаратов на основе этих штаммов определяли условия и сроки хранения препаративных форм жидкая культура и порошок в двух модификациях. Установлено, что жидкую культуру микробиопрепарата на основе штамма гриба Xk-1-4 *Chaetomium olivaceum* можно сохранить с титром на уровне  $1,0\text{--}9,0 \times 10^6$  КОЕ/мл в течение двух месяцев как в условиях холодильника, так и в условиях переменной температуры с добавкой 0,1 % аскорбиновой кислоты, 5,0 % ПВП и 10,0 % гумата натрия. Лучшей препаративной формой для микробиопрепарата на основе штамма гриба Xk-1-4 *Chaetomium olivaceum* установлен порошок на перлите, полученный смывом спор с твердой питательной среды с последующим смешиванием с наполнителем, сохраняющий

титр при переменной температуре на уровне  $10^7$  КОЕ/мл в течение девяти месяцев. В отличие от грибного препарата, жидкую культуру микробиопрепарата на основе бактерии B-12 *Bacillus licheniformis* можно хранить в условиях переменной температуры в течение шести месяцев с сохранением титра на уровне  $10^{10}$  КОЕ/мл с добавкой 1,0 % ПВП или 10,0 % гумата натрия, или 5,0 % глицерина. В препаративной форме порошок на перлите титр бактериального препарата сохранялся на уровне  $10^{10}$  КОЕ/г в условиях переменной температуры в течение девяти месяцев.

UDC 632.937:632.4:633.853.493

### Conditions and periods of storage of the different preparation forms of microbiopreparations based on perspective strain-antagonists of a white rot pathogen.

Maslienko L.V., doctor of biology

FGBNU VNIIMK  
17, Filatovastr., Krasnodar, 350038, Russia  
Tel.: (861) 275-85-19  
[biometod@yandex.ru](mailto:biometod@yandex.ru)

**Key words:** white rot, rapeseed, strains-antagonists, microbiopreparations, preparation forms.

Xk-1-4 *Chaetomium olivaceum* and B-12 *Bacillus licheniformis* – the strains actively decomposing sclerotia of a white rot on rapeseed and possessing a growth stimulating activity to a rapeseeds – were selected by graded screening from a collection of the laboratory of biological methods of VNIIMK. Conditions and periods of storage of preparation forms liquid culture and powder in two modifications were determined to develop elements of the technological regulations for production of microbiopreparations on a base of these strains. A liquid culture based on a strain of a fungus Xk-1-4 *Chaetomium olivaceum* can be kept with a titer on a level  $1.0\text{--}9.0 \times 10^6$  KFU/ml within two months both in fridge and at variable temperature adding 0.1% ascorbic acid, 5.0% PVP and 10.0% sodium humate. The best preparation form for a microbiopreparation based on a strain of a fungus Xk-1-4 *Chaetomium olivaceum* is a powder on perlite, developed by spore washout from a hard nutrient medium, further mixed with filler, keeping a titer at variable temperature on a level  $10^7$  KFU/ml within nine months. Compared to a fungus preparation, a liquid culture of microbiopreparation based on B-12 *Bacillus licheniformis* can be kept at variable temperature during six months with a titer holding the level of  $10^{10}$  KFU/ml adding 1.0% PVP or 10.0% sodium humate or 5.0 % glycerin. When using preparation

from powder on perlitetiter of the preparation have been kept on the level  $10^{10}$  KFU/gat variable temperature within nine months.

**Введение.** Особую опасность для многих сельскохозяйственных растений, в т.ч. и масличных культур (подсолнечника, сои и рапса), представляет белая гниль *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) DeBary. В регионе Северного Кавказа белая гниль особенно вредоносна в последние годы на озимом рапсе. Вредоносность болезни выражается в преждевременном усыхании растений, снижении урожая и ухудшении его качества.

В мире достаточно активно ведутся исследования с целью снижения вредоносности белой гнили на многих сельскохозяйственных культурах с использованием штаммов микробов-антагонистов [1–10], однако микробиопрепаратов на основе активных штаммов явно недостаточно.

В лаборатории биометода ВНИИМК создана уникальная коллекция перспективных штаммов-продуцентов микробиопрепаратов, включающая штаммы грибов, относящихся к родам *Penicillium*, *Chaetomium*, *Trichoderma*, *Sordaria*, *Gliocladium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Talaromyces*, и штаммы бактерий, относящихся к родам *Bacillus* и *Pseudomonas*, – антагонистов многих заболеваний масличных и других сельскохозяйственных культур [11]. В результате ступенчатого скрининга из коллекции отобраны штаммы, активно разлагающие склероции белой гнили рапса и обладающие ростостимулирующей активностью к культуре рапса, – Xk-1-4 *Chaetomium olivaceum* и Б-12 *Bacillus licheniformis* [12].

В целях разработки элементов технологического регламента производства микробиопрепаратов на основе отобранных штаммов определяли условия и сроки хранения разных препаративных форм.

**Материалы и методы.** Исследования проводили на центральной экспериментальной базе, в лаборатории биометода ВНИИМК.

Опытные образцы разных препаративных форм микробиопрепаратов на основе перспективных штаммов-антагонистов изготавливали в лаборатории биометода ВНИИМК. Испытывали препаративные формы: жидкая культура (ЖК) – при глубинном культивировании штаммов на искусственных питательных средах и порошок (П) в двух модификациях: при глубинном культивировании штаммов на жидкой питательной среде с последующим смешиванием отцентрифугированной жидкой культуры с наполнителем перлит в соотношении 1:0,4 и 1:0,8 и при поверхностном культивировании штамма на твердой питательной среде с последующим смывом спор и смешиванием суспензии с наполнителем перлит (для штамма Xk-1-4 *Chaetomium olivaceum*). Для увеличения срока хранения препаративной формы ЖК испытывали стабилизаторы и питательные добавки: поливинилпироллидон (ПВП), гуamat натрия, аскорбиновую кислоту, глицерин, хлористый магний, сульфат магния. Опытные образцы микробиопрепаратов хранили в холодильнике при температуре 10 °С и в условиях переменной температуры (18–25 °С) в лаборатории.

Титр во всех опытах определяли методом Коха [13]. Определение числа колониобразующих единиц (КОЕ) в 1,0 мл или 1 г включает три этапа: приготовление разведений, посев на питательную среду в чашки Петри (ЧП) и подсчет выросших колоний. Для этого 1,0 мл ЖК или 1 г порошка стерильной пипеткой или шпателем переносили в колбу с 99,0 мл стерильной воды и ставили на качалку на 10–15 мин. Из полученной суспензии готовили разведение от 1 : 10 до 1 : 1000000000. Суспензию из соответствующего разведения закапывали по 1,0 мл в три чашки Петри (ЧП). Затем заливали в чашки по 15,0–20,0 мл агаризированной среды, остуженной до 45–50 °С, и смешивали питательную среду с посевным материалом легкими вращательными дви-

жениями. ЧП ставили в термостат с оптимальной температурой и через 5–7 дней считали среднее число колоний в трёх ЧП.

Титр вычисляли по формуле:

$$T = a \times 10n / V,$$

где T – количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1,0 мл/г;

a – среднее число колоний, выросших после посева из данного разведения;

V – объем суспензии, взятый для посева;

10n – коэффициент разведения.

**Результаты и обсуждение.** Условия и сроки хранения микробиопрепарата на основе штамма гриба Xk-1-4 *Chaetomium olivaceum* в различных препаративных формах.

Препаративная форма ЖК, полученная при глубинном культивировании штамма гриба Xk-1-4 *Chaetomium olivaceum*, имела титр  $1,0\text{--}2,0 \times 10^7$  КОЕ/мл и была технологична в применении. К сожалению, эта препаративная форма быстро теряла титр как в условиях холодильника (табл. 1), так и в условиях переменной температуры (табл. 2).

Таблица 1

**Влияние стабилизаторов и сроков хранения микробиопрепарата на титр препаративной формы жидкая культура (глубинное культивирование штамма гриба Xk-1-4 *Chaetomium olivaceum*) при температуре 10 °C**

г. Краснодар, 2012 г.

Стабилизатор, %	Титр, КОЕ/мл		
	перед закладкой на хранение	через месяц	через два месяца
Контроль без стабилизатора	$1,2 \times 10^7$	$1,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^5$
ПВП	1,0	-/- *	$1,2 \times 10^6$
	3,0	-/-	$1,0 \times 10^6$
	5,0	-/-	$3,5 \times 10^6$
Гумат натрия	5,0	-/-	$3,0 \times 10^6$
	10,0	-/-	$3,0 \times 10^6$
	20,0	-/-	$1,8 \times 10^6$
	50,0	-/-	$1,8 \times 10^6$
	50,0	-/-	$3,9 \times 10^5$
Аскорбиновая кислота	0,1	-/-	$1,0 \times 10^7$
	0,25	-/-	$5,6 \times 10^6$
Глицерин	5,0	-/-	$3,0 \times 10^6$
	10,0	-/-	$3,5 \times 10^6$
Хлористый магний	5,0	-/-	$2,0 \times 10^6$
	10,0	-/-	$2,8 \times 10^6$
Сульфат магния	5,0	-/-	$3,0 \times 10^6$
	10,0	-/-	$3,5 \times 10^6$

\* здесь и далее титр аналогичен контрольному без стабилизатора

Таблица 2

**Влияние стабилизаторов и сроков хранения микробиопрепарата на титр препаративной формы жидкая культура (глубинное культивирование штамма гриба Xk-1-4 *Chaetomium olivaceum*) при температуре 18–25 °C**

г. Краснодар, 2012 г.

Стабилизатор, %	Титр, КОЕ/мл		
	перед закладкой на хранение	через месяц	через два месяца
Контроль без стабилизатора	$1,2 \times 10^7$	$1,0 \times 10^6$	$3,0 \times 10^5$
ПВП	1,0	-/- *	$1,5 \times 10^6$
	3,0	-/-	$8,0 \times 10^5$
	5,0	-/-	$8,6 \times 10^5$
Гумат натрия	5,0	-/-	$1,0 \times 10^6$
	10,0	-/-	$3,0 \times 10^6$
	20,0	-/-	$7,0 \times 10^6$
	50,0	-/-	$3,0 \times 10^6$
	50,0	-/-	$3,9 \times 10^5$
Аскорбиновая кислота	0,1	-/-	$1,5 \times 10^7$
	0,25	-/-	$4,0 \times 10^6$
Глицерин	5,0	-/-	$3,0 \times 10^6$
	10,0	-/-	$3,8 \times 10^6$
Хлористый магний	5,0	-/-	$1,8 \times 10^6$
	10,0	-/-	$2,0 \times 10^6$
Сульфат магния	5,0	-/-	$2,0 \times 10^6$
	10,0	-/-	$1,8 \times 10^6$

\* здесь и далее титр аналогичен контрольному без стабилизатора

Через два месяца хранения титр препарата в контроле, как в холодильнике, так и в условиях переменной температуры, снизился на два порядка ( $1,2 \times 10^7$  –  $4,0 \times 10^5$  КОЕ/мл). Лучшими добавками установлены 0,1 % аскорбиновая кислота, 5,0 % ПВП и 10,0 % гумат натрия. В этих вариантах титр снизился на один порядок и составил  $1,0\text{--}9,0 \times 10^6$  КОЕ/мл.

Микробиопрепарат в препаративной форме порошок на перлите хранился в условиях переменной температуры лучше жидкой культуры (табл.3).

Установлено, что в течение первого месяца хранения титр препарата для всех его модификаций, в зависимости от количества наполнителя и условий культивирования штамма, даже незначительно увеличивался. В дальнейшем, при хранении препарата в течение девяти месяцев, титр оставался с тем же порядком, что и перед закладкой на хранение. При этом титр препарата, полученного при выра-

щивании на твёрдой питательной среде с последующим смывом спор и смешиванием суспензии с перлитом, был на порядок выше, чем у препарата, полученного при глубинном культивировании штамма с последующим смешиванием с наполнителем.

Таблица 3

**Влияние срока хранения микробиопрепарата на основе штамма гриба Хк-1-4 *Chaetomium olivaceum* в препаративной форме порошков на титр в условиях переменной температуры**

г. Краснодар, 2012 г.

Вариант	Титр, КОЕ/г, при температуре 18–25 °С					
		перед закладкой на хранение	через, месяцев			
			1	3	6	9
Суспензия + перлит	1:0,8	$8,7 \times 10^6$	$2,0 \times 10^7$	$8,5 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$
	1:0,4	$5,7 \times 10^7$	$1,0 \times 10^8$	$2,8 \times 10^7$	$1,8 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$
Глубинная культура + перлит	1:0,8	$3,0 \times 10^6$	$3,6 \times 10^6$	$3,0 \times 10^6$	$8,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$
	1:0,4	$6,6 \times 10^6$	$7,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$8,5 \times 10^5$

Таким образом, наиболее перспективной препаративной формой микробиопрепарата на основе штамма гриба Хк-1-4 *Chaetomium olivaceum*, технологичной при производстве, долго сохраняющей титр при переменной температуре, можно считать порошок на перлите, полученный смывом спор с твёрдой питательной среды с последующим смешиванием с наполнителем.

Условия и сроки хранения микробиопрепарата на основе штамма бактерии Б-12 *Bacillus licheniformis* в различных препаративных формах.

Титр ЖК микробиопрепарата, получаемого при глубинном культивировании штамма бактерии Б-12 *Bacillus licheniformis*, был  $1,0–2,0 \times 10^{12}$  КОЕ/мл. Препаративная форма жидкая культура была технологична при применении, но также хранилась без изменения титра как в условиях холодильника, так и в услови-

ях переменной температуры в течение месяца.

Для увеличения срока хранения препаративной формы ЖК нами испытывались стабилизаторы и питательные добавки. Биопрепарат хранили в холодильнике при температуре 10 °С (табл. 4) и в условиях переменной температуры (18–25 °С) в лаборатории (табл. 5).

Таблица 4

**Влияние стабилизаторов и сроков хранения на титр микробиопрепарата на основе штамма бактерии Б-12 *Bacillus licheniformis* в препаративной форме жидкая культура (глубинное культивирование) при температуре 10 °С**

г. Краснодар, 2012 г.

Стабилизатор, %	Титр, КОЕ/мл				
	перед закладкой на хранение	через, месяцев			
		1	3	6	
Контроль без стабилизатора	$1,9 \times 10^{12}$	$2,0 \times 10^{12}$	$2,1 \times 10^{11}$	$7,0 \times 10^9$	
ПВП	1,0	-/-*	$2,3 \times 10^{12}$	$1,3 \times 10^{11}$	$1,2 \times 10^{10}$
	3,0	-/-	$1,1 \times 10^{12}$	$3,2 \times 10^{11}$	$8,3 \times 10^{10}$
	5,0	-/-	$2,5 \times 10^{12}$	$1,6 \times 10^{11}$	$1,1 \times 10^{10}$
Гумат натрия	5,0	-/-	$2,5 \times 10^{12}$	$2,1 \times 10^{11}$	$1,8 \times 10^{10}$
	10,0	-/-	$4,3 \times 10^{12}$	$3,0 \times 10^{11}$	$2,1 \times 10^{10}$
	20,0	-/-	$9,5 \times 10^{12}$	$2,1 \times 10^{11}$	$3,7 \times 10^{10}$
	50,0	-/-	$2,5 \times 10^{12}$	$1,8 \times 10^{11}$	$1,3 \times 10^{10}$
Аскорбиновая кислота	0,1	-/-	$2,6 \times 10^{12}$	$5,0 \times 10^{11}$	$9,3 \times 10^9$
	0,25	-/-	$2,6 \times 10^{12}$	$1,6 \times 10^{11}$	$2,2 \times 10^{10}$
Глицерин	5,0	-/-	$6,0 \times 10^{11}$	$2,6 \times 10^{11}$	$1,4 \times 10^{10}$
	10,0	-/-	$2,0 \times 10^{11}$	$2,4 \times 10^{11}$	$2,3 \times 10^{10}$
Хлористый магний	5,0	-/-	$1,0 \times 10^{11}$	$2,3 \times 10^{11}$	$2,3 \times 10^{10}$
	10,0	-/-	$2,0 \times 10^{11}$	$2,5 \times 10^{11}$	$2,3 \times 10^{10}$
Сульфат магния	5,0	-/-	$5,0 \times 10^{11}$	$3,5 \times 10^{11}$	$1,3 \times 10^{10}$
	10,0	-/-	$9,0 \times 10^{11}$	$3,3 \times 10^{11}$	$1,4 \times 10^{10}$

\* здесь и далее титр аналогичен контрольному без стабилизатора

Установлено, что через месяц хранения ЖК в холодильнике титр в контроле не изменился, а в вариантах с 10,0 и 20,0 % гуматом натрия даже повысился ( $4,3 \times 10^{12}$  КОЕ/мл и  $9,5 \times 10^{12}$  КОЕ/мл против  $2,0 \times 10^{12}$  КОЕ/мл в контроле).

Через три месяца хранения в условиях холодильника титр снизился как в контроле, так и во всех вариантах на один порядок. Лучшим вариантом отмечена

добавка 0,1 % аскорбиновой кислоты, титр составил  $5,0 \times 10^{11}$  КОЕ/мл против  $2,1 \times 10^{11}$  КОЕ/мл в контроле.

Через шесть месяцев хранения ЖК в условиях холодильника титр препарата в контроле снизился на три порядка и составил  $7,0 \times 10^9$  КОЕ/мл. Во всех вариантах с добавками титр был выше контроля на порядок и лучшими добавками установлены 20,0 % гумат натрия и 3,0 % ПВП – титр составил  $3,7-8,3 \times 10^{10}$  КОЕ/мл.

При хранении ЖК микробиопрепарата на основе бактерии Б-12 *Bacillus licheniformis* в условиях переменной температуры лаборатории в течение месяца титр в контроле незначительно снизился, но остался на уровне  $10^{12}$  КОЕ/мл (табл. 5).

Таблица 5

**Влияние стабилизаторов и сроков хранения на титр микробиопрепарата на основе штамма бактерии Б-12 *Bacillus licheniformis* в препаративной форме жидкая культура (глубинное культивирование) при температуре 18–25°С**

г. Краснодар, 2012 г.

Стабилизатор, %	Титр, КОЕ/мл				
		перед закладкой на хранение	через, месяцев		
			1	3	6
Контроль безстабилизатора		$1,9 \times 10^{12}$	$1,0 \times 10^{12}$	$2,3 \times 10^{11}$	$6,3 \times 10^9$
ПВП	1,0	-/-	$7,6 \times 10^{12}$	$1,3 \times 10^{11}$	$3,9 \times 10^{10}$
	3,0	-/-	$1,1 \times 10^{12}$	$1,2 \times 10^{11}$	$3,9 \times 10^{10}$
	5,0	-/-	$1,5 \times 10^{12}$	$1,7 \times 10^{11}$	$3,4 \times 10^{10}$
Гумат-натрия	5,0	-/-	$1,7 \times 10^{12}$	$1,5 \times 10^{11}$	$1,4 \times 10^{10}$
	10,0	-/-	$8,1 \times 10^{12}$	$9,7 \times 10^{11}$	$3,1 \times 10^{10}$
	20,0	-/-	$6,4 \times 10^{12}$	$2,2 \times 10^{11}$	$1,1 \times 10^{10}$
	50,0	-/-	$2,0 \times 10^{12}$	$5,2 \times 10^{11}$	$5,0 \times 10^{10}$
Аскорбиновая-кислота	0,1	-/-	$1,0 \times 10^{12}$	$1,0 \times 10^{11}$	$2,9 \times 10^{10}$
	0,25	-/-	$5,1 \times 10^{12}$	$5,0 \times 10^{11}$	$2,5 \times 10^{10}$
Глицерин	5,0	-/-	$3,0 \times 10^{12}$	$5,1 \times 10^{11}$	$3,5 \times 10^{10}$
	10,0	-/-	$2,3 \times 10^{11}$	$3,5 \times 10^{11}$	$3,1 \times 10^{10}$
Хлористыймагний	5,0	-/-	$2,5 \times 10^{11}$	$3,3 \times 10^{11}$	$1,3 \times 10^{10}$
	10,0	-/-	$1,0 \times 10^{11}$	$4,0 \times 10^{11}$	$2,0 \times 10^{10}$
Сульфат-магния	5,0	-/-	$7,0 \times 10^{11}$	$6,7 \times 10^{11}$	$1,7 \times 10^{10}$
	10,0	-/-	$9,8 \times 10^{11}$	$6,8 \times 10^{11}$	$1,5 \times 10^{10}$

\* здесь и далее титр аналогичен контрольному без стабилизатора

В вариантах с 1,0 % ПВП, 10,0 и 20,0 % гуматом натрия и 0,25 % аскорбиновой

кислотой титр ЖК даже повысился и составил  $5,1-8,1 \times 10^{12}$  КОЕ/мл против  $1,0 \times 10^{12}$  КОЕ/мл в контроле.

Через три месяца хранения в условиях переменной температуры титр препарата в контроле снизился на порядок и составил  $2,3 \times 10^{11}$  КОЕ/мл. Лучшим вариантом установлен 10,0 % гумат натрия, титр составил  $9,7 \times 10^{11}$  КОЕ/мл.

Через шесть месяцев хранения ЖК препарата в условиях переменной температуры титр в контроле снизился на три порядка и составил  $6,3 \times 10^9$  КОЕ/мл. Во всех вариантах с добавками титр был выше контроля на порядок, но лучшими определены 50,0 и 10,0 % гумат натрия, 1,0; 3,0 и 5,0 % ПВП, а также 5,0 и 10,0 % глицерин, где титр составил  $3,1-5,0 \times 10^{10}$  КОЕ/мл.

Таким образом, установлено, что ЖК микробиопрепарата на основе бактерии Б-12 *Bacillus licheniformis* можно хранить в условиях переменной температуры в течение шести месяцев с сохранением титра на уровне  $10^{10}$  КОЕ/мл с добавкой 1,0 % ПВП или 10,0 % гумата натрия, или 5,0 % глицерина.

С целью увеличения срока хранения и возможности наработки микробиопрепарата на основе штамма бактерии Б-12 *Bacillus licheniformis* в заводских условиях нами отработывалась препаративная форма порошок с добавлением перлита (табл. 6).

Таблица 6

**Влияние срока хранения микробиопрепарата на основе штамма бактерии Б-12 *Bacillus licheniformis* в препаративной форме порошок на перлите на титр при температуре 18–25°С**

г. Краснодар, 2012 г.

Срок хранения, месяц	Титр, КОЕ/г
Перед закладкой на хранение	$1,1 \times 10^{11}$
1	$2,9 \times 10^{11}$
2	$1,8 \times 10^{11}$
3	$3,7 \times 10^{11}$
4	$1,6 \times 10^{10}$
5	$1,3 \times 10^{10}$
6	$1,0 \times 10^{10}$
9	$1,0 \times 10^{10}$

Установлено, что в течение первых трех месяцев хранения препаративной формы порошок на перлите в условиях переменной температуры в лаборатории титр не изменялся ( $1,1-2,9 \times 10^{11}$  КОЕ/г). В дальнейшем, при хранении препарата в течение шести месяцев, происходило снижение титра, но он оставался высоким и составлял  $1,0 \times 10^{10}$  КОЕ/г.

Таким образом, наиболее технологичными препаративными формами микробиопрепарата на основе штамма бактерии Б-12 *Bacillus licheniformis* при производстве и хранении можно считать жидкую культуру при глубинном культивировании с добавкой ПВП или гумата натрия, или глицерина, а также порошок на перлите.

**Выводы.** 1. Для перспективных штаммов-антагонистов Хк-1-4 *Chaetomium olivaceum* и Б-12 *Bacillus licheniformis* разработаны препаративные формы микробиопрепаратов жидкая культура и порошок в двух модификациях.

2. Жидкую культуру микробиопрепарата на основе штамма гриба Хк-1-4 *Chaetomium olivaceum* можно сохранить с титром на уровне  $1,0-9,0 \times 10^6$  КОЕ/мл в течение двух месяцев как в условиях холодильника, так и в условиях переменной температуры с добавкой 0,1 % аскорбиновой кислоты, 5,0 % ПВП и 10,0 % гумата натрия.

3. Лучшей препаративной формой для микробиопрепарата на основе штамма гриба Хк-1-4 *Chaetomium olivaceum* установлен порошок на перлите, полученный смывом спор с твердой питательной среды с последующим смешиванием с наполнителем, сохраняющий титр при переменной температуре на уровне  $10^7$  КОЕ/мл в течение девяти месяцев.

4. В отличие от грибного препарата, жидкую культуру микробиопрепарата на основе бактерии Б-12 *Bacillus licheniformis* можно хранить в условиях переменной температуры в течение шести месяцев с сохранением титра

на уровне  $10^{10}$  КОЕ/мл с добавкой 1,0 % ПВП или 10,0 % гумата натрия, или 5,0 % глицерина.

5. В препаративной форме порошок на перлите титр бактериального препарата сохранялся на уровне  $10^{10}$  КОЕ/г в условиях переменной температуры в течение девяти месяцев.

*Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ, грант 11-08-96512.*

#### Список литературы

1. Huang H.C. Distribution of *Coniothyrium minitans* in Manitoba sunflower fields // Canada I. Plant Pathol. – 1981. – No 4. – С. 219–222.
2. Бондаренко А.И., Штейнберг М.Е. Микофлора склероциев белой гнили подсолнечника и её гиперпаразитическая активность // Биологическая регуляция численности вредных организмов. – М., 1986. – С.122–133.
3. Богданова В.Н., Крутова Н.П. Применение гиперпаразита *Coniothyrium minitans* против белой гнили подсолнечника // Бюллетень ВНИИ защиты растений. – СПб., 1988. – 70. – С. 7–11.
4. Тихонов О.И., Маслиенко Л.В. Влияние грибов-антагонистов на выживаемость склероциев белой гнили в почве // Болезни подсолнечника. – Краснодар, 1988. – С. 15–18.
5. Анципе А.Ф., Швинка Ю.Э., Стрикауска С.В., Виестурс У.Э., Лисовска А.Я., Бичевский Е.Я., Свока И.М., Беника Р.Г. Использование триходермина для защиты растений от фитопатогенных микромицетов // Вестник с.-х. науки. – 1989. – №9 (397). – С. 114–118.
6. Maslienko L.V. Biologicheskiiy metod zashchity podsolnechnika i drugikh sel'skokhozyaystvennykh kul'tur ot bolezney // AgroKhKhI. – 1999. – № 8. – S. 8–9.
7. Soyong K., Kanokmedhakul S., Kukongviriyapa V. [et al.]. Application of *Chaetomium* sp. (*Ketomium*) as a new broad spectrum biological fungicide for plant disease control: A review article // Fungal Diversity. – 2001. – No 7. – P. 1–15.

8. Коломбет Л.В. Грибы рода *Trichoderma* как продуценты биофунгицидов: прошлое, настоящее, будущее // Мат. первого съезда микологов «Современная микология в России». – М., 2002. – С. 229.

9. Shternshis M., Tomilova O., Shpatova T., Maslienko L., Soyong K. Biological Fungicides Based on Chaetomium for Plant Protection // Int. Conf. on Integration of Science and Technology for Sustainable Development, Bangkok, Thailand, 2007. – P. 304–307.

10. Маслиенко Л.В. Перспективные микробиопрепараты полифункционального типа действия для защиты масличных и других сельскохозяйственных культур от болезней // Мат. VII Междунар. науч. конф. «Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии». – Минск, 2010. – С. 491–493.

11. Маслиенко Л.В. Лаборатория биологических средств защиты растений (вчера, сегодня, завтра) // История научных исследований во ВНИИМК за 90 лет. – Краснодар, 2003. – С. 273–281.

12. Маслиенко Л.В., Курилова Д.А., Шипиевская Е.Ю. Скрининг штаммов-антагонистов возбудителя белой гнили рапса // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2012. – Вып. 2 (151–152). – С. 183–191.

13. Нетрусов Ф.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. [и др.]. Практикум по микробиологии. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.

#### References

1. Huang H.C. Distribution of *Coniothyrium minitans* in Manitoba sunflower fields // Canada I. Plant Pathol. – 1981. – No 4. – P. 219–222.

2. Bondarenko A.I., Shteynberg M.E. Mikoflorasklerotsievbeloygnili podsolnechnika i ee giperparaziticheskaya aktivnost' // Biologicheskaya regulyatsiya chislennosti vrednykh organizmov. – M., 1986. – S.122–133.

3. Bogdanova V.N., Krutova N.P. Primenenie giperparazita *Coniothyrium minitans* protiv beloy gnili podsolnechnika // Byulleten' VNI zashchity rasteniy. – SPb., 1988. – 70. – S. 7–11.

4. Tikhonov O.I., Maslienko L.V. Vliyanie gribov-antagonistov na vyzhivaemost'

sklerotsiev beloy gnili v pochve // Bolezni podsolnechnika. – Krasnodar, 1988. – S. 15–18.

5. Apsite A.F., Shvinka Yu.E., Strikauska S.V., Viesturs U.E., Lisovska A. Ya., Bichevskis E.Ya., Svoka I.M., Benika R.G. Ispol'zovanie trikhodermina dlya zashchity rasteniy ot fitopatogennykh mikromitsetov // Vestnik s.-kh. nauki. – 1989. – № 9 (397). – S. 114–118.

6. Maslienko L.V. Biologicheskiiy metod zashchity podsolnechnika i drugikh sel'skokhozyaystvennykh kul'tur ot bolezney // Agro KhKhI. – 1999. – № 8. – S. 8–9.

7. Soyong K., Kanokmedhakul S., Kukongviriyapa V. [et al.]. Application of *Chaetomium* sp. (*Ketomium*) as a new broad spectrum biological fungicide for plant disease control: A review article // Fungal Diversity. – 2001. – No 7. – P. 1–15.

8. Kolombet L.V. Griby roda *Trichoderma* kak produtsenty biofungitsidov: proshloe, nastoyashchee, budushchee // Mat. pervogo s"ezda mikologov «Sovremennaya mikologiya v Rossii». – M., 2002. – S. 229.

9. Shternshis M., Tomilova O., Shpatova T., Maslienko L., Soyong K. Biological Fungicides Based on Chaetomium for Plant Protection // Int. Conf. on Integration of Science and Technology for Sustainable Development, Bangkok, Thailand, 2007. – P. 304–307.

10. Maslienko L.V. Perspektivnye mikrobiopreparaty polifunksional'nogo tipa deystviya dlya zashchity maslichnykh i drugikh sel'skokhozyaystvennykh kul'tur ot bolezney // Мат. VII Mezhd. науч. конф. «Sovremennoe sostoyanie i perspektivy razvitiya mikrobiologii i biotekhnologii». – Minsk, 2010. – S. 491–493.

11. Maslienko L.V. Laboratoriya biologicheskikh sredstv zashchity rasteniy (vchera, segodnya, zavtra) // Istoriya nauchnykh issledovaniy vo VNIIMKe za 90 let. – Krasnodar, 2003. – S. 273–281.

12. Maslienko L.V., Kurilova D.A., Shipievskaya E.Yu. Skrining shtammov-antagonistov vozбудitelya beloy gnili rapsa // Maslichnyekul'tury. Nauch.-tekh. byul. VNIIMK. – 2012. – Vyp. 2 (151–152). – S. 183–191.

13. Нетрусов Ф.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. [и др.]. Практикум по микробиологии. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.