

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И ПРОДО-
ВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ «ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУ-
ДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

А.В.СВИРИДОВ, Э.И.КОЛОМИЕЦ

**БАКТЕРИИ-АНТАГОНИСТЫ В ЗАЩИТЕ САХАРНОЙ
СВЕКЛЫ ОТ КАГАТНОЙ ГНИЛИ**

Монография

Гродно 2012

УДК 633.63:632[4+937](083.13)

Свиридов А.В., Коломиец Э.И. Бактерии-антагонисты в защите сахарной свеклы от кагатной гнили: монография / Свиридов А.В., Коломиец Э.И. – Гродно : ГГАУ, 2012. - 187 с.

В монографии представлен обзор литературы по защите корнеплодов сахарной свеклы от кагатной гнили в период хранения. Приведены результаты исследований по видовому составу патогенов, вызывающих кагатную гниль, описана методика определения вредоносности гнили. Охарактеризованы физиолого-биохимические особенности штамма бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д с высокой антагонистической активностью к возбудителям кагатной гнили, описана технология получения и применения биопестицида Бетапротектин на его основе. Разработаны машины для обработки корнеплодов сахарной свеклы биопрепаратом во время уборки и закладки на хранение. Оценена биологическая и хозяйственная эффективность биопестицида Бетапротектин в производственных условиях.

Книга предназначена для научных работников, преподавателей, аспирантов и студентов высших биологических и сельскохозяйственных учебных заведений, руководителей и специалистов СПК, фермерских хозяйств, а так же для специалистов, занимающихся хранением корнеплодов сахарной свеклы.

Рекомендовано научно-техническим советом УО «Гродненский государственный аграрный университет»

Рецензенты: д.б.н., проф. Л.И.Трепашко
к.с-х н. доцент Н.А.Лукьянюк

ISBN

© Свиридов А.В., Коломиец Э.И., 2012
© УО «Гродненский государственный
аграрный университет»

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- МПБ - мясопептонный бульон
- МПА - мясопептонный агар
- МСА - мясо-сусловый агар
- БХ - бульон Хоттингера
- БХА - бульон Хоттингера агаризованный
- КГА - картофельно-глюкозный агар
- КДА - картофельно-декстрозный агар
- КЖ - культуральная жидкость
- КОЕ - колониобразующие единицы
- ОПР - опытно-промышленный регламент
- ОПП - опытно-промышленная партия
- ТУ - технические условия

Содержание

| | | |
|-----|--|-----|
| | ВВЕДЕНИЕ | 6 |
| 1 | Обзор литературы | 8 |
| 2 | Распространенность и вредоносность кагатной гнили сахарной свеклы в Республике Беларусь | 40 |
| 3 | Видовой состав и патогенность возбудителей кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы | 46 |
| 4 | Выделение и отбор высокоактивных штаммов бактерий-антагонистов фитопатогенов кагатной гнили сахарной свёклы | 54 |
| 5 | Технология производства биопестицида Бетапротектин | 76 |
| 5.1 | Оптимизация параметров глубинного культивирования штамма бактерии <i>Bacillus subtilis</i> М-22 БИМ В-439 Д | 76 |
| 5.2 | Оценка адгезионных свойств и стабильности антагонистической активности биопестицида Бетапротектин | 85 |
| 5.3 | Отработка технологического процесса получения биопрепарата Бетапротектин в опытно-промышленных условиях | 93 |
| 5.4 | Разработка методов контроля качества биопестицида Бетапротектин | 101 |
| 6 | Технология применения биопестицида Бетапротектин против кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы | 110 |
| 6.1 | Определение оптимальной нормы расхода биопрепарата и нормы расхода рабочего состава | 110 |
| 6.2 | Оценка влияния температуры на эффективность действия биопестицида Бетапротектина | 112 |
| 6.3 | Эффективность действия биопестицида Бетапротектин против кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы в зависимости от степени их травмированности | 119 |
| 6.4 | Оценка влияния времени и кратности обработок сахарной свеклы биопестицидом Бетапротектин на его эффективность | 122 |

| | | |
|-----|--|-----|
| 6.5 | Эффективность действия биопестицида Бета-протектин против кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы в зависимости от условий хранения | 139 |
| 7 | Приспособления для обработки корнеплодов сахарной свеклы | 143 |
| 7.1 | Приспособление к самоходному свеклоуборочному комбайну для обработки выкапываемых корнеплодов | 144 |
| 7.2 | Приспособление к буртоукладочной машине для обработки корнеплодов сахарной свеклы перед закладкой на хранение | 150 |
| 8 | Государственная регистрация биопестицида Бетапротектин | 159 |
| 9 | Эффективность действия биопестицида Бетапротектин в производственных условиях | 160 |
| | Заключение | 165 |
| | Список использованных источников | 169 |

ВВЕДЕНИЕ

Сахарная свекла - важнейшая техническая культура. Посевные площади ее в Республике Беларусь составляют около 100 тыс. га. Урожайность корнеплодов в среднем по республике достигает 300-450 ц/га при сахаристости 15-17% и выходе сахара 12-13%, что позволяет получить с каждого гектара 40-50 ц сахара, а также дополнительно 72 ц к.ед. в виде жома, патоки и ботвы (Вострухина Н.П., 1997; Татур И.С., 2003).

Увеличение выработки сахара из свеклы и обеспечение потребности в нем населения, как в настоящее время, так и на перспективу является одной из актуальнейших народнохозяйственных задач Беларуси. Климатические условия республики, научно-производственная база уже сегодня позволяют повысить урожайность свеклы до 480-600 ц/га и получить не менее 7,0-9,0 тонн сахара с гектара (Красюк Н.Н., 2011). Однако достижению таких показателей препятствует сильное поражение сахарной свеклы болезнями, как во время вегетации, так и во время зимнего хранения (Нуждина В.В., 2003). Наиболее опасным заболеванием является кагатная гниль, вызываемая, в основном, патогенными грибами родов *Botrytis*, *Phoma*, *Trichotecium*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Mucor*. Заражение происходит еще в поле и продолжает развитие в кагатах, вызывая потерю веса, снижение пищевой и технологической ценности, гибель корнеплодов. В эпифитотийные годы потери урожая сахарной свеклы могут составить более 30 % (Вострухина Н.П., 1997; Красюк Н.А., 2011).

Комплекс защитных мероприятий включает обработку растений свеклы от вредителей и болезней в период вегетации, предохранение от механических повреждений при уборке, транспортировке и погрузке, защиту от подмораживания и подвяливания, тщательную браковку перед укладкой в кагаты, периодическое проведение мониторинга хранящихся корнеплодов, удаление очагов гнили.

Большое внимание уделяется организации защитных мероприятий, направленных на подавление жизнедеятельности патогенной микрофлоры в кагатах. С этой целью традиционно применяются химические средства, однако использование этих

препаратов приводит к загрязнению корнеплодов остаточными количествами пестицидов, а также к снижению их товарных качеств, что инициирует поиск альтернативных способов защиты.

Использование метода биологического контроля фитопатогенов в качестве альтернативы химическому позволяет обеспечить эффективную защиту корнеплодов и получить экологически безопасную продукцию. Однако в настоящее время в Беларуси нет зарегистрированных биопестицидов для защиты сахарной свеклы от болезней при хранении, а применение импортных препаратов (планриз, бактофит, фитоспорин М), не адаптированных к видовому составу возбудителей кагатной гнили, характерному для климатических условий Беларуси, не всегда эффективно.

В свете вышеуказанного, исследования по разработке отечественных технологий получения и применения биопрепаратов для защиты сахарной свеклы от кагатной гнили приобретают особую актуальность.

Научная новизна и практическая значимость представленных в монографии материалов заключается в том, что впервые с учетом особенностей видового состава и патогенных свойств возбудителей, распространенных в условиях Беларуси, разработан отечественный микробиологический препарат для контроля кагатной гнили сахарной свеклы - биопестицид Бетапротектин. Технология его получения освоена в производственных условиях. Применение Бетапротектина обеспечивает снижение потерь и повышение качества корнеплодов сахарной свеклы при хранении и приводит к увеличению выхода сахара.

1. Обзор литературы

За последнее десятилетие во многих странах значительно усилилось поражение корнеплодов сахарной свеклы гнилями, что, вероятно, как отмечают В.В. Гамуев, В.О. Гамуев (2004), обусловлено глобальными климатическими изменениями. Эта проблема усугубляется массовой экспансией сортов и гибридов западноевропейской селекции, которые обладают потенциально высокой продуктивностью, но не адаптированы к нашим условиям. По результатам исследований, в посевах зарубежных сортов и гибридов гнили встречаются в среднем в 2-3 раза чаще, чем отечественных. Большой ущерб наносит кагатная гниль урожаю сахарной свеклы, возделываемой в условиях России, Украины, Беларуси, а в последние годы и стран Западной Европы (Германия, Нидерланды, Франция и др.) (Шендрик Р.Я., Запольская Н.К., 1999). Сегодня на территории Беларуси, как указывают Н.А. Лукьянюк, О.А. Бендузан (2003), формируются две зоны с высоким распространением гнилей: Скидельско-Гродненская и Полесская (Дрогичинский, часть Кобринского и Ивановского районов).

Кагатная гниль – комплексное заболевание, которое развивается на корнеплодах во время хранения в кагатах маточной и фабричной свеклы. Эта болезнь распространена во всех районах свеклосеяния и поражает кроме сахарной свеклы столовую и кормовую (Попова И.В., 1968; Пересыпкин В.Р., 1987; 1989).

Кагатная гниль проявляется в разложении и отмирании тканей корнеплодов. Внешний вид пораженных гнилью участков зависит от того, какой возбудитель преобладает. Так, пораженные гнилью корни могут быть покрыты плесенью разного цвета: белой, серой, красной, голубой, черной и т.п. Наличие на корнях свеклы хотя бы даже поверхностной плесени указывает на то, что в кагате имеются условия, способствующие развитию возбудителей болезни. Иногда разложение сахара в корне и гниение последнего происходит с незначительными изменениями цвета загнившей ткани по сравнению со здоровой. Это затрудняет определение гнилой массы при контрольных анализах и чаще всего отмечается в условиях высоких температур, когда в развитии гнили принимают участие термофильные мукооровые грибы и некото-

рые бактерии. В этих случаях в пораженных корнях развивается спиртовое брожение, которое обнаруживается по запаху гниющих корней (Красюк Н.А., 2010).

Характер гнили корней различный. Чаще всего при гниении пораженные участки корня приобретают сероватую, бурую или темно-бурую, иногда почти черную окраску с различными оттенками (рисунок 1).



Рисунок 1 - Корнеплоды сахарной свеклы, пораженные кагатной гнилью

Пораженные части корня сохраняют свою форму, но теряют прочность, легко разрезаются и разрушаются. Иногда загнившие участки быстро подсыхают; в этом случае поражение имеет характер сухой гнили. Если при загнивании корни ослизняются, поражение имеет характер мокрой гнили. Различный характер кагатной гнили зависит, с одной стороны, от условий, при которых происходит загнивание корней, а с другой - от комплекса возбудителей, участвующих в развитии гнили (Шуканов А.С, 1973).

При хранении инфицированных возбудителями кагатной гнили корнеплодов резко возрастают интенсивность дыхания и потери

сахара. В основном, это очаги поражения внутри кагата, где ощущается недостаток кислорода. При этом среднесуточные потери сахарозы в 5 раз выше, чем при хранении здорового сырья с достаточной вентиляцией (Сапронов А.Р., 2002). Пораженные корнеплоды полностью теряют сахар, вследствие чего становятся совершенно непригодными для переработки. Гнилая масса содержит в себе продукты разложения углеводов, белков, пектиновых веществ, которые попадая на заводе в переработку вместе со здоровым сырьем, резко нарушают нормальный технологический процесс сахароварения, создает новые потери сахара при переработке. Так, наличие кислот, являющихся продуктами разложения белков и углеводов, провоцирует инверсию сахарозы, накопление моносахаров, или так называемого инвертного сахара. Инвертный сахар не кристаллизуется и уходит в патоку, что дополнительно снижает выход кристаллического сахара при переработке свеклы. Поэтому технологи инвертный сахар часто называют «вредным сахаром».

Кроме того, в загнивших корнеплодах резко возрастает содержание «вредного азота», неосаждающегося при обработке соков на заводе, что также затрудняет кристаллизацию сахара и приводит к снижению его выхода (Шевченко В.Н., 1959; Варшавская В.Б., 1986; Чернявская Л.И., 1996).

При переработке свеклы с примесью гнилой массы сок при уваривании сильно пенится и на очистку его требуется повышенный расход щелочи. Разложившаяся гнилая масса корней, попадая на фильтры, быстро засоряет их, что затрудняет и задерживает очистку сока.

Каждый процент загнивших корнеплодов вызывает снижение сахаристости на 0,2 %, повышение содержания редуцирующих веществ на 0,04—0,97 %, увеличение общего содержания кислот в диффузионном соке на 0,07 ммоль/100 г сока, снижение натуральной щелочности на 0,017 % СаО, чистоты очищенного сока на 1,0 %, выхода сахара — на 0,27—0,3 %; нарастание цветности — на 15,8 ед. ICUMSA; повышение содержания сахара в мелассе — на 0,08-1,1 %, увеличение расхода сырья на получение 1 т сахара на 0,35 %. По данным Г.К. Подпориновой, В.В. Агеева для свеклы с содержанием гнилой массы 10 % скорость кристаллизации сахарозы снижается в 4 раза; цветность сахара не удовлетворяет требова-

ниям ГОСТ 21-94. При увеличении концентрации загнивших корнеплодов до 20 % скорость кристаллизации сахарозы снижается в 27 раз, что практически исключает возможность извлечения ее из раствора.

Как уже указывалось, кагатную гниль вызывают сапрофитные грибы и бактерии, поэтому в возникновении и развитии болезни основную роль играют условия выращивания, уборки, транспортировки и хранения корнеплодов. К неблагоприятным для хранения свеклы факторам относятся:

1. Ослабление растений в период вегетации в результате воздействия болезней: мозаики, церкоспороза, ложной мучнистой росы, ржавчины, а также вследствие механических повреждений листьев и повреждения их насекомыми.

2. Ослабление корнеплодов при уборке и хранении в результате приваливания, механических повреждений, подмораживания и т. п.

3. Развитие микроорганизмов - возбудителей кагатной гнили.

4. Неблагоприятные внешние условия (высокие или низкие температуры, высокая влажность).

Возникновению и развитию кагатной гнили способствует ослабление растений, а также корней, предназначенных для хранения. Так, свекла с плантаций, сильно пораженных церкоспорозом и другими болезнями, поражается кагатной гнилью при хранении сильнее, чем здоровая. Об этом свидетельствуют опыты ученых Белоцерковской и Несвижской опытно-селекционной станции сахарной свеклы (Корниенко А.С., 1986; Татур И.Н., Лукьянюк Н.А., Бендузан О.П., 2003). По данным А.С. Корниенко (1986) в вариантах со средним, а тем более с сильным поражением церкоспорозом корнеплоды хранятся хуже, больше поражаются патогенными микроорганизмами, потери от кагатной гнили значительно возрастают. Так, сильное поражение растений болезнью в период вегетации явилось причиной увеличения потерь от гнили после 85 суток хранения в 3,2 раза (с 1,12 в контроле до 3,57 %), а общих потерь сахара - в 1,7 раза (с 8,03 до 13,38 %).

Исходя из многочисленных наблюдений Н.А. Лукьянюка, О.А. Бендузан (2003) установлено, что болезни корнеплодов

наиболее часто проявляются при условии обильного выпадения осадков и температуре 25-26°C во второй половины июля - начале августа; на участках с высоким стоянием грунтовых вод; пониженных участках рельефа; при наличии в свекловичном севообороте полей рапса и картофеля; короткой 2-3-годичной ротации.

Главным условием, определяющим агрессивность фитопатогенов и их способность вызывать заболевание, является наличие набора ферментов, с помощью которых происходит расщепление пластических веществ растений и перевод их в усвояемую для паразита форму. Чем богаче ферментативная система гриба, тем выше его активность и вредоносность при кагатном гниении свеклы. Так, при изучении ферментативной системы гриба *Botrytis cinerea* были обнаружены ферменты цитаза, инвертаза, лактаза, трегалаза, раффиназа, мелецитаза, танназа, кутиназа и другие (Исаева Л.И., 1976).

Между пораженностью свеклы в поле и кагатах установлена прямая зависимость. По данным М.З. Хелемского (1980), В.Г. Светова и др. (1986), уже в начале формирования корнеплоды свеклы заселяются грибами рода *Fusarium*, *Phoma betae* и другими возбудителями болезней. Заселенность их патогенами может достигнуть 80%. Однако в период вегетации патогены находятся как бы в равновесии с растением-хозяином. В случае ухудшения условий выращивания или хранения это равновесие нарушается. Микроорганизмы переходят в активное состояние, усиленно развиваются и создают очаги загнивания корнеплодов в местах хранения (Grzelinska A., 1971).

По данным Н.А. Лукьянюк, О.А. Бендузан (2003), в эпифитотийные годы до 10-20% посевов сахарной свеклы имеют высокую степень развития болезни, на отдельных полях приходится выбраковывать до 30% и более корнеплодов. Потери от кагатной гнили могут быть очень большими. В некоторые годы на кагатных полях погибало до 10-15%, а на отдельных сахарных заводах - до 30-40% уложенной в кагаты свеклы (Попова И.В., 1968). При этом В.И.Буренин (1983) указывает на то, что вредоносность гнилей прямо зависит от условий хранения – влажности воздуха и температуры.

При поражении кагатной гнилью гнилые корни и загнившие участки частично пораженных корней полностью теряют сахар, вследствие чего становятся непригодными для производства. Исследования А.С. Шуканова (1973), В.П. Шевченко (1982), показали, что даже частичное загнивание корнеплода влияет на содержание сахара в незагнившей ткани: в здоровой части загнивших корнеплодов оно снижалось на 14-16%. В этом преимущественно и заключается вредоносность кагатной гнили, как опаснейшей болезни, поражающей свекловичное сырье.

При количестве примеси гнилой массы 8-10% и больше заводы часто совсем не получают кристаллического сахара (Хелемский М.З., 1980).

Гнилая масса свеклы, используемая на корм животным, не только не имеет кормовой ценности, но и вызывает болезни животных в силу присутствия в ней микотоксинов.

Эти прямые потери от кагатной гнили, а также осложнения технологического процесса и потери при получении сахара из свеклы с примесью гнилой массы определяют высокую вредоносность гнили и необходимость целенаправленной борьбы с этой болезнью.

Разложение или гниение корней вызывается большим числом микроорганизмов, в состав которых входит свыше 200 видов различных грибов и 60 видов бактерий. Кроме плесневых грибов и бактерий в разложении сахара при загнивании корней участвуют дрожжевые грибы, особенно при хранении подмороженной свеклы. Состав возбудителей кагатной гнили зависит от географического положения района свеклосеяния (Попова И.В., 1968). В конце хранения наблюдаются также значительное число видов и форм вторичной микрофлоры. По данным К.Н. Брояковской, З.А. Пожар, М.Т. Никулиной (1991), А.В. Широкова (2007) - 74,9-91,6% патогенной флоры составляют грибы.

При изучении видового состава возбудителей кагатной гнили в условиях Северо-Запада Российской Федерации, было идентифицировано порядка 10 наиболее активных видов патогенов: *Botrytis cinerea* Pers., *Phoma betae* Frank, виды *Fusarium* Link. (*F. solani*, *F. oxysporum*, *F. culmorum*), виды *Penicillium* spp., *Rhizopus nigricans*, *Alternaria tenuis* Nees (Нурмухамедов А.К.,

1995). По результатам исследований, проведенных С.В.Бурениным (2003) в этой же зоне установлено, что заболевание вызывают 23 возбудителя, из которых 18 – грибы. Преобладающими были грибы *Fusarium spp.* (23,2% от общего количества), *Botrytis cinerea* (10,4%) и бактерии *Bacillus betae* (13,6%). Следует отметить, что за последние годы доля бактериальной инфекции заметно увеличилась, среди грибных возбудителей кагатной гнили возросла доля видов рода *Fusarium* и снизилась доля видов *Botrytis cinerea*.

По данным Р.Я. Шендрик, Н.К. Запольской (1999) в условиях Республики Беларусь наиболее часто встречаются следующие патогены: *Botrytis cinerea Pers et Fr.*, *Phoma betae Frank*, *Fusarium solani (Mart) App.et Wr*, *Fusarium oxysporum Schlecht.*, *Fusarium culmorum Sacc.*, *Alternaria tenuis Nees.*, *Sclerotinia sclerotiorum (lib) de Bary*, *Penicillium expansum Link.*, *Rhizopus nigricans Ehr.*, *Rhizoctonia solani Kühn.* Особую вредоносность представляют грибы *B. cinerea*, *P. betae*, *R. nigricans*, некоторые виды родов *Fusarium*, *Penicillium.*, вызывающие первичное кагатное гниение, в отличие от менее активных грибов и бактерий, вызывающих вторичные процессы при гниении (Пересыпкин В.Ф., Пожар З.А., Сигаревич Д.Д., 1987).

Наиболее агрессивным среди активных возбудителей кагатной гнили является гриб *Botrytis cinerea Pers et Fr.* (класс Deuteromycetes, порядок Hyphomycetales, семейство Moniliaceae). Этот гриб вызывает ботрициозное гниение. На поверхности корнеплодов образуется ватообразный войлок грибницы вначале белого, затем серого, и, наконец, темно-серого цвета. Грибница охватывает несколько корней и чаще всего развивается на головке или на ранках корня. Гнилая ткань корня приобретает темно-бурый цвет. Иногда в поздней стадии развития грибницы на гниющей массе образуется плотное сплетение темного цвета – плоские округлые черные склероции. Они устойчивы к неблагоприятным условиям, могут долго сохраняться живыми и при благоприятных условиях вновь образовывать грибницу (Попкова К.В., 1989). Гифы бесцветные или серо-оливковые. Конидиеносцы прямостоячие, с довольно толстой оболочкой, внизу оливково-бурые, на вершине почти бесцветной окраски 10-23 мкм в диаметре, более или менее разветвленные с

ответвлениями, большей частью которые в свою очередь тоже разветвляются. Обычно с короткими конечными веточками, оканчивающиеся сучковидными выступами, снабженными мелкими зубчиками, на которых расположены тесно скученные конидии. Конидии яйцевидные или эллиптически – округлые в массе дымчатые 9-16 x 6,5-10 мкм. Сумчатая стадия – *Botryctinia fucheliana* (Хохряков М.К. и др., 1984; Пидопличко Н.М., 1977). Это наиболее распространенный и вредоносный тип кагатной гнили.

Phoma betae Frank (класс Deuteromycetes, порядок Sphaeropsidales, семейство Sphaeropsidaceae). В отличие от ботрициозного, при фомозном гниении грибница не образуется на поверхности корнеплодов, а развивается внутри гниющих тканей, имеющих на разрезе темно-коричневый цвет пораженных зон и наличие на их поверхности мелких серых точек-пикнид заметных невооруженным глазом (Попкова К.В., 1989). Пикниды шаровидно-приплюснутые, от светло- до темно-коричневых. В пикнидах образуются овальные или яйцевидные бесцветные пикноспоры 4-7 x 3-4 мкм, часто с 1-2 каплями масла (Хохряков М.К. и др., 1984; Пидопличко Н.М., 1977). По своей консистенции – это сухая гниль.

Грибы из рода *Fusarium Link* (класс Deuteromyces, порядок Nuromycetales, семейство Tuberculariaceae), виды *F.oxysporum*, *F.solani*, *F.culmorum* вызывают фузариозное гниение. Характеризуются хорошо развитым мицелием, войлочно-пушистым, паутинистым белого, розового, красного, иногда голубоватого цвета. Гниль при хранении также встречается в открытых или закрытых дуплах корнеплодов. Грибница появляется обычно на ранках или образуют прослойку среди коричневатой, иногда почти черной, гниющей массы (Попкова К.В., 1988, 1989). Конидиеносцы хорошо выраженные, простые или разветвленные. Из элементов морфологии различают следующие структуры: макроконидии, микроконидии, хламидоспоры, спородохии и склероции. Макроконидии образуются на простых или разветвленных конидиеносцах, коротких отростках или выступах гиф. Макроконидии обычно серповидные, веретеновидно-серповидные с различной степенью изогнутости 45-80 x 3-4 мкм. Количество перегородок в макроконидиях 3-5, 5-7. Микро-

конидии образуются на коротких ответвлениях гиф, вокруг которых и скапливаются. У ряда видов они образуют цепочки у других – ложные головки, эллиптические, удлинённые, реже других форм. Хламидоспоры в гифах одиночные, в цепочках или узелках, бесцветные или различных желто-бурых оттенков (Хохряков М.К. и др., 1984; Пидопличко Н.М., 1977).

***Sclerotinia sclerotiorum* (lib) de Bary** (класс Ascomycetes, группа порядков Discomycetes, порядок Helotiales, семейство Sclerotiniaceae) вызывает белую гниль (склеротиниоз). На тяжелых почвах при избыточном увлажнении поражаются еще растущие корнеплоды. Они ослизняются, покрываются белым рыхлым ватообразным налетом. Со временем он уплотняется, и появляются сначала белые, затем черные твердые желвачки - склероции гриба. При образовании их на поверхности грибницы выделяется жидкость в виде блестящих капель. Склероции шаровидные, довольно крупные (диаметром до 1-2см), снаружи матово-черные, внутри белые. После периода покоя прорастают с образованием мицелия или же иногда на них образуются воронкообразные светло-коричневые апотеции, диаметром 4-8 мм. В них созревают сумки (130-135 x 8-10 мкм) с бесцветными эллипсоидными сумкоспорами, размером 9-13 x 4-6 мкм (Хохряков М.К. и др., 1984; Пересыпкин В.Ф., 1989, Пидопличко Н.М., 1977).

***Penicillium expansum* Link.** (класс Deuteromycetes, порядок Zygomycetales, семейство Moniliaceae) - пенициллезное гниение. Для рода *Penicillium* характерен обильный вегетативный мицелий, более или менее поверхностный, часто окрашивающий субстрат. Грибница образуется на поверхности корнеплода в виде слившихся струпов серого или серо-зеленого цвета, с голубым а иногда и с желтоватым оттенком. Она состоит из мицелия, на котором образуются конидиеносцы с конидиями. Гифы монопоидальные с перегородками, обычно с вегетативными анастомозами, бесцветные или вторично окрашенные продуктами метаболизма, с темно-окрашенной оболочкой. Конидиеносцы отходят как веточки вегетативного мицелия, образуют верхушечные кисточки разной формы: от простых мутовок - стеригм, до сложных с несколькими ответвлениями веточками, несущими мутовки - метуль, оканчивающихся пучками стеригм. От верху-

шек последних отходят неветвистые цепочки конидий, образующихся на конидиальной шейке стеригм. Конидии шаровидные, эллиптические, цилиндрические, гладкие, шероховатые и др. различно окрашены 6-8 x 4-7 мкм. Цепочки конидий простые, расходящиеся, стелющиеся или образующие колонку. У некоторых видов образуются склероции, по-видимому, они являются недоразвитыми клейстотециями (Хохряков М.К. и др., 1984; Пидопличко Н.М., 1977).

Чаще возбудители рода *Penicillium* регистрируются как вторичные паразиты на загнивающих корнеплодах. Реже вызывают загнивание свеклы во время хранения. В местах развития возбудителя ткань гниет, приобретает желтовато-коричневый или коричневый оттенок (Попкова К.В., 1988, 1989; Пересыпкин В.Ф., 1989).

Alternaria tenuis Nees. (класс Deuteromycetes, порядок Nuyphomycetales, семейство Dematiaceae) – темноцветная плесень. Для рода *Alternaria* характерен бархатистый мицелий оливкового или оливково-буроватого цвета, нередко в молодом возрасте белый. Налет чаще образуется на поверхности подвяленных хвостовых частей корнеплода. Плесенью покрываются подсохшие срезы и ранки корней. Конидиеносцы простые, иногда слабо отдифференцированы от гиф, одиночные или в пучках. Конидии (пороспоры) многоклеточные, темноокрашенные, обратно-яйцевидные или булавовидные, с поперечными, продольными перегородками, одиночные или собраны в цепочки разной длины. У вершины вытянуты в более светлую шейку, часто с поперечными перегородками, нередко нитевидными 30-50 x 14-18 мкм в диаметре (Хохряков М.К. и др., 1984; Пересыпкин В.Ф. и др., 1987, Пидопличко Н.М., 1977).

Rhizopus nigricans Ehr. и различные виды рода *Mucor* (класс Zygomycetes, порядок Mucorales) вызывают головчатую плесень или ризониозное гниение.

Болезнь проявляется на поверхности корнеплода в виде обильной, быстро растущей, рыхлой, грязно-черного цвета грибницы, постепенно охватывающей весь корнеплод. На рыхлом войлоке невооруженным глазом различается множество мелких, вначале светлых, затем чернеющих головок – спорангиев размером 100-300 мкм, являющихся характерным признаком

этого типа гниения. Ризоиды разветвленные, темно-коричневые. Стилоспорангиеносцы отходят по 2-5 от шейки ризоида. Спорангиоспоры эллиптически-шаровидные со слабо исчерченными продольными полосками 4-6 мкм в диаметре. Хламидоспоры отсутствуют. Зигоспоры темно или черно-бурые. Ткани в зонах поражения гниют, приобретая мягкую консистенцию, светло-коричневого оттенка (Хохряков М.К. и др., 1984; Пидопличко Н.М., 1977).

***Rhizoctonia solani* Kühn** (класс Deuteromycetes, порядок Myceliales) - возбудитель бурой гнили корнеплодов сахарной свеклы. Совершенная стадия *Hypochnus solani* Prill, et Delacr. Мицелий на подземных частях растений образует более или менее выраженные сплетения и черные коростинчатые склероции, довольно крепко приросшие к субстрату. Гифы буроватые, местами почти бесцветные, 6-10 мкм толщины.

Пораженная часть растения покрывается грязновато - бурым налетом; в тканях образуются бурые язвы. Вредоносность гриба состоит в том, что он, поражая ослабленные растения, вызывает гниль корней и даже гибель свеклы. Ризоктониоз распространен повсеместно (<http://87.118.113.143/bolezni-texnicheskix-kultur/bolezni-saxarnoj-svekly/rizoktonioz-vozbuditel-bolezni-grib-rhizoctonia-solani-kuhn.html>).

Бактериальное гниение вызывают бактерии и дрожжевые грибы. Оно характеризуется отсутствием поверхностного налета. Консистенция гнили мягкая, слизистая, вначале светлосерая, а затем приобретающая бурый или темный оттенок. Это вторичное гниение, возникающее либо в пораженных различными возбудителями зонах, либо на корнеплодах, ослабленных другими причинами. Чаще всего такая гниль развивается на подвяленной, подмороженной свекле (Попкова К.В., 1989).

Различные возбудители кагатной гнили имеют свои отличительные биоэкологические особенности.

Серая гниль может передаваться на здоровые корнеплоды при прямом контакте здоровых корнеплодов с больными, с растительными остатками и спорами по воздуху. Возбудитель гнили развивается в условиях высокой влажности и кислой среды, при температуре +3 - +30⁰С. Условия Республики Беларусь

способствуют развитию патогенна (Селиванова Г.А., Стогниенко О.И., 2007).

Сильному развитию серой гнили способствуют подвяливание, переохлаждение и механические повреждения корнеплодов, дождливая погода во время уборки, а также нарушение режимов хранения - повышенные температура и влажность в кагатах (Горленко М.В., 1968, Пересыпкин В.Ф. и др., 1987).

Возбудитель фомоза в течение вегетации распространяется конидиями, выходящими из пикнид при наличии капельно-жидкой влаги, а сохраняется в растительных остатках, семенах и головках маточной свеклы. Гриб легко попадает в места хранения корнеплодов вместе с послеуборочными остатками свеклы (листьями, черешками), почвой и пораженными растительными остатками. Источник инфекции – конидии в пикнидах, иногда аскоспоры, находящиеся в пораженных растительных остатках и почве (Микроорганизмы..., 1988).

Грибы рода *Fusarium* начинают свое развитие ранней весной в почве и поражают свеклу во время роста корней в поле. Попадая на хранение, такие корнеплоды загнивают и тем самым способствуют распространению инфекции. Сохраняется инфекция в почве в виде хламидоспор, на растительных остатках и корнеплодах сохраняется также мицелий. Распространяется гриб конидиями (Пидопличко Н.М., 1977). Развитие фузариоза обычно усиливается в периоды с высокими температурами воздуха (среднесуточными +19 - +23 °С, максимальными +34 - +39 °С), низкой относительной влажностью воздуха (45-60%) и малым выпадением осадков (Пересыпкин В.Ф., 1989).

Склеротиниоз обычно появляется очагами, так как гриbnица быстро переходит с больных корнеплодов на здоровые. Во время хранения гниль продолжает развиваться и при контакте может вызвать заражение других корнеплодов.

Массовому распространению белой гнили способствуют высокая влажность и температура в кагатах (+20 -+24°С), одно-стороннее удобрение повышенными дозами азота или фосфора. Сильное развитие болезни обычно отмечается через один-два месяца после закладки корнеплодов на хранение (Пидопличко Н.М., 1977). Зимует гриb в форме склероциев. Весной склероциии, подвергшиеся подмораживанию, прорастают и образуют

апотеции (Пересыпкин В.Ф., 1989). По данным З.Н. Коченко (1972) для прорастания склероциев наиболее благоприятна температура +19 - +26⁰С. При более низкой температуре (+2 - +13⁰С) они прорастают в аптеции. Обычно прорастание склероциев и образование сумок с сумкоспорами длится 30-38 дней с начала весенних полевых работ. При созревании сумкоспоры выбрасываются из сумок и разносятся ветром на растения. Склероции, хранящиеся при температуре +18 - +26⁰С и влажности воздуха до 45%, сохраняют жизнеспособность в течение 10-20 месяцев. Распространение белой гнили от корнеплода к корнеплоду может происходить и при помощи грибницы. Гриб *S. sclerotiorum* обычно сначала колонизирует отмершие части растений, а затем поражает живые органы. В процессе своей жизнедеятельности гриб продуцирует щавелевую кислоту и пектолитические ферменты. Щавелевая кислота вызывает некроз растительных клеток, создается кислотная среда, близкая к рН 4, способствующая активации пектолитических ферментов гриба, которые расщепляют пектиновые вещества растений (Пересыпкин В.Ф., 1989).

Пеницилез развивается на физиологически ослабленных корнеплодах, при низких положительных температурах (+2 - +5⁰С). Возбудитель колонизирует травмированные и отмершие части корня и развивается во влажных условиях при температуре от + 5 до 36⁰С (Никитина С.М., 1991). Инфекция сохраняется в почве на растительных остатках в виде спор (Лихацкий В.И., 1990).

Альтернариоз (черная плесень) - на поверхностных слоях корней в кагатах образуется бархатистый темно-зеленый или буро-оливковый налет, состоящий из конидиеносцев и конидий. Возбудитель в виде грибницы и конидий зимует на растительных остатках. Иногда может сохраняться на маточных корнеплодах и семенных клубочках. Распространяется конидиями. Источниками инфекции являются растительные остатки, семена, маточные корнеплоды. Оптимальные условия для прорастания конидий и заражения растений – температура +22 - +26 °С и капельная влага в течение не менее двух часов (<http://www.firm-august.ru/atlas/b/detail.php?ID=2032>),

Буряя гниль. Возбудитель сохраняется на поверхности корней, а также на растительных остатках в почве в виде скле-

роций или мицелия. Развитие его особенно интенсивно при влажности почвы до 40%, при дальнейшем увлажнении почвы замедляется и полностью подавляется при влажности 70 %.

Количество пораженных корней ничтожно при хорошем уходе за плантациями, но при низком уровне агротехники потери могут достигать значительных размеров (<http://87.118.113.143/bolezni-texnicheskix-kultur/bolezni-saxarnoj-svekly/rizoktonioz-vozbuditel-bolezni-grib-rhizoctonia-solani-kuhn.html>).

Защита свеклы от заболеваний включает общие приемы, направленные на оздоровление культуры, и специальные, имеющие целью предупредить или ограничить развитие отдельных болезней в период выращивания свеклы и хранения урожая.

Как уже указывалось ранее, поражение свеклы болезнями во время вегетации вызывает ослабление растений и может привести к гниению корнеплодов во время хранения. Поэтому для борьбы с кагатной гнилью недостаточно защитных мероприятий в зимний период, их необходимо начинать задолго до закладки на хранение (Просвиряков В.В. и др., 2008; Саблук В.Т.; Запольская Н.Н.; Калатур Е.А., 2009). Основа профилактики болезней сахарной свеклы и борьбы с ними - агротехнические и организационно-хозяйственные мероприятия. Следует учитывать, что многие возбудители болезней свеклы имеют широкую филогенетическую специализацию. Поэтому размещение свеклы в севообороте следует производить по лучшим предшественникам с периодом ротации не менее 3-х лет. П.И.Никончик указывает на то, что степень окультуренности почвы, применение оптимальных доз удобрений и полной химической защиты не снижают роли севооборота в повышении урожайности и плодородия почвы, а также в борьбе с болезнями растений.

Так, установлено (Вострухин Н.П., 2011), что прогрессирующее ухудшение фитосанитарного состояния полей, обусловленное длительным возделыванием сахарной свеклы, благоприятствует усилению развития гнилей корнеплодов. Нельзя также допускать возделывания в свекловичном севообороте культур, которые поражаются одним и тем же возбудителем (картофель – *Rhizoctonia solani*). Для снижения численности почвенных фитопатогенных грибов нужно включать в севооборот культуры, в

ризосфере которых накапливаются микробы-антагонисты. Такой культурой в свековичном севообороте может служить горчица белая (Стогниенко О.И., 2009).

При насыщении севооборотов свеклой на 20% и более в качестве предшественников предпочтительны озимые зерновые, зернобобовые культуры, способствующие снижению пораженности свеклы. При этом важна правильная система обработки почвы (лушение стерни, затем зяблевая вспашка, качественная предпосевная обработка) (Татур И.С. и др., 2011). Под сахарную свеклу выбирают участок с рыхлой плодородной почвой легкого и среднего механического состава. Оптимальные агрохимические показатели почвы для возделывания сахарной свеклы: рН – 5,8-6,5, содержание гумуса – не менее 1,8%, подвижного фосфора и обменного калия – не менее 150 мг/кг почвы, бора – не менее 0,7 мг/кг почвы (Татур И.С. и др., 2011).

Для ограничения распространения болезней необходимо соблюдать пространственную изоляцию не менее 2 км между посевами свеклы первого года жизни и семенников, а также от участков прошлого года и индивидуальных огородов (Вострухин Н.П., 2005). Почва на поле должна иметь рН не ниже 6,0 (т.к. грибы лучше развиваются при слабокислой реакции среды). При необходимости проводить известкование. Необходимо вносить сбалансированные дозы органических, минеральных и микроудобрений (особенно борных). Органические удобрения целесообразно применять с осени под вспашку (навозный перегной, компост) в количестве 40-80 т/га. С осени под вспашку вносят также не менее 70% полной нормы фосфорных, калийных, натриевых и серосодержащих удобрений (Вострухин Н.П., 2007; 2011; Татур И.С., 2011).

Норму внесения минеральных удобрений рассчитывают с учетом дозы внесения новоза. Доза внесения азотных удобрений на плодородных почвах не должна превышать 150 кг/га д.в. Высокие дозы азота способствуют развитию рыхлых паренхимных тканей, что облегчает развитие патогенов на растении, недостаток же – снижает иммунитет растения (Лукьянюк Н.А. и др., 2011). Потребность в натрии и сере удовлетворяют за счет внесения калийной соли и сульфата аммония. Микроудобрения активизируют процессы обмена веществ и повышают устойчи-

вость растений к фитопатогенам. Почвы свеклосеющих районов республики не удовлетворяют потребность сахарной свеклы в боре, и требуется его внесение. Используют борную кислоту, буру, комплексные удобрения, удобрения для внекорневых подкормок. Эти удобрения повышают иммунитет растений к заболеваниям, повышают тургор листового аппарата в период кратковременной засухи, снижают развитие гнилей при хранении (Вострухин Н.П., 2007; 2011; Грищенко Н.Н., 2009; Коляда К.В., Дудук А.А., 2008; Лукьянюк Н.А., 2011; Петров В.А., 1987; Светов В.Г. и др., 1986; Татур И.С., 2011; Шикальчик Н.В., 1999).

Оптимальные дозы минеральных удобрений снижают степень заражения сахарной свеклы кагатной гнилью. Значение высокого фона питания сахарной свеклы в повышении устойчивости ее против кагатной гнили сказывается и в том, что более крупные корни свеклы поражаются гнилью значительно слабее, чем мелкие. Об этом свидетельствуют анализы корней после 120 дней их хранения, проведенные на ОАО «Городейская сахарный комбинат» в 2001 году (Красюк Н.А., 2010).

Следующее звено в борьбе с болезнями сахарной свеклы в период хранения – высокий уровень агротехники, который включает в себя своевременную и качественную обработку почвы. В.А. Петров, Н.В. Борзаковский (1985); Г.С. Посыпанов (1997) рекомендуют на уплотненных почвах, при необходимости, для предупреждения появления корнееда проводить дождеходное и послежнеходное (высота проростков не более 5 см) рыхление междурядий. Однако следует помнить, что междурядные обработки посевов сахарной свеклы способствуют увеличению заболевания корнеплодов кагатной гнилью при хранении, так как при деформации обрываются корни и корнеплодам, таким образом, наносятся механические повреждения. Оторванные корни – хороший субстрат для развития в почве патогенных грибов, что приводит к увеличению зараженности корнеплодов. При наличии эффективных гербицидов междурядные обработки на посевах сахарной свеклы должны быть ограничены двумя-тремя вместо рекомендуемых четырех-пяти (Интегральная..., 1986; Шендрик Р.Я.; Запольская Н.И., 1999).

Устойчивость к кагатной гнили в значительной степени определяется тургором корнеплодов (Орехова В.А., 1981). Поте-

ря корнями влаги вызывает у них усиленное дыхание, что ведет к уменьшению запасов сахара в корне, с одной стороны, и потере ими устойчивости, с другой (Красюк Н.А., 2010). Все это говорит о том, что в борьбе с кагатной гнилью защита корней от привяливания имеет первостепенное значение.

Одним из мероприятий по защите сахарной свеклы от кагатной гнили является возделывание устойчивых сортов (Петров В.А., 1987). Практикой доказано, что абсолютной устойчивости к фитопатогенным грибам не существует, так как при инфекционном процессе и у возбудителей, и у растений возникают морфологические и физиологические адаптации, в результате которых патогенный микроорганизм либо интенсивно развивается, либо, если защитные механизмы растения настолько сильны, что препятствуют распространению возбудителя, локализуется (Ван дер Планк Я., 1972; Дьяков Ю.Т., 1976; Румянцев С.Н., 1983; Flor H.H., 1971; Шевченко В.Н., 1982; Мутасов А.А., 2003).

Возбудители кагатной гнили - неспециализированные паразиты, что затрудняет выявление иммунных биотипов. В данном случае приобретает значение поиск форм с повышенным уровнем устойчивости, или выделение толерантных образцов (Красочкин В.Т., 1971; Буренин В.И. и др., 1989). Причем средне- и позднеспелые формы меньше поражаются кагатной гнилью (Зосимович В.П., 1982; Дука А.И., 1983). По результатам исследований Всероссийского НИИ сахарной свеклы, проведенным в 1997-2001 годах, установлена тенденция снижения устойчивости селекционного материала к кагатной гнили. Средний процент поражения российских сортов и гибридов составил 55,5%, немецких и голландских – 62,5%, шведских и бельгийских – 63,5% (Нуждина В.В., 2001).

Роль разнообразного исходного материала в селекции на устойчивость к болезням возникает в связи с увеличением однородности возделываемых сортов и гибридов. Генетическая однородность сортов и гибридов неизбежно создает предпосылки для появления новых агрессивных рас возбудителей.

Согласно А.В. Добротворцевой и др. (1982) различные сорта свеклы и даже партия одного и того же сорта, но выращенная в разных условиях ведут себя неодинаково при хранении. Отсюда возможна дифференциация исходного селекцион-

ного материала по признаку устойчивости к кагатной гнили и отбор устойчивых сортов. По данным В.Н.Шевченко (1982) однократный групповой отбор повышает устойчивость к кагатным гнилям в генеративном потомстве свеклы на 13,5%, а двукратный отбор до 25%. Близкие данные получены И.В. Поповой (1968). Устойчивость к кагатной гнили сохраняется в последующем потомстве (Власова Э.А., Сазонова Л.В., 1990).

Высокопродуктивные зарубежные гибриды поражаются болезнями сильнее, чем отечественные. Их очень трудно хранить более 80-100 суток без принудительного или хотя бы примитивного активного вентилирования (Красюк Н.А., 2010). По мнению специалистов, они практически не приспособлены к местным условиям. При наличии инфекционного начала почвенных микроорганизмов, особенно грибов рода *Fusarium*, поражаются корнеедом, паршой, фузариозной и другими видами гнилей. Отечественные сорта проходят отбор на устойчивость к болезням корневой системы при естественном заражении селекционного участка, и, следовательно, более адаптированы к условиям Республики Беларусь. Так, к пероноспорозу устойчивы сорта Межотненская 070, 080, 104, Уладовская улучшенная 752 и др.; к церкоспорозу устойчивы гибриды Первомайский полигибрид 9, Белорусская односемянная, Каведука, Ганусовская-85 и др, к кагатной гнили — Верхнячская 031, 072, Белоцерковская односемянная, Львовский гибрид. Ялтушковская односемянная, Ялтушковский гибрид, Первомайский гибрид обладают комплексной устойчивостью к болезням. При этом С.В.Буренин (2003) отмечает, что не установлена корреляция между устойчивостью к кагатной гнили и показателями продуктивности. Эти признаки не сцеплены, сочетаются свободно, поэтому отбор на устойчивость не должен ухудшать показатели продуктивности. В этой связи возрастает значимость исходного материала для селекции на устойчивость к болезням хранения, его углубленное изучение и дифференцировка.

Важным звеном в системе защиты столовой свеклы является подготовка семян. Приемы подготовки к посеву разнообразны, но все они направлены на оздоровление растений и повышение урожайности. Многими авторами рекомендуется высевать только районированные сорта сахарной свеклы с ис-

пользованием высококачественных и заблаговременно протравленных семян, еще лучше дражированных, в оболочку которых входят фунгициды, инсектициды, микроэлементы, ростовые вещества. При этом на 14% увеличивается всхожесть и снижается пораженность корнеплодов патогенами (Добротворцева А.В. и др, 1982; Александров Т.Ф. и др., 2001). В настоящее время хозяйства Республики Беларусь на 95% и более высевают сорта и гибриды сахарной свеклы зарубежной селекции. Семенной материал поступает дражированным. В его оболочке содержатся протравители фунгицидного и инсектицидного действия (Сорока С. В., 2003; Колосовская В.Г., 2004).

Для уменьшения поражения болезнями, по данным ряда авторов сахарную свеклу следует сеять сразу же после предпосевной обработки на глубину 2–3 см, когда почва прогреется до 5-6°C на глубине 8-10 см (при недостатки влаги на 1-1,5 см глубже) (Александров Т.Ф. и др, 2001; Дубич З.И., 2001).

Болезни часто поражают корни свеклы еще во время вегетации, а затем, попадая с загнившими корнями в кагаты, продолжают развиваться и образуют очаги кагатной гнили. Неблагоприятные погодные условия (высокое стояние грунтовых вод, повышенная влажность почвы) приводят к активизации почвенных патогенов, жаркая погода без дождей в период вегетации культуры нарушает питательный режим растений, снижает их тургор и приводит к угнетению и поражению корневыми гнилями.

Корневыми гнилями могут поражаться более 10% посевов сахарной свеклы (Karadimos D.A., Tsialtas T., Maslaris N., Parakosta D., 2006; Piszczek J., 2004). Бурая гниль корнеплодов весьма вредоносна на орошаемых землях и поражает 15-30% растений. Реже она встречается в Ставропольском и Краснодарском крае, на Украине. Потери урожайности от нее составляют 50%, а в отдельных случаях достигают 100%. По данным Н.А. Лукьянюка и др. (2011) в условиях Республики Беларусь в период вегетации развиваются фузариозные болезни корнеплодов (*Fusarium spp.*), бурая гниль (*Rhizoctonia solani Kuhn.*), красная гниль (*Rhizoctonia violaceae Tul.*), сухой склероциоз (*Sclerotium bataticola Taub.*), фомозная гниль (*Phoma betae Frank*), черная гниль корнеплодов (*Aphanomyces cochlioides Drechs.*), черный

сосудистый некроз (*Pythium irregulare* Buis.), вертициллиозное увядание (*Verticillium albo-atrum* Reinke et Berth.), парша корнеплодов (*Actinomyces* spp.), бактериальная, или бородавчатая парша (*Erwinia bussei* Magrou), рак корнеплодов (*Agrobacterium tumefaciens* Smith et Townsend.).

Пораженные в период вегетации корнеплоды при хранении могут существенно снизить лежкость корней. Это связано с тем, что попадая в бурты и кагаты, инфицированные корни создают очаги кагатной гнили. Установлено, что фунгициды Импакт, Рекс ДУО и Абакус способствуют снижению распространения болезней корнеплодов в период вегетации на 55%, 60% и 40% соответственно. Достаточно эффективным оказалось применение биопестицида Бетапротектин (в среднем за три года исследований от 8,1% до 16,1%). Причем отмечено достаточно сильное варьирование эффективности по годам. Так, в годы с умеренным развитием парши и других гнилей (2008, 2010) эффективность составляла 20-80%, однако в 2009, эпифитотийном году, она не превышала 10,3%. Наиболее эффективным оказалось применение Бетапротектина в фазу 2-4 листьев сахарной свеклы с нормой расхода 1 л/га (Лукьянюк Н.А. и др., 2011).

Защита растений во время вегетации от болезней (церкоспороза, ложной мучнистой росы, вирусных заболеваний), а также от почвообитающих вредителей, сорняков снижает степень поражения корнеплодов кагатной гнилью. Н.И.Салунской и др. (1959), Е.А.Соколовой, К.Л.Алексеевой (2007) установлено, что корнеплоды сильно пораженных растений церкоспорозом во время хранения легче загнивают и теряют больше сахара. По данным А.С.Корниенко (1986) сильное поражение сахарной свеклы церкоспорозом в период вегетации является причиной увеличения потерь от гнили после 85 суток хранения в 3,2 раза, а общих потерь сахара – в 1,7 раза. Ученые Всероссийского научно-исследовательского института сахарной свеклы и сахара Г.К. Подпоронова и В.В. Агеев указывают, что при средней степени поражения растений церкоспорозом урожайность свеклы снижается на 2 т/га, сахаристость — на 0,3 %; при сильной - соответственно на 6 т/га и 1,3 %. В процессе длительного хранения пораженной свеклы потери от гнили и общие потери сахара увеличиваются соответственно в 3 и в 2 раза.

Н.А.Красюк (2010) также приводит доказательства того, что свекла с плантаций, сильно пораженных церкоспорозом и другими болезнями, поражается кагатной гнилью при хранении сильнее, чем здоровая. Об этом свидетельствуют опыты Белоцерковской опытно-селекционной станции Украины.

Для органичения развития церкоспороза при 5% распространении проводится опрыскивание посевов фунгицидами. Против церкоспороза, рамуляриоза, фомоза, мучнистой росы растения обрабатывают препаратами Амистар Экстра, СК, Скор, КЭ, Понезим, КС, Феразим, КС, Трайдекс, ВДГ, Абакус, СЭ, Титул 390, ККР, Эхион, КЭ, Бампер супер 490, КЭ, Гритоль Экстра, КЭ, Колосаль Про, КМЭ, Алиот, КЭ, Альто супер, КЭ, Алерт С, СЭ, Харизма, КЭ, Импакт, СК, Страйк, КС, Импакт эксклюзив, КС, Менара, КЭ, Рекс С, КС, Рекс Дуо, КС, Топсином М, СП [Государственный реестр средств защиты растений, 2012]. В годы с умеренным развитием церкоспороза положительного влияния фунгицидных обработок на качество хранения корнеплодов не установлено, а в эпифитотийные годы развития церкоспороза при применении таких препаратов как Импакт и Рекс ДУО отмечается тенденция к снижению развития кагатной гнили (Лукиянюк Н.А. и др., 2011; Пожар З.А. и др., 1988).

Для надежного хранения сахарную свеклу убирают в оптимальные сроки - конец сентября начало октября (160-170 дней вегетации культуры) (Хелемский М.З., 1988). Во время уборки сахарной свеклы необходимо защищать корнеплоды от увядания (нельзя допускать разрыва между копкой, транспортировкой и укладкой на хранение). Необходимо обрезать листья на уровне шейки. Если после уборки сразу же не обрезать листья, они испаряют не только влагу, содержащуюся в листьях, но также часть влаги из корнеплодов, что приводит к снижению устойчивости к возбудителям болезни (Светов В.С. и др., 1986). Установлено, что подвяливание корнеплодов на 12-15% приводит к потере ими до 80% биологической устойчивости к возбудителям кагатной гнили. Совмещение подвяливания с повреждениями корнеплодов усиливает в 6-8 раз разложение свекловичной ткани (Красюк Н.А., 2010).

Процент поступления поврежденных корнеплодов на заводы ежегодно возрастает. Если в 1985 году на сахарные заводы механически поврежденных корнеплодов поступало до 7%, то в 1992 году их количество составило от 63,9 до 83%, а в настоящее время - более 90% (Красюк Н.А., 2010). Согласно наблюдениям профессоров М.З.Хеленского и С.Е. Фридмана, наличие корнеплодов свеклы с механическими повреждениями, даже незначительными, до 1,0%, существенно облегчает проникновение фитопатогенных микроорганизмов в корень. Как правило, абсолютное большинство случаев загнивания корней свеклы начинается на ранках, причем наиболее опасны в этом отношении рваные раны, возникающие при поломках корней. Такие корнеплоды не рекомендуется хранить в кагатах. Согласно существующему ГОСТу, процент механических повреждений корнеплодов свеклы не должен превышать 12,0%. В связи с этим Н.А.Лукиянюк и др. (2011) указывают на важность настройки техники при уборке корнеплодов. Так, при оценке корнеплодов после уборки свеклоуборочными комбайнами установлено, что 51,5% корнеплодов имели до 5% поврежденной поверхности, 20,3% - 5-10%, 12,5% - 10-25%, 8% - 25-50% и 7,7% - более 50% соответственно. Закладка на хранение такой свеклы в значительной степени способствует развитию кагатной гнили. Травмированные корнеплоды из-за повышенного дыхания теряют вес и сахар во время хранения, а во время переработки имеет место повышенное выщелачивание сахара (Красюк Н.А., 2010).

В странах - основных производителях свеклы и сахара установлено, что высота свободного падения корнеплодов при выгрузке и погрузке не должна превышать 0,3-0,4 м. Для смягчения ударных воздействий на ткани корнеплодов при загрузке-выгрузке подстилаются резиновые маты. Не всегда и не всякие ранения служат причиной возникновения и развития гнили. Раны, нанесенные острым ножом при обрезке свеклы во время уборки, быстро заживают, если корни не подвергаются при этом привяливанию (Красюк Н.А., 2010).

Не вывезенную во время уборки свеклу (в день уборки) укладывают в небольшие полевые кагаты - шириной 3,0 и высотой 2,5-3,0 м (Пересыпкин В.Ф., 1989). В этом случае корнеплоды меньше травмируются и в итоге выход сахара возрастает и

приносит дополнительный доход и свекловодам и сахарокombинатам (Курило С., 2006; Сапронов Н.М., Морозов А.Н., Цуканов В.Н., 2007).

Научно и практически доказано, что повышенная загрязненность свеклы землей отрицательно влияет на хранение ее в кагатах, так как даже в сухую погоду земля на свеклоприемных пунктах (при разгрузке свеклы) свеклоразгрузчиками отделяется только на 50%, а во влажную – почти не отделяется. Попавшая в кагат земля закупоривает межкорнеплодное пространство, что значительно ухудшает условия хранения свеклы. При повышении загрязненности землей с 2% до 10 % во время хранения увеличивается количество проросших корнеплодов на 35 %, загнивших — на 20 %, гнилой массы — на 0,5 %, а среднесуточные потери сахара возрастают на 0,04 % (Красюк Н.А., 2010).

После уборки свеклы необходимо проводить тщательную очистку полей от растительных остатков и перепашку плугом с предплужником на глубину 20-25см. Поскольку такие растения как осот, лебеда, щирица, мальва, одуванчик, вьюнок поражаются церкоспорозом и являются резервуарами инфекции проводят скашивание сорняков по обочинам дорог, чтобы избежать сохранения на них инфекции (Доброзракова Т.Л., 1974).

К числу факторов, обуславливающих снижение устойчивости свеклы к кагатной гнили, относится подмораживание корней. Практика показала, что корни, подвергшиеся замораживанию или подмораживанию, а затем оттаявшие, полностью теряют свою сопротивляемость к кагатной гнили и быстро загнивают. Поэтому при уборке, перевозке, укладке на хранение нельзя допускать подмораживания корнеплодов (Петров В.А., 1987; Хелемский М.З., 1988). Фитопатологическое обследование кагатов показывает, что их верхние слои содержат до 19 % корнеплодов, пораженных слизистым бактериозом за счет подмораживания при хранении. Внутри кагатов около 3,1 % корнеплодов поражено слизистым бактериозом вследствие подмораживания их в поле во время осенних заморозков при нахождении их в неукрытых полевых кагатах. Пораженные морозом ткани при оттаивании служат прекрасным питательным субстратом для фитопатогенных бактерий. Так, Н.А. Красюк (2010) указывает на то, что в свекле, пораженной слизистым бактериозом, уже на четвертый

день хранения в 50 раз увеличивается количество редуцирующих веществ, теряется 50 % сахарозы, на шесть единиц снижается чистота свекловичного сока. На десятый день потери сахарозы составляют 75 %, в 50 раз увеличивается содержание редуцирующих веществ, чистота свекловичного сока снижается до 42 %, и сырье становится непригодным к переработке для получения сахара. Поэтому частично примороженные или полностью замороженные корни не подлежат даже краткосрочному хранению и должны быть немедленно направлены на переработку до их размораживания.

Площадки, на которых устраивают кагаты, должны быть ровные с небольшим уклоном для стока воды. При понижении температуры воздуха кагаты целесообразно укрывать соломенными матами и другими утепляющими материалами. Оптимальная температура хранения в кагатах $+1 - +3^{\circ}\text{C}$. Необходимо обеспечить хорошую вентиляцию слоя корнеплодов. Если появляются очаги самосогревания, загнившие корни выбирают из кагатов, образовавшуюся яму добирают здоровыми (Петров В.А., Борзаковский И.В., 1985). С целью снижения воздействия солнечной радиации после закладки корнеплодов свеклы на хранение кагаты следует обработать свежегашенной известью из расчета 0,25% при опрыскивании или 0,15% при опыливанием (Корниенко А.С., 1986). Это позволяет создать на поверхности корнеплодов щелочную реакцию среды, препятствующую развитию грибных патогенов. При дезинфекции свеклы, особенно при сухой и теплой погоде, рекомендуется пользоваться преимущественно известковым молоком; применять его нельзя лишь при наличии ночных заморозков. Однако в полной мере защитить корнеплоды от кагатной гнили не удастся. Известью – пушонкой посыпается также площадка - основание кагата, из расчета 0,2 кг/м².

Сохранность корнеплодов зависит от степени зрелости, условий выращивания. Для уменьшения усушки, замедления ростовых процессов, особенно важно быстрое понижение температуры. Это учитывают при разработке требований к периодам хранения корнеплодов. Хотя оптимальный диапазон температур для заживления механических повреждений корнеплодов значительно выше $+16 - +20^{\circ}\text{C}$ (Растениеводство, 1997).

В зимний период наблюдают за состоянием свеклы и принимают меры к обеспечению оптимальной температуры в кагатах (+1 - +3°C).

Важное значение имеют защитные мероприятия, направленные на подавление жизнедеятельности фитопатогенной микрофлоры, вызывающей заболевания сельскохозяйственных культур при хранении. С этой целью традиционно применяются химические средства, однако использование этих препаратов приводит к загрязнению продукции остаточными количествами пестицидов и снижению ее товарных качеств, что инициирует поиск альтернативных способов защиты (Weller, 1988; Coe, 1990; Gutterson, 1990; Safiyazov et al., 1995).

В литературе известны данные об эффективности применения против возбудителей гнилей овощей бактерий и дрожжей-антагонистов, таких как *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas cepatica*, *Pseudomonas syringae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Debaryomyces hansenii* (Carrol et al., 1995; Kraus and Loper, 1995; Leifert et al., 1995; Assaka and Shod, 1996; Krebs et al., 1998; Ryder et al., 1999; Walsh et al., 2001; Toure et al., 2004; Leclere et al., 2005; Ongena et al., 2005; Stein, 2005; Haas and Defago, 2005). В патенте США 4764271 Pusey Paul (1988) описан штамм *Bacillus subtilis*, бесклеточная культуральная жидкость которого благодаря антибиотической активности ингибирует развитие коричневой плесени на фруктах. Украинскими учеными также разработан препарат против возбудителей болезней овощных культур на основе бацилл (Кудриш И.К., Рой А.А., 2002; Патент RU 2126210, 1999; Патент RU 2126209, 1999). Выделены бактерии рода *Bacillus*, *Serratia*, *Pseudomonas* (Патент N 94040730, 1999), отличающиеся способностью к подавлению роста грибов-фитопатогенов при низких температурах, характерных для условий содержания овощной продукции в хранилищах.

На территории Российской Федерации для снижения развития и распространения гнилостных процессов на различных сортах сахарной свеклы в условиях кагатов, против возбудителей кольцевой гнили картофеля, мягких гнилей картофеля и капусты применяются препараты Фитоспорин, Фитоспорин М, Бактофит, Бацилихин, основу которых составляют бактерии

Bacillus subtilis (Патент № 9509150, 1997; Патент RU 2099947, 1997; Патент RU 2294618, 2007; Григорьев П.С., Пусенкова Л.И., Кудаярова Р.А., 2008; Липская Н.И., 2008).

Российскими учеными против кагатной гнили сахарной свеклы также рекомендован препарат «Планриз». Его основой является штамм *Ps. fluorescens* AP-33 (Патент RU 2286666, 2006; Патент RU 2083109, 1995–1997; Широков А.В., Кудаярова Р.А., 2007; Пусенкова Л.И., 2006; 2007; Григорьев П.С., 2007).

Белорусскими исследователями показана целесообразность использования бактерий-антагонистов рода *Bacillus* для биологической защиты сахарной свёклы в процессе хранения (Коломиец Э.И. и др., 2006). В качестве основных критериев отбора штаммов-продуцентов предлагаются следующие: высокая антагонистическая активность к видовому составу возбудителей кагатной гнили, характерному для климатических условий Беларуси; способность к росту на относительно дешевых и простых по составу питательных средах; высокая скорость роста и активное спорообразование; способность развиваться в диапазоне температур от плюс 4°C до 10°C, соответствующих условиям хранения корнеплодов в кагатах или буртах в осенне-зимний период; устойчивость к щелочной реакции среды (рН 8 и более), что обеспечивает возможность совместной обработки корнеплодов химическим (известью) и биологическим препаратами.

Разработка технологий получения микробных препаратов на основе бактерий-антагонистов основывается на знании физиологических особенностей штаммов и изучении условий интенсификации ростовых процессов, к которым относятся компоненты питательной среды и их количественное соотношение, а также условия выращивания. Оптимальное соотношение всех параметров культивирования в значительной мере предопределяет способность микроорганизмов к синтезу биологически активных веществ с антимикробными свойствами. Для интенсификации роста бацилл в условиях глубинного культивирования большое внимание уделяется поддержанию заданной температуры культивирования, активной кислотности среды (рН), степени аэрации, скорости работы мешалки (Егоров Н.С., 1986; Перт С.Д., 1978; Беккер М.Е., 1978; ВиестурУ.Э., 1980; Чикилева А.Е., 2004; Коломиец Э.И. и др., 2002; Смирнов В.В., 1993).

Оптимизация состава питательной среды и условий культивирования позволяет более полно реализовать потенциальные возможности бактерий-антагонистов и повысить их фитозащитный потенциал. При проведении работ по оптимизации питательной среды для культивирования микроорганизмов большое внимание уделяется выбору источников углерода и азота. Бактерии рода *Bacillus* способны утилизировать разнообразные углеводы, накапливая биомассу и продуцируя метаболиты, обладающие фитозащитными свойствами. Однако не все источники углерода одинаково благоприятствуют активному росту бактерий и образованию антимикробных веществ. Легкоусвояемые углеводы способствуют быстрому росту культуры, но могут ингибировать биосинтез антибиотических веществ (Зимон А.Д., 1974). Показано, что фруктоза и сахароза являются более предпочтительными источниками углерода для синтеза антибиотика бактериями *B. subtilis*, чем глюкоза (Чикилева А.Е., 2004). S.Mizumoto, M.Hirai, M Shoda (2007) выявили, что наибольшее количество антибиотика итиурин А образуют бактерии *Bacillus subtilis* в питательной среде, которая содержит 80 г/л полипептона С и 67 г/л глюкозы.

Азотистые соединения также по-разному влияют на рост и антагонистическую активность аэробных спорообразующих бактерий. Различные виды бактерий рода *Bacillus* неодинаково относятся к источникам азота: для одних наиболее легко усвояемыми формами азота являются аммонийные соли и аминокислоты, в которых азот находится в восстановленной форме, другие с успехом могут использовать и окисленные формы азота, некоторые из них для биосинтеза антибиотика нуждаются именно в нитратном источнике азота (Егоров Н.С., 1986; Чикилева и др., 2004;). Использование микроорганизмами того или иного источника азота во многом зависит от источника углерода, находящегося в среде. При замене одного источника азота другим во многих случаях изменяется интенсивность роста и биосинтетическая активность бактерий. Для развития микроорганизмов и образования ими антибиотиков большое значение имеет количественное соотношение углерода и азота, содержащихся в среде. Установлено, что для наиболее благоприятного развития микроорганизмов баланс между углеродом и азотом в среде должен быть

приблизительно равен 20:1 (C:N=20). Однако такое соотношение углерода и азота не всегда благоприятно для образования антибиотика. В каждом конкретном случае необходимо подбирать соответствующие соотношения углерода и азота в среде (Егоров Н.С., 1986)

Для большинства бактерий температурный оптимум развития лежит в границах от 30°C до 37°C. Отклонение температуры в ту или другую сторону оказывает негативное влияние на активность ферментов, ответственных за продукцию антибиотиков, активность транспортных систем и на другие важные физиолого-биохимические функции микробной клетки. Как правило, следствием этого является замедление роста микроорганизмов и снижение выхода антибиотических веществ (Егоров Н.С., 1986).

Величина pH среды также оказывает значительное влияние на развитие бактерий и выход конечных продуктов их метаболизма. Многие бактерии лучше развиваются в нейтральной среде. Сильное подкисление, как и защелачивание питательных сред, могут приостановить развитие бактерий и прекратить процесс образования метаболитов. Следовательно, оптимизацию состава питательных сред необходимо осуществлять с таким расчетом, чтобы в процессе развития организмов активная кислотность среды поддерживалась в пределах нормы (Егоров Н.С., 1986; Коломиец Э.И., 2002).

Интенсивность аэрации является важным фактором, определяющим характер развития микроорганизмов и их биосинтетическую активность. Для каждого микроорганизма существует свой оптимум аэрации, который может изменяться в зависимости от состава питательной среды. Как правило, при использовании богатых питательных сред потребность микроорганизмов в кислороде возрастает (Егоров Н.С., 1986). На интенсивность аэрации влияют объем среды, условия перемешивания культуральной жидкости и температура.

При культивировании микроорганизмов в колбах на качалках степень аэрации среды зависит от числа оборотов качалки в минуту и объема культуральной жидкости: чем меньше объем среды в колбе, тем выше аэрация. Изменения окислительно-восстановительных условий приводит к изменениям процес-

сов обмена веществ у бактерий, в том числе и связанных с образованием антибиотиков (Чикилева А.Е., 2004). Повышение степени аэрации нередко приводит к увеличению скорости роста бактерий *Bacillus* и позволяет достичь экспоненциальной фазы развития культуры уже через 6 часов после засева. Однако высокий уровень аэрации не всегда подходит из-за обильного пенообразования, возникающего в процессе интенсивного роста культуры, а увеличение подачи воздуха при низких оборотах мешалки снижает выход биомассы (Перт С.Д., 1978).

При выращивании в ферментере необходимый для развития микроорганизмов режим массообмена обеспечивается комбинацией двух факторов – количеством подаваемого в аппарат воздуха и скоростью вращения мешалки. Насыщение культуральной среды кислородом в ферментере зависит от количества воздуха, пропускаемого через единицу объема среды, способа перемешивания, скорости работы мешалок, состава среды и концентрации растворенных в ней веществ, а также от температуры культивирования. Для большего насыщения жидкости кислородом воздуха используются барботеры и различные типы мешалок. Через барботеры воздух проходит тонкими струйками и под действием мешалки распыляется, что создает условия для большего насыщения среды кислородом. Обычно скорость вращения мешалки составляет 200-400 об/мин. Чем выше скорость вращения мешалки, тем значительнее насыщение культуральной жидкости кислородом воздуха. Перемешивание способствует равномерному распределению питательных веществ и перемещению их к клеткам микроорганизмов, а также удалению от поверхности клеток продуктов обмена и лизиса, обеспечивает более равномерное распределение кислорода в культуральной жидкости. Все это улучшает условия развития бактерий и повышает их физиолого-биохимическую активность (Егоров Н.С., 1986).

Активный рост и высокая антагонистическая активность культуры являются важнейшими признаками оптимизированного ферментационного процесса, обеспечивающего нормальные физиологические процессы усвоения источников питания при заданных условиях аэрации, температуры и pH.

Большое внимание уделяется изучению антимикробных метаболитов бактерий рода *Bacillus*. Согласно литературным данным (Phae et al., 1990, Asaka and Shoda, 1996; Szczech and Shoda, 2004) для подавления развития патогенных грибов некоторые штаммы *Bacillus subtilis* (RB14, RB14-C, RB14-CS) продуцируют антибиотики итурин А, суфрастин, плипастатин и др. Данные антибиотики подавляют развитие различных видов почвенных грибов, включая *Rhizoctonia solani*.

Для обеспечения эффективности и стабильности действия микробных препаратов, их производят в различных товарных формах – жидкой, гелевой, агаровой, сыпучей, гранулированной. Широкое применение получили композиции, которые изготавливают путем смешивания суспензии бактерий со стерильным носителем, в роли которого используют различные дисперсионные материалы, такие как торф, глинистые минералы вермикулит, каолин, бентонит, перлит, сульфат кальция, полиакриламидный гель, альгинат (Кудриш И.К., 2001). Жидкие препараты наиболее просты в приготовлении и применении, отличаются низкой стоимостью (Коломиец Э.И.; Кильчевская О.С.; Романовская Т.В., 2008), однако срок годности у них меньше, чем у порошкообразных и гранулированных форм. Внесение в состав жидких препаратов различных добавок - стабилизаторов, прилипателей, способствует сохранению титра, биологической эффективности в течение длительного времени (Зимон А.Д., 1974). Для придания адгезивных свойств в препараты добавляют казеиновый и силикатный клей, силикагель, сульфанола, декстрин, барду (Кудриш И.К., 2001; ЕПАА, 2007). Установлено, что добавление 4 % метилцеллюлозы к бактериям *B. subtilis* усиливает подавление роста мицелия гриба *Eutypa lata* на 22 % . Промоторы адгезии используются также в составе композиций, применяемых для защиты клубней картофеля при хранении (Патент RU 2242125, 2004). Так, препарат на основе бактерий *Brevibacillus laterosporus* содержит 11-15 % 10%-ого поливинилового спирта. Некоторые прилипатели (карбоксиметилцеллюлоза), наряду с повышением адгезивных свойств, защищают препарат от воздействия солнечных лучей и кислорода воздуха.

Вместе с тем, несмотря на имеющийся положительный опыт лабораторных исследований, биофунгициды еще не нашли

широкого практического применения в республике. Это обусловлено, с одной стороны, высокой стоимостью импортных препаратов, а с другой - их недостаточной эффективностью в отношении видового состава возбудителей кагатной гнили, характерного для климатических условий Беларуси. Кроме того, не разработана эффективная технология применения биопрепаратов, не изучена возможность их совместного использования с известковыми материалами с целью разработки комплексного подхода в решении проблемы снижения потерь сахарной свеклы при хранении.

Анализ литературных источников показал, что возбудителями кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы являются фитопатогенные грибы и бактерии. Комплекс защитных мероприятий включает обработку свеклы от болезней в период вегетации и хранения, однако применение химических средств на сахарной свекле ограничено санитарно-гигиеническими требованиями.

В связи с этим создание отечественного микробного препарата с учетом особенностей видового состава и патогенных свойств возбудителей кагатной гнили и разработка технологии его применения является необходимым условием повышения эффективности производства сахара в республике.

2. Распространенность и вредоносность кагатной гнили сахарной свеклы в Республике Беларусь

Кагатная гниль причиняет существенный вред, вызывая гниение корнеплодов сахарной свеклы в период их хранения. При этом снижается не только масса здоровой ткани, но и уменьшается сахаристость, что приводит к значительному недобору сахара. До настоящего времени в Республике Беларусь отсутствовала методика определения вредоносности этого заболевания. Нами проведены исследования, направленные на решение данной проблемы. При проведении учетов кагатной гнили установлено, что существующая 5-ти балльная шкала не позволяет точно оценить степень развития и вредоносности болезни, так как баллу 1 соответствует поражение корнеплода до 25%. Вместе с тем, наблюдения показывают, что большинство загнивших в период хранения корнеплодов имеют интенсивность поражения до 25%. Таким образом, при применении 5-балльной шкалы, мы автоматически занижаем степень развития заболевания.

Согласно разработанной нами 7-балльной шкале баллу 1 соответствует поражение поверхности корнеплода от 0 до 5% (таблица 1); баллу 2 – от 5% до 10%; баллу 3 - от 10% до 25%, что позволяет с большей точностью определить степень развития кагатной гнили в условиях Республики Беларусь.

Однако оценить вредоносность кагатной гнили только по показателю степени развития заболевания не представляется возможным, поскольку развиваясь на поверхности, патогенная микрофлора кагатной гнили проникает и в глубь корнеплода, в различной степени поражая его ткань.

Для установления корреляции между степенью развития заболевания и концентрацией пораженной массы ткани корнеплода проведены дополнительные исследования. Экспериментально доказано, что баллу 1 развития кагатной гнили соответствует в среднем 3 % гнилой массы корнеплода, баллу 2 – 8 %, баллу 3 – 20 %, баллу 4 – 36 %, баллу 5 – 66 % и баллу 6 – 87 % (таблица 1).

Таблица 1 – Модифицированная шкала учета развития кагатной гнили на корнеплодах сахарной свеклы

| Балл поражения | Интенсивность поражения корнеплода, % | Пораженная ткань корнеплода, % | Коэффициент вредоносности |
|----------------|---|--------------------------------|---------------------------|
| 0 | Здоровые корнеплоды | 0 | - |
| 1 | Единичные пятна на поверхности, поражено до 5% поверхности корнеплода | 3 | 0,03 |
| 2 | Поражено до 10% поверхности корнеплода | 8 | 0,08 |
| 3 | Поражено до 25% поверхности корнеплода | 20 | 0,2 |
| 4 | Поражено до 50% поверхности корнеплода | 36 | 0,36 |
| 5 | Поражено до 75% поверхности корнеплода | 66 | 0,66 |
| 6 | Поражено более 75% поверхности корнеплода | 87 | 0,87 |

В соответствии с предложенной шкалой вредоносность для каждого балла поражения может быть рассчитана по формуле:

$$B = \sum_{i=1}^6 \frac{U_i}{M} \times 100,$$

где B – вредоносность, %;

U_i - масса больной ткани корнеплодов при i-ом балле развития заболевания, кг;

M – общая масса корнеплодов в пробе.

При этом

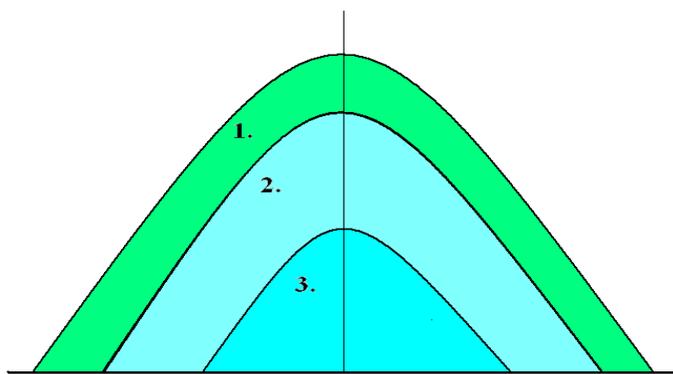
$$U_i = n_i \times m \times K_{вi},$$

где n_i - количество больных растений в пробе при i-том балле развития болезни, шт.;

m – средняя масса корнеплода в пробе;

$K_{вi}$ – коэффициент вредоносности i -того балла степени поражения ткани корнеплода.

Разработанная методика была использована для определения вредоносности кагатной гнили в кагатах и буртах Республики Беларусь (Свиридов А.В., Просвиряков В.В., 2009). Обследование буртов и кагатов показало, что корнеплоды по профилю кагата поражаются кагатной гнилью в различной степени. Наиболее интенсивное развитие заболевания отмечается в верхнем профиле кагата (рисунок 2). Это связано, с тем, что корнеплоды в верхнем ярусе сильнее подвержены влиянию погодных условий (подмораживанию, подвяливанию, намоканию). Интенсивность развития заболеваний в среднем и нижнем профилях находятся практически на одном уровне. Однако по мере продвижения к центральной оси кагата наблюдается некоторое увеличение поражаемости корнеплодов, обусловленное, вероятно, тем, что при укладке кагата в центральную часть просыпается большее количество остатков ботвы, мелких и травмированных корнеплодов, их частей, почва, способствующих развитию кагатной гнили. В этой связи при учете кагатной гнили нами рекомендован отбор проб корнеплодов с различных профилей кагата (бурта) (рис. 2).



1 – верхний профиль; 2 – средний профиль; 3 – нижний профиль
Рисунок 2 – Бурт (кагат) в разрезе

С применением модифицированной нами шкалы и методики отбора проб осуществлен учет фитосанитарной ситуации в кага-

тах. Исследования, проведенные в 2004-2007 гг. показали, что кагатная гниль интенсивно развивается в кагатах, находящихся на территории заводов республики, причем, развитие ее по зонам сахарных комбинатов республики не одинаково. Наиболее интенсивное развитие кагатной гнили наблюдается в кагатах Жабинковского и Скидельского сахарных заводов, где в 2004-2005 гг. распространенность кагатной гнили достигла 82,8-84,7 %, степень развития составила 32,6-36,5 %, вредоносность - 13,8-17,4 % (таблица 2). В целом, сезон 2004-2005 гг. был неблагоприятным в плане сохранности сахарной свеклы. Так, распространенность кагатной гнили колебалась от 75,8 % до 84,7 % при степени развития – от 27,8 % до 36,5 %. Вредоносность заболевания варьировала от 11,0 % до 17,4 %.

Самая низкая интенсивность поражения корнеплодов возбудителями кагатной гнили отмечена в условиях 2005-2006 гг. Распространенность болезни находилась на уровне от 51,7 % до 71,0 %, развитие - от 13,4 % до 25,3 %, при степени вредоносности – от 3,3 % до 9,0 %.

Таблица 2 - Распространенность, развитие и вредоносность кагатной гнили на сахарных комбинатах республики

| Место проведения обследования | Профиль кагата | Годы обследований | | | | | | | | |
|-------------------------------|--------------------|-------------------|------|------|-----------|------|-----|-----------|------|------|
| | | 2004-2005 | | | 2005-2006 | | | 2006-2007 | | |
| | | P,*% | R,*% | B,*% | P, % | R,% | B,% | P,% | R,% | B,% |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| Скидельский сахарный комбинат | верхний | 85,5 | 38,7 | 19,5 | 72,0 | 25,5 | 9,6 | 98,0 | 49,2 | 25,9 |
| | средний | 85,0 | 35,8 | 16,8 | 68,0 | 23,0 | 8,0 | 87,0 | 40,2 | 19,9 |
| | нижний | 83,5 | 35,1 | 16,0 | 70,0 | 25,0 | 9,3 | 91,0 | 44,0 | 22,1 |
| | Средний показатель | 84,7 | 36,5 | 17,4 | 70,0 | 24,5 | 9,0 | 92,0 | 44,4 | 22,6 |

| Продолжение таблицы 2 | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| Городейский сахарный комбинат | верхний | 77,5 | 28,7 | 11,6 | 58,0 | 16,7 | 4,7 | 85,0 | 33,8 | 14,9 |
| | средний | 76,0 | 28,7 | 11,9 | 50,0 | 12,7 | 2,9 | 83,0 | 29,7 | 11,3 |
| | нижний | 74,0 | 26,0 | 9,4 | 47,0 | 11,0 | 2,4 | 83,0 | 31,5 | 12,6 |
| | Средний показатель | 75,8 | 27,8 | 11,0 | 51,7 | 13,4 | 3,3 | 83,7 | 31,7 | 13,0 |
| Жабинковский сахарный завод | верхний | 84,5 | 34,7 | 15,3 | 76,0 | 28,3 | 11,5 | 93,0 | 44,0 | 23,4 |
| | средний | 82,0 | 32,3 | 13,8 | 69,0 | 24,7 | 9,2 | 88,0 | 38,3 | 19,0 |
| | нижний | 82,0 | 30,9 | 12,4 | 68,0 | 22,8 | 8,3 | 89,0 | 37,3 | 17,1 |
| | Средний показатель | 82,8 | 32,6 | 13,8 | 71,0 | 25,3 | 9,7 | 89,3 | 39,6 | 19,9 |
| Слуцкий сахарорафинадный комбинат | верхний | 81,5 | 32,5 | 14,1 | 55,0 | 16,8 | 5,2 | 93,0 | 42,8 | 21,9 |
| | средний | 78,0 | 29,5 | 11,4 | 53,0 | 15,7 | 4,4 | 85,0 | 35,5 | 15,9 |
| | нижний | 76,5 | 27,9 | 10,6 | 51,0 | 13,8 | 3,6 | 85,0 | 35,7 | 14,9 |
| | Средний показатель | 78,7 | 30,0 | 12,0 | 53,0 | 15,4 | 4,4 | 88,0 | 37,3 | 17,6 |

Примечание - R^* – распространенность заболевания, %;
 R^* - развитие заболевания, %; V^* – вредоносность заболевания, %.

Условия 2006-2007 гг. были неблагоприятны для сохранности корнеплодов. Осенние заморозки до -10°C привели к подмораживанию корнеплодов сахарной свеклы. Попав в кагаты такие корнеплоды начали разрушаться под воздействием микро-

организмов. Произошло повышение температуры, что способствовало интенсивному развитию патогенов грибного и бактериального происхождения.

Таким образом, кагатная гниль в условиях Республики Беларусь ежегодно причиняет значительный ущерб. Распространенность заболевания колеблется от 70% до 92% при развитии – 13,4 - 44,4% в зависимости от года. Вредоносность болезни в условиях 2004 – 2007 гг. составила 3,3 – 22,6%.

3. Видовой состав и патогенность возбудителей кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы

Несмотря на то, что кагатная гниль корнеплодов сахарной свеклы получила широкое распространение на территории Республики Беларусь, видовой состав возбудителей этого заболевания изучен недостаточно полно. В последние годы в значительной степени изменилась технология выращивания сахарной свеклы, набор сортов и гибридов, возделываемых в условиях республики, необходимость выделения, идентификации и изучения патогенов сахарной свеклы не вызывает сомнения.

В результате проведенных нами из пораженных тканей корнеплодов сахарной свеклы выделены следующие грибы: *Penicillium expansum* Link, *Fusarium solani* (Mart) App.et Wr, *Alternaria tenuis* Nees., *Botrytis cinerea* Pers. Et Fr., *Sclerotinia sclerotiorum* (lib) de Bary, *Fusarium oxysporum* Schlecht (Свиридов А.В., Просвиряков В.В..2006) (таблица 3).

Таблица 3 - Морфологические особенности возбудителей кагатной гнили

| Возбудитель | Диаметр колонии, мм на 5 сутки | Масса мицелия, мг на 10 сутки | Окраска | |
|-----------------------|--------------------------------|-------------------------------|----------------|--------------------|
| | | | колонии | среды |
| <i>P.expansum</i> | 64,7 | 95,3 | Темно-зеленая | Дымчатая |
| <i>F.solani</i> | 95,3 | 191,2 | Малиновая | Красная |
| <i>A.tenuis</i> | 57,1 | 128,8 | Оливково-серая | Черная |
| <i>B.cinerea</i> | 52,0 | 174,7 | Мышино-серая | Мышино-серая |
| <i>S.sclerotiorum</i> | 95,3 | 167,7 | Белая | Голубовато-зеленая |
| <i>F.oxysporum</i> | 76,0 | 113,4 | Белая | Темно-кремневая |

Согласно данным таблицы 3 возбудители кагатной гнили при росте на агаризованной катофельной среде характеризуются

различными размерами колоний и интенсивностью роста мицелия, продуцируют широкий спектр метаболитов, о чем свидетельствует разноцветная окраска колоний и агаризованных питательных сред. Так, гриб *S.sclerotiorum* образует колонии белого цвета диаметром свыше 95 мм. Масса мицелия на 10 сутки роста достигает величины 167,7 мг. Окраска питательной среды - голубовато-зеленая (рисунок 3).



Рисунок 3 - Чистая культура гриба *S.sclerotiorum*

В процессе роста культуры на поверхности питательной среды образуется стелюющей мицелий (рисунок 4). На грибнице первоначально закладываются склероции белого цвета с каплями экссудата, которые впоследствии приобретают черный цвет.



Рисунок 4 - Мицелий и склероций гриба *S.sclerotiorum* (увеличение 40x7)

Гриб *F.solani* на картофельной среде формирует колонии малинового цвета 95,3 мм в диаметре и окрашивает среду в

красный цвет (рисунок 5). Масса мицелия на 10-е сутки достигает 191,2 мг.

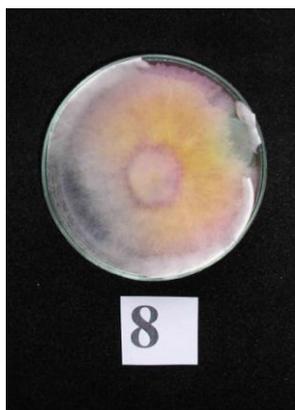


Рисунок 5 - Чистая культура гриба *F. solani*

Рост *F. solani* характеризуется образованием пышного мицелия, на котором формируются конидиеносцы, конидии и хламидоспоры (рисунок 6).



Рисунок 6 - Мицелий и макроконидии гриба *F. solani* (увеличение 40x7)

Гриб *P. expansum* на 5 сутки роста на агаризованной картофельной среде образует колонии темно-зеленого цвета (рисунок 7) диаметром до 65 мм. Мицелий низко стелющийся, на простых конидиеносцах формируется большое количество



Рисунок 7 - Чистая культура гриба *P. expansum*

одноклеточных, округлых конидий в виде цепочек (рисунок 8).



Рисунок 8 - Мицелий, конидиеносец и конидии гриба *P. expansum* (увеличение 40x7)

A. tenuis на агаризованной картофельной среде образует оливково–серые колонии (рисунок 9), диаметром на пятые сутки 57,1 мм. Мицелий поднимается над средой на 3-4 мм.

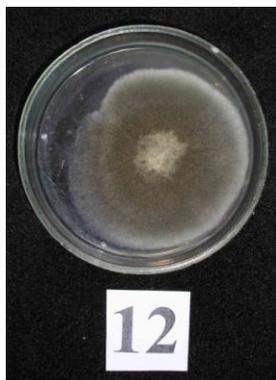


Рисунок 9 - Чистая культура гриба *A.tenuis*

Мицелий гриба многоклеточный. На нем образуются простые конидиеносцы. Конидии многоклеточные, коричневого цвета, имеющие как продольные, так и поперечные перегородки (рисунок 10). Конидии собраны в цепочки.

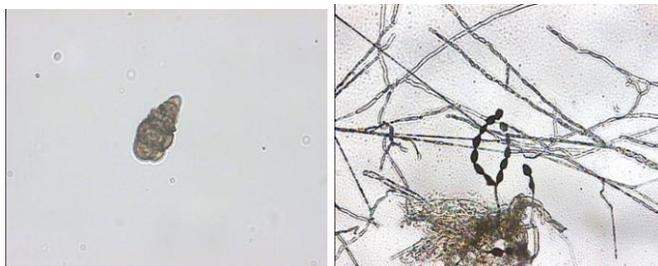


Рисунок 10 - Мицелий, конидиеносцы и конидии гриба *A.tenuis*
(увеличение 40x7)



Рисунок 11 - Чистая культура гриба *B. cinerea*

Мицелий гриба многоклеточный. На грибнице образуются конидиеносцы, одноклеточные округлые конидии, собранные в головки и склероции черного цвета (рисунок 12).

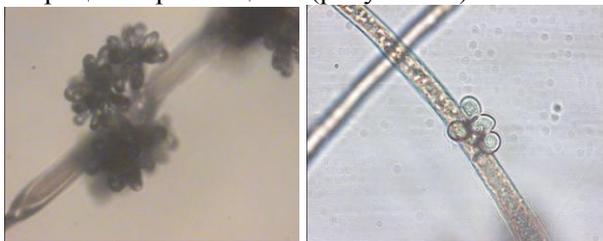


Рисунок 12 - Мицелий, конидиеносцы и конидии гриба *B. cinerea* (увеличение 40x7)

Еще одним патогеном корнеплодов сахарной свеклы является гриб *F. oxysporum*. Он на питательной среде образует стелюющийся мицелий белого цвета (рисунок 13).



Рисунок 13 - Чистая культура гриба *F.oxysporum*

Диаметр колонии гриба на пятые сутки составляет 76,0 мм. На мицелии образуются бесцветные конидии с поперечными перегородками (рисунок 14).

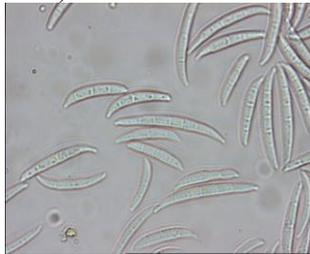


Рисунок 14 - Конидии гриба *F.oxysporum* (увеличение 40x7)

При оценке патогенных свойств выделенных штаммов установлено, что все они вызывают поражение сахарной, кормовой и столовой свеклы (таблица 4). Причем максимальную степень агрессивности по отношению к корнеплодам свеклы проявляют грибы *S.sclerotiorum*, *P.expansum*, *F.oxysporum*. Так, степень поражения ткани ломтика корнеплода столовой свеклы грибом *S.sclerotiorum* составляет 4,75 балла, кормовой свеклы - 3,75 балла, сахарной свеклы 3,0 балла, при степени развития мицелия 2,25, 0,75 и 1,5 балла соответственно.

Таблица 4 - Патогенность возбудителей кагатной гнили

| Латинское название возбудителя | Развитие мицелия на поверхности ломтика корнеплода, балл | | | Степень поражения ткани ломтика корнеплода, балл | | |
|--------------------------------|--|----------|----------|--|----------|----------|
| | сахарная | кормовая | столовая | сахарная | кормовая | столовая |
| Контроль - без заражения | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>P.expansum</i> | 1,75 | 2,25 | 3 | 2,75 | 3,5 | 3,5 |
| <i>F.solani</i> | 0,75 | 1,25 | 3,75 | 1,0 | 2,5 | 3,0 |
| <i>A.tenuis</i> | 1,0 | 1,75 | 3,0 | 1,5 | 1,5 | 3,5 |
| <i>B.cinerea</i> | 0,75 | 0,5 | 0,5 | 1,5 | 2,0 | 1,5 |
| <i>S.sclerotiorum</i> | 1,5 | 0,75 | 2,25 | 3,0 | 3,75 | 4,75 |
| <i>F.oxysporum</i> | 1,75 | 2,0 | 2,75 | 2,0 | 2,25 | 3,25 |

Менее агрессивными оказались *B.cinerea*, *F.solani*, *A.tenuis*. Пораженность ломтиков корнеплодов столовой, кормовой и сахарной свеклы грибом *B.cinerea* была на уровне 1,5; 2 и 1,5 балла соответственно при незначительной степени развития мицелия.

Таким образом, возбудителями кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы в условиях Республики Беларусь являются *F.solani*, *F.oxysporum*, *S.sclerotiorum*, *B.cinerea*, *A.tenuis* и *P.expansum*, которые кроме сахарной поражают корнеплоды кормовой и столовой свеклы.

4. Выделение и отбор высокоактивных штаммов бактерий-антагонистов фитопатогенов кагатной гнили сахарной свёклы

При разработке биологических средств защиты сахарной свёклы от кагатной гнили начальным этапом является поиск штаммов микроорганизмов, способных контролировать рост возбудителей этой болезни, и в первую очередь наиболее распространенных фитопатогенных грибов *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* и *Fusarium redolens*. Для решения указанной задачи нами были проведены исследования по двум направлениям, включающим выделение микроорганизмов-антагонистов из различных природных и техногенных источников, а также скрининг штаммов бактерий родов *Bacillus* и *Pseudomonas* из коллекции лаборатории средств биологического контроля Института микробиологии НАН Беларуси (Коломиец Э.И. и др., 2007; Коломиец Э.И. и др., 2007). Согласно данным первичного отбора, проведенного методом точечного тестирования на агаризованных питательных средах, 15 бактериальных культур проявили выраженную антагонистическую активность к испытанным фитопатогенам (таблица 5).

Таблица 5 - Антифунгальная активность исследуемых культур бактерий (метод точечного тестирования)

| № n/n | Изоляты | Диаметр зоны задержки роста культур, мм | | |
|----------|--------------------------|---|--------------------|-------------------|
| | | <i>F. redolens</i> | <i>P. expansum</i> | <i>B. cinerea</i> |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | <i>Ps. aurantiaca</i> 9 | 9* | - | 18 |
| 2 | <i>B. pumilus</i> 263 | - | - | - |
| 3 | <i>B. subtilis</i> 9/2 | 11 | - | 20 |
| 4 | <i>B. subtilis</i> 17/14 | 12 | 18 | 24 |
| 5 | <i>B. subtilis</i> 8/12 | 16 | 19 | 20 |
| 6 | <i>B. subtilis</i> 9/6 | 18 | 17 | 22 |
| 7 | <i>B. subtilis</i> 10/19 | 22 | 19 | 19 |
| 8 | <i>B. subtilis</i> M-22 | 23 | 18 | 19 |

| Продолжение таблицы 5 | | | | |
|-----------------------|-------------------------|----|----|----|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 9 | <i>B. subtilis</i> М-19 | 20 | 19 | 21 |
| 10 | Гр.1 | 10 | 14 | 15 |
| 11 | Гр.2 | 19 | 16 | 15 |
| 12 | Гр.3 | 23 | 22 | 22 |
| 13 | Гр.4 | 17 | 16 | 22 |
| 14 | Гр.5 | 11 | 13 | 14 |
| 15 | Гр.6 | 23 | 20 | 21 |

Примечание: * чистая зона (полное подавление роста грибов)

Далее отобранные антагонисты выращивали в глубинной культуре на среде Мейнелла и оценивали их антимикробную активность методом лунок (таблица 6).

Таблица 6 - Антифунгальная активность исследуемых культур бактерий (метод лунок)

| № n/n | Изоляты | Диаметр зон задержки роста тест-культур, мм | | |
|----------|--------------------------|---|--------------------|-------------------|
| | | <i>F. redolens</i> | <i>P. expansum</i> | <i>B. cinerea</i> |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | <i>Ps. aurantiaca</i> 9 | 19,5* | 15,0* | 22,0* |
| 2 | <i>B. pumilus</i> 263 | 10,5 | 11,0 | 23,0 |
| 3 | <i>B. subtilis</i> 9/2 | 15,5 | 15,5* | 36,0 |
| 4 | <i>B. subtilis</i> 17/14 | 21,0 | 30,0 | 46,0 |
| 5 | <i>B. subtilis</i> 8/12 | 22,0 | 25,5 | 40,0 |
| 6 | <i>B. subtilis</i> 9/6 | 18,5 | 25,0 | 41,5 |
| 7 | <i>B. subtilis</i> 10/19 | 22,0 | 28,0 | 42,0 |
| 8 | <i>B. subtilis</i> М-22 | 23,0 | 29,0 | 40,0 |
| 9 | <i>B. subtilis</i> М-19 | 20,0 | 30,0 | 40,0 |
| 10 | Гр.1 | 21,0 | 17,0 | 30,0 |
| 11 | Гр.2 | 16,0 | 12,0 | 38,0 |

| Продолжение таблицы 6 | | | | |
|-----------------------|------|------|-------|------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 12 | Гр.3 | 18,5 | 14,5* | 43,0 |
| 13 | Гр.4 | 18,0 | 19,0 | 45,0 |
| 14 | Гр.5 | 12,5 | - | 25,0 |
| 15 | Гр.6 | 20,5 | 16,0* | 44,5 |

Примечание: *чистая зона (полное подавление роста грибов)

Так, для большинства антагонистов характерным было либо полное отсутствие роста изученных патогенов, либо ослабление их роста в диапозоне зон шириной от 11 до 46 мм.

Среди отобранных для дальнейшего изучения образцов бактерий были неидентифицированные бактерии, выделенные в Гродненском государственном аграрном университете (ГГАУ). В связи с перспективностью отобранных изолятов Гр.3 и Гр.6 в качестве агентов биологического контроля фитопатогенов сахарной свёклы нами были изучены их культурально-морфологические и физиолого-биохимические свойства с целью идентификации (табл.7).

В результате проведенных исследований установлено, что бактерии представляют собой грамположительные подвижные палочки размером $0,6 - 0,7 \times 1,0 - 1,3$ мкм с округлыми концами, эллипсоидная эндоспора расположена в клетке центрально, спорангиум не раздут. Штаммы образует на МПА округлые колонии 3-5 мм в диаметре серо-белого цвета, плоские, шероховатые, матовые с зубчатым краем. Перечисленные признаки позволяют отнести выделенные штаммы к I группе рода *Bacillus*. Изоляты являются облигатными аэробами, обнаруживают положительную реакцию в тестах на каталазу, Фогес-Проскауэра, активно разжижают желатин, восстанавливают нитраты до нитритов, гидролизуют крахмал, утилизируют цитраты. Культуры различаются между собой по способности использовать углеводы. Хорошо растут при 5 и 7 % NaCl в питательной среде и не растут при 10 % NaCl, могут развиваться при температуре до 50°C. Анализ дифференцирующих признаков изолятов бактерий Гр.3 и Гр.6 позволяет их идентифицировать как *Bacillus subtilis*.

Таблица 7 – Морфологические и физиолого-биохимические свойства изолятов бактерий

| Признаки и свойства | Изоляты | |
|-------------------------------------|---------------|---------------|
| | Гр.3 | Гр.6 |
| Колонии при росте на МПА: | | |
| форма | округлая | округлая |
| цвет | серо-белый | серо-белый |
| профиль | плоский | плоский |
| поверхность | шероховатая | шероховатая |
| край | зубчатый | зубчатый |
| блеск и прозрачность | матовая | матовая |
| Окраска по Граму | + | + |
| Форма клеток | палочковидные | палочковидные |
| Подвижность | + | + |
| Спорангиум | эллипсоидный | эллипсоидный |
| Анаэробный рост | | |
| Каталазная активность | - | - |
| Тест Фогес-Проскауэра | + | + |
| Восстановление нитратов до нитритов | + | + |
| Гидролиз крахмала | + | + |
| Разжижение желатина | + | + |
| Кислотообразование из сахаров: | + | + |
| L-арабинозы | | |
| D-глюкозы | ± | + |
| D-ксилозы | + | + |
| D-маннита | ± | + |
| D-маннозы | + | + |
| D-мальтозы | + | + |
| сахарозы | + | + |
| Утилизация цитрата | + | + |
| Рост в: | + | + |
| 5 %-ном NaCl | | |
| 7 %-ном NaCl | + | + |
| 10 %-ном NaCl | + | + |
| Рост при температуре: | - | - |
| 45°C | + | + |
| 50°C | + | + |
| 55°C | - | - |

Примечание: “+” – наличие, “-” – отсутствие, “±” – слабое проявление признака

По результатам проведенной оценки хорошие результаты показали 4 штамма бактерий, обладающих высокой антагонистической активностью к фитопатогенным грибам, возбудителям кагатной гнили сахарной свеклы: *B. subtilis* 10/19, *B. subtilis* М-22, изоляты Гр.3 и Гр.6. По специфике своего действия на фитопатогены (образование чистой зоны в результате полного подавления роста грибов) представляет интерес и штамм *Ps. aurantiaca* 9.

Для изучения влияния метаболитов, выделяемых бактериями в питательную среду, были выбраны семь культур антагонистов, отобранных в опытах *in vitro* и *in vivo*. Исследования, проведенные нами с использованием модифицированного метода агаровых пластинок, выявили ингибирование прорастания спор и развития мицелия фитопатогенных грибов под действием метаболитов исследуемых бактерий-антагонистов. Установлено, что КЖ бактерий вызывает деформацию спор и ростовых трубок грибов *P. expansum* и *B. cinerea*, сопровождающуюся вакуолизацией и появлением опухолеобразных вздутий (табл. 8, рис. 15, 16).

Таблица 8 - Влияние метаболитов бактерий-антагонистов на прорастание спор фитопатогенных грибов *B. cinerea* и *P. expansum*

| Антагонист | Вакуолизация спор и ростовых трубок грибов | |
|--------------------------|--|--------------------|
| | <i>B. cinerea</i> | <i>P. expansum</i> |
| <i>B. subtilis</i> 10/19 | + | + |
| <i>B. subtilis</i> М-22 | + | + |
| <i>B. subtilis</i> Гр.6 | + | + |
| <i>B. subtilis</i> Гр.3 | – | + |
| <i>Ps. aurantiaca</i> 9 | – | – |
| <i>B. subtilis</i> 12А | + | – |
| <i>B. subtilis</i> 14S | + | – |

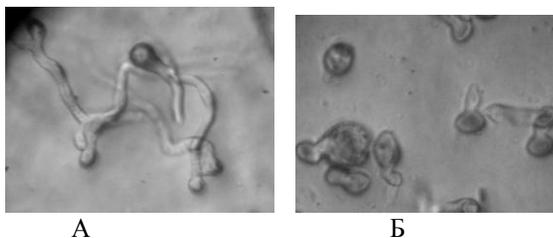


Рисунок 15 - Ингибирование прорастания спор *B. cinerea* под действием метаболитов бактерий *B. subtilis* 10/19 (А – контроль без антагониста, Б – споры гриба в присутствии антагониста)

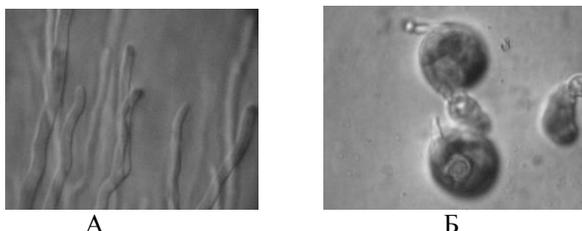


Рисунок 16 - Ингибирование прорастания спор *P. expansum* под действием метаболитов бактерий *B. subtilis* 10/19 (А – контроль без антагониста, Б – споры гриба в присутствии антагониста)

Метаболиты бактерий-антагонистов ингибируют рост субстратного и воздушного мицелия тест-объектов (табл. 9, рис. 17,18,19). Следует отметить, что гифы мицелия более чувствительны к действию антагонистов по сравнению со спорами.

Таблица 9 - Влияние метаболитов бактерий-антагонистов на рост мицелия фитопатогенных грибов *B. cinerea*, *P. expansum* и *F. redolens*

| Антагонист | Степень ингибирования роста мицелия грибов | | |
|--------------------------|--|--------------------|--------------------|
| | <i>B. cinerea</i> | <i>P. expansum</i> | <i>F. redolens</i> |
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| <i>B. subtilis</i> 10/19 | +++ | +++ | +++ |
| <i>B. subtilis</i> М-22 | ++ | +++ | +++ |
| <i>B. subtilis</i> Гр.6 | ++ | ++ | +++ |
| <i>B. subtilis</i> Гр.3 | +++ | ++ | +++ |

| Продолжение таблицы 9 | | | |
|-------------------------|----|---|----|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| <i>Ps. aurantiaca</i> 9 | + | + | – |
| <i>B. subtilis</i> 12A | ++ | + | ++ |
| <i>B. subtilis</i> 14S | ++ | + | ++ |

Примечание: степень ингибирования роста мицелия грибов бактериями: +++ сильное, ++ среднее, + слабое, – отсутствие признака

Как видно из приведенных данных, наибольшей активностью в отношении спор и мицелия фитопатогенов сахарной свёклы обладает штамм *B. subtilis* 10/19. Изменения в морфологии и росте грибов ведут к нарушению их нормального цикла развития, что согласуется с результатами, полученными на искусственной питательной среде методом точечного тестирования и методом лунок.

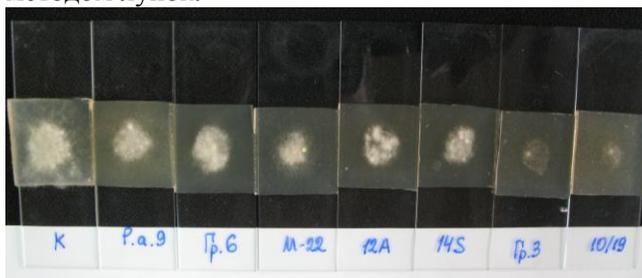


Рисунок 17 - Ингибирование роста мицелия *B. cinerea* под действием метаболитов бактерий-антагонистов (К – контроль без антагониста)

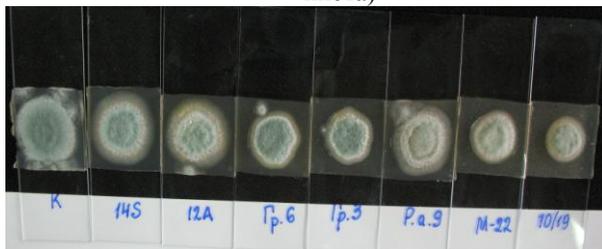


Рисунок 18 - Ингибирование роста мицелия *P. expansum* под действием метаболитов бактерий-антагонистов (К – контроль без антагониста)

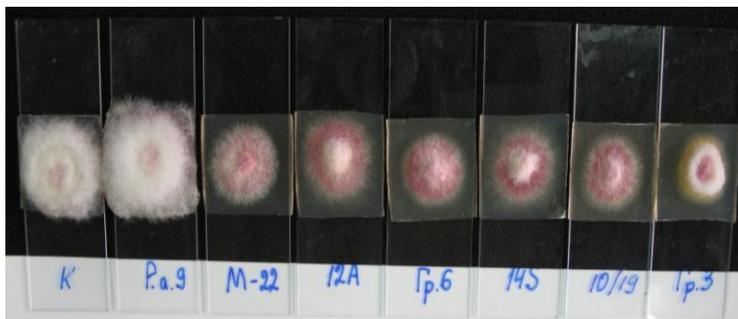


Рисунок 19 - Ингибирование роста мицелия *F. redolens* под действием метаболитов бактерий-антагонистов (К – контроль без антагониста)

Таким образом, изученные антагонисты проявляют четко выраженный антибиоз в отношении возбудителей кагатной гнили, проявляющийся в нарушении прорастания спор, развития ростовых трубок и мицелия фитопатогенных грибов.

Эффективность биологических средств защиты растений, также как и химических, определяется концентрацией действующего вещества. Нами изучено влияние различных концентраций КЖ бактерий-антагонистов на степень подавления роста возбудителей кагатной гнили в чистой культуре. Установлено, что наибольшую антагонистическую активность против патогенных грибов *S.sclerotiorum*, *Fusarium spp.* и *P.expansum* проявляли штаммы *B. subtilis* 10/19, *B. subtilis* М-22, *B. subtilis* Гр.3 (табл. 10), причем эффективность их воздействия на тест-культуры увеличивалась при повышении концентрации КЖ в рабочем растворе.

Следует отметить, что большинство исследованных бактерий-антагонистов не обеспечивают полное подавление роста патогенных грибов.

В наибольшей степени это относится к возбудителям фузариозов, проявивших особую устойчивость к бактериальному воздействию.

Таблица 10 – Влияние бактериальных клеток разной концентрации на развитие возбудителей кагатной гнили *in vitro*

| Бактерия-антагонист | Концентрация, % | Патоген | | | | | | |
|----------------------------|-----------------|---------------------|----|----|----|-----|-----|-----|
| | | 1* | 5* | 6* | 8* | 12* | 17* | 19* |
| | | диаметр мицелия, мм | | | | | | |
| <i>Ps. aurantiaca</i> 9 | 0,5 | 9 | 18 | 40 | 22 | 20 | 18 | 40 |
| | 1 | 8 | 16 | 40 | 21 | 19 | 14 | 40 |
| | 2 | 8 | 17 | 28 | 22 | 15 | 10 | 38 |
| <i>B. subtilis</i> M 22 | 0,5 | 7 | 11 | 13 | 25 | 22 | 7 | 30 |
| | 1 | 6 | 11 | 10 | 23 | 18 | 5 | 27 |
| | 2 | 4 | 12 | 9 | 21 | 12 | 0 | 21 |
| <i>B. subtilis</i> Гр. 3 | 0,5 | 6 | 13 | 40 | 24 | 17 | 5 | 10 |
| | 1 | 5 | 13 | 40 | 20 | 15 | 6 | 8 |
| | 2 | 4 | 6 | 11 | 18 | 10 | 4 | 7 |
| <i>B. subtilis</i> Гр. 6 | 0,5 | 7 | 16 | 38 | 20 | 20 | 3 | 40 |
| | 1 | 5 | 15 | 35 | 21 | 13 | 3 | 37 |
| | 2 | 4 | 10 | 36 | 18 | 7 | 2 | 23 |
| <i>B. subtilis</i> 10/19 | 0,5 | 10 | 14 | 8 | 20 | 12 | 5 | 20 |
| | 1 | 8 | 5 | 7 | 19 | 9 | 0 | 17 |
| | 2 | 4 | 6 | 5 | 19 | 7 | 0 | 14 |
| Фитопротектин | 0,5 | 7 | 22 | 40 | 22 | 23 | 40 | 29 |
| | 1 | 5 | 20 | 40 | 18 | 11 | 40 | 29 |
| | 2 | 3 | 17 | 8 | 15 | 10 | 40 | 25 |
| Фрутин | 0,5 | 6 | 17 | 40 | 17 | 20 | 40 | 26 |
| | 1 | 4 | 18 | 40 | 13 | 13 | 40 | 27 |
| | 2 | 1 | 15 | 40 | 12 | 10 | 40 | 25 |
| Стандарт - Дерозал | 0,5 | 0 | 8 | 0 | 0 | 22 | 0 | 0 |
| Контроль - стерильная вода | | 15 | 25 | 40 | 37 | 24 | 40 | 36 |

Примечание: 1* - *Phoma betae*, 5* - *Fusarium spp*, 6* - *P.expansum*, 8* - *F.solani*, 12* - *Alternaria tenuis*, 17* - *S.sclerotiorum*, 19* - *F.oxysporum*

Изучение влияния различных концентраций КЖ бактериальных антагонистов на степень поражения ткани корнеплодов сахарной свеклы показало, что практически все опытные образцы, содержащие 0,5 % КЖ, не оказывали существенного влияния на патологический процесс, вызванный возбудителями кагатной гнили (табл. 11).

Таблица 11 – Влияние бактерий-антагонистов разной концентрации на поражение ломтиков корнеплода возбудителями кагатной гнили, балл

| Бактерия-антагонист | Концентрация, % | Патоген | | | | | | |
|----------------------------|-----------------|-------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | 1* | 5* | 6* | 8* | 12* | 17* | 19* |
| | | степень мацерации ткани, балл | | | | | | |
| <i>Ps. aurantiaca</i> 9 | 0,5 | 0 | 4,0 | 3,3 | 3,0 | 3,5 | 4,7 | 2,3 |
| | 1 | 0 | 3,0 | 2,0 | 2,7 | 2,8 | 4,7 | 1,7 |
| | 2 | 0 | 2,5 | 1,0 | 2,3 | 2,0 | 4,3 | 1,0 |
| <i>B. subtilis</i> M 22 | 0,5 | 0 | 3,5 | 3,0 | 2,7 | 2,0 | 4,0 | 4,0 |
| | 1 | 0 | 3,0 | 1,3 | 2,0 | 1,3 | 4,0 | 1,7 |
| | 2 | 0 | 2,5 | 0 | 1,3 | 1,0 | 2,3 | 1,0 |
| <i>B. subtilis</i> Гр. 3 | 0,5 | 0 | 3,7 | 3,0 | 3,3 | 3,0 | 4,7 | 2,3 |
| | 1 | 0 | 3,4 | 2,0 | 2,3 | 2,5 | 3,7 | 1,7 |
| | 2 | 0 | 2,1 | 0,7 | 2,3 | 1,5 | 2,3 | 0,7 |
| <i>B. subtilis</i> Гр. 6 | 0,5 | 0 | 4,0 | 2,7 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 2,7 |
| | 1 | 0 | 2,8 | 0 | 3,3 | 3,2 | 2,3 | 2,3 |
| | 2 | 0 | 2,0 | 0 | 2,7 | 2,8 | 2,3 | 1,3 |
| <i>B. subtilis</i> 10/19 | 0,5 | 0 | 3,3 | 4,0 | 2,3 | 4,0 | 4,7 | 2,0 |
| | 1 | 0 | 2,5 | 1,0 | 1,3 | 2,7 | 4,3 | 1,0 |
| | 2 | 0 | 1,5 | 0 | 1,0 | 1,3 | 2,3 | 0,7 |
| Фитопротектин | 0,5 | 0 | 4,0 | 2,0 | 4,0 | 4,0 | 4,7 | 2,3 |
| | 1 | 0 | 3,3 | 0,7 | 3,7 | 3,5 | 3,7 | 1,7 |
| | 2 | 0 | 2,9 | 0 | 2,7 | 3,0 | 3,3 | 1,0 |
| Фрутин | 0,5 | 0 | 4,0 | 3,7 | 3,5 | 4,0 | 5,0 | 3,0 |
| | 1 | 0 | 3,1 | 3,0 | 3,0 | 3,3 | 4,3 | 1,7 |
| | 2 | 0 | 2,5 | 0 | 2,3 | 2,9 | 3,3 | 1,3 |
| Стандарт - Дерозал | 0,5 | 0 | 0,3 | 0 | 0 | 4,3 | 0 | 0,3 |
| Контроль - стерильная вода | | 1,0 | 4,0 | 4,0 | 3,8 | 4,0 | 4,0 | 4,0 |

Примечание: 1* - *Phoma betae*, 5* - *Fusarium spp*, 6* - *P.expansum*, 8* - *F.solani*, 12* - *Alternaria tenuis*, 17* - *S.sclerotiorum*, 19* - *F.oxysporum*

Достоверное снижение степени поражения корнеплодов сахарной свеклы возбудителями кагатной гнили зарегистрировано лишь при концентрации КЖ 1-2 %, причем наибольший ингибирующий эффект достигнут в отношении грибов *P.expansum* и *Ph.betae*.

Бактерии-антагонисты, проявившие четко выраженный антибиоз в отношении возбудителей кагатной гнили чаще всего приурочены к почвенным условиям. Для изучения приживаемо-

сти их на поверхности сахарной свеклы был выбран штамм *B. subtilis* 10/19. Культуру выращивали в течение 2-х суток в колбах на качалке и использовали для опрыскивания корнеплодов сахарной свеклы.

Таблица 12 - Общий титр клеток и спор *B. subtilis* на поверхности сахарной свеклы в течение контролируемого периода (10 суток)

| Показатели | Сразу после обработки | Через 1 сутки | Через 3 суток | Через 7 суток | Через 10 суток |
|-----------------|-----------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Титр, КОЕ/мл | $4,8 \cdot 10^6$ | $1,7 \cdot 10^6$ | $1,2 \cdot 10^6$ | $1,4 \cdot 10^6$ | $0,9 \cdot 10^6$ |
| Титр спор, п/мл | $3,2 \cdot 10^6$ | $1,4 \cdot 10^6$ | $0,3 \cdot 10^6$ | $0,3 \cdot 10^6$ | $0,3 \cdot 10^6$ |

Как показали проведенные исследования (табл. 12), сразу после обработки общее количество клеток бактерий и их спор на поверхности корнеплодов резко увеличилось, а затем через сутки несколько снизилось, при этом в видовом составе микрофлоры стали доминировать бактерии-антагонисты. Начиная с 3-х по 10-е сутки, титр спор оставался практически постоянным. Таким образом, можно предположить, что бактерии *B. subtilis* обладают высокой конкурентоспособностью и могут сохраняться длительное время на поверхности свеклы.

Нами установлено, что в лабораторных условиях бактерии-антагонисты в 1-2%-ной концентрации сдерживают развитие возбудителей кагатной гнили. Для определения влияния антагонистов на сохранность корнеплодов в производственных условиях корнеплоды сортов N, E и Z типа обработаны КЖ бактерий-антагонистов и заложены в малогабаритные бурты.

С этой целью проведены испытания антагонистической активности опытных образцов бактерий-антагонистов в отношении возбудителей кагатной гнили сахарной свёклы в условиях крупногабаритных буртов учебно-опытного сельскохозяйственного производственного кооператива “Путришки” на гибридах Сильвана, Казино и Марс и в условиях малогабаритных буртов РУП “Опытная научная станция по сахарной свекле” на сорте Белорусская односемянная 69. Результаты исследований представлены в таблицах 13, 14, 15. Выявлено, что штаммы бактерий-антагонистов рода *Bacillus* в производственных условиях сдерживают распространённость и развитие кагатной гнили на 5

– 23,3 % и 1,2 – 8,1 % соответственно. Биологическая эффективность испытуемых штаммов колебалась от 6,2 до 39,2 %.

Таблица 13 – Влияние КЖ бактерий-антагонистов на сохранность корнеплодов гибрида Сильвана

| Вариант опыта | Распространенность кагатной гнили, % | Развитие кагатной гнили, % | Биологическая эффективность, % |
|--------------------------|--------------------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| <i>Ps. aurantiaca</i> | 50,0 | 15,0 | 16,9 |
| <i>B. subtilis</i> М 22 | 35,0 | 11,4 | 36,9 |
| <i>B. subtilis</i> Гр-3 | 31,7 | 11,7 | 35,4 |
| <i>B. subtilis</i> Гр-6 | 46,7 | 15,3 | 15,4 |
| <i>B. subtilis</i> 10/19 | 50,0 | 15,6 | 13,8 |
| <i>B. subtilis</i> 12 А | 50,0 | 16,9 | 6,2 |
| <i>B. subtilis</i> 14 S | 35,0 | 12,2 | 32,3 |
| Контроль | 55,0 | 18,1 | - |

Лучшие результаты на гибридах Сильвана и Марс получены при использовании *B. subtilis* М 22 и *B. subtilis* Гр.3 биологическая эффективность которых соответственно составила 36,9 % и 35,4 % (на гибриде Сильвана); 39,2 % и 29,7 % (на гибриде Марс).

Таблица 14 - Влияние КЖ бактерий-антагонистов на сохранность корнеплодов гибрида Марс

| Вариант опыта | Распространенность кагатной гнили, % | Развитие кагатной гнили, % | Биологическая эффективность, % |
|--------------------------|--------------------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| <i>Ps. aurantiaca</i> | 63,3 | 19,7 | 4,1 |
| <i>B. subtilis</i> М 22 | 45,0 | 12,5 | 39,2 |
| <i>B. subtilis</i> Гр-3 | 50,0 | 14,4 | 29,7 |
| <i>B. subtilis</i> Гр-6 | 45,0 | 16,9 | 17,6 |
| <i>B. subtilis</i> 10/19 | 55,0 | 15,8 | 23,0 |
| <i>B. subtilis</i> 12 А | 38,3 | 16,1 | 21,6 |
| <i>B. subtilis</i> 14 S | 56,7 | 15,8 | 23,0 |
| Контроль | 61,7 | 20,6 | - |

Биологическая эффективность испытанных штаммов бактерий-антагонистов рода *Bacillus* на корнеплодах гибрида Казино существенно не отличалась и составила 23,2-31,9 %.

Таблица 15 – Влияние бактерий-антагонистов на сохранность корнеплодов гибрида Казино

| Вариант опыта | Распространенность кагатной гнили, % | Развитие кагатной гнили, % | Биологическая эффективность, % |
|--------------------------|--------------------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| <i>Ps. aurantiaca</i> | 56,7 | 18,6 | 2,9 |
| <i>B. subtilis</i> М 22 | 45,0 | 14,4 | 24,6 |
| <i>B. subtilis</i> Гр-3 | 40,0 | 14,2 | 26,1 |
| <i>B. subtilis</i> Гр-6 | 35,0 | 13,1 | 31,9 |
| <i>B. subtilis</i> 10/19 | 40,0 | 13,6 | 29,0 |
| <i>B. subtilis</i> 12 А | 40,0 | 13,3 | 30,4 |
| <i>B. subtilis</i> 14 S | 45,0 | 14,7 | 23,2 |
| Контроль | 55,0 | 19,2 | - |

При применении бактерий-антагонистов на корнеплодах сорта белорусской селекции Белорусская односемянная 69, хранящихся в малогабаритных буртах РУП “Опытная научная станция по сахарной свекле”, установлено, что наибольшей биологической эффективностью отличались штаммы *B. subtilis* Гр.3, М22 и 14S – 32,6 %, 30,2 и 30,2 % соответственно (табл. 16).

Таблица 16 - Влияние бактерий-антагонистов на сохранность корнеплодов сорта Белорусская односемянная 69

| Вариант опыта | Распространенность кагатной гнили, % | Развитие кагатной гнили, % | Биологическая эффективность, % |
|--------------------------|--------------------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| <i>Ps. aurantiaca</i> | 45,0 | 12,2 | -2,3 |
| <i>B. subtilis</i> М 22 | 28,3 | 8,3 | 30,2 |
| <i>B. subtilis</i> Гр-3 | 38,3 | 8,1 | 32,6 |
| <i>B. subtilis</i> Гр-6 | 40,0 | 9,2 | 23,3 |
| <i>B. subtilis</i> 10/19 | 40,0 | 9,4 | 20,9 |
| <i>B. subtilis</i> 12 А | 48,3 | 11,9 | 0,0 |
| <i>B. subtilis</i> 14 S | 28,3 | 8,3 | 30,2 |
| Контроль | 45,0 | 11,9 | - |

Результаты исследований по определению влияния опытных образцов бактерий-антагонистов на показатели технологи-

ческого качества (сахаристость, инвертный сахар, содержание натрия, калия, α -аминного азота) и интенсивность дыхания корнеплодов сахарной свеклы представлены в таблицах 17, 18, 19, 20.

Таблица 17 - Влияние бактерий-антагонистов на технологические качества корнеплодов гибрида Сильвана

| Варианты опыта | Сахаристость, % | Инвертный сахар, % | Содержание, ммоль на 1000 г. | | |
|-----------------------------|-----------------|--------------------|------------------------------|-------|------------------------|
| | | | натрий | калий | α -аминный азот |
| 1. <i>Ps. aurantiaca</i> | 19,79 | 0,10 | 2,1 | 58,2 | 15,1 |
| 2. <i>B. subtilis</i> M 22 | 19,94 | 0,07 | 3,7 | 48,8 | 17,4 |
| 3. <i>B. subtilis</i> Гр-3 | 19,25 | 0,14 | 7,0 | 57,9 | 18,3 |
| 4. <i>B. subtilis</i> Гр-6 | 18,72 | 0,16 | 3,8 | 73,9 | 25,9 |
| 5. <i>B. subtilis</i> 10/19 | 19,85 | 0,10 | 7,1 | 60,6 | 18,5 |
| 6. <i>B. subtilis</i> 12 A | 19,87 | 0,16 | 4,9 | 64,3 | 15,9 |
| 7. <i>B. subtilis</i> 14 S | 19,63 | 0,20 | 4,3 | 68,2 | 19,1 |
| 8. Контроль | 19,14 | 0,24 | 2,1 | 59,1 | 16,8 |

Согласно данным табл. 18 на гибриде Сильвана все опытные образцы бактерий-антагонистов, за исключением *B. subtilis* Гр-6, обеспечивают поддержание сахаристости корнеплодов на уровне 19,25 – 19,94 %. В контрольном варианте этот показатель составил 19,14%.

На гибриде Казино при сахаристости в контроле 18,79% уровень содержания сахарозы 19,39 – 19,71% обеспечили *Ps. aurantiaca*, *B. subtilis* M 22, *B. subtilis* Гр-3, *B. subtilis* 12A (табл.18).

Таблица 18 - Влияние бактерий-антагонистов на технологические качества корнеплодов гибрида Казино

| Варианты опыта | Сахаристость, % | Инвертный сахар, % | Содержание, ммоль на 1000 г. | | |
|--------------------------|-----------------|--------------------|------------------------------|-------|------------------------|
| | | | натрий | калий | α -аминный азот |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 1. <i>Ps. aurantiaca</i> | 19,53 | 0,18 | 6,6 | 73,0 | 27,4 |

| Продолжение таблицы 18 | | | | | |
|-----------------------------|-------|------|-----|------|------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 2. <i>B. subtilis</i> М 22 | 19,53 | 0,14 | 7,0 | 82,2 | 24,9 |
| 3. <i>B. subtilis</i> Гр-3 | 19,39 | 0,2 | 7,1 | 73,0 | 27,2 |
| 4. <i>B. subtilis</i> Гр-6 | 18,22 | 0,14 | 6,8 | 66,0 | 23,5 |
| 5. <i>B. subtilis</i> 10/19 | 18,99 | 0,11 | 7,2 | 62,2 | 25,3 |
| 6. <i>B. subtilis</i> 12 А | 19,71 | 0,09 | 4,6 | 72,1 | 27,2 |
| 7. <i>B. subtilis</i> 14 S | 18,03 | 0,14 | 5,7 | 64,7 | 22,3 |
| 8. Контроль | 18,79 | 0,28 | 7,0 | 72,4 | 29,2 |

На гибриде Марс при обработке *B. subtilis* Гр-3, *B. subtilis* Гр-6, *B. subtilis* 10/19 отмечено увеличение содержания сахарозы до 20,67 %; 19,29 и 20,36 % соответственно по сравнению с 18,38 % в контроле (табл. 19).

Таблица 19 - Влияние бактерий-антагонистов на технологические качества корнеплодов гибрида Марс

| Варианты опыта | Сахаристость, % | Инвертный сахар, % | Содержание, ммоль. на 1000 г. | | |
|-----------------------------|-----------------|--------------------|-------------------------------|-------|----------------|
| | | | натрий | калий | α-аминный азот |
| 1. <i>Ps. aurantiaca</i> | 18,53 | 0,24 | 4,7 | 72,8 | 19,0 |
| 2. <i>B. subtilis</i> М 22 | 18,68 | 0,20 | 5,2 | 79,2 | 33,4 |
| 3. <i>B. subtilis</i> Гр-3 | 20,67 | 0,07 | 1,9 | 72,1 | 26,0 |
| 4. <i>B. subtilis</i> Гр-6 | 19,29 | 0,21 | 1,8 | 57,6 | 16,3 |
| 5. <i>B. subtilis</i> 10/19 | 20,36 | 0,10 | 5,4 | 75,3 | 34,1 |
| 6. <i>B. subtilis</i> 12 А | 18,37 | 0,20 | 3,9 | 72,1 | 26,3 |
| 7. <i>B. subtilis</i> 14 S | 17,35 | 0,24 | 4,5 | 64,5 | 21,8 |
| 8. Контроль | 18,38 | 0,31 | 4,0 | 61,3 | 24,4 |

Исключением явился сорт Белорусская односемянная, у которого под воздействием препаратов бактерий-антагонистов отмечено уменьшение сахаристости (табл. 20).

Таблица 20 - Влияние бактерий-антагонистов на технологические качества корнеплодов сорта Белорусская односемянная 69

| Варианты опыта | Сахаристость, % | Инвертный сахар, % | Содержание, ммоль на 1000 г. | | |
|-----------------------------|-----------------|--------------------|------------------------------|-------|----------------|
| | | | натрий | калий | α-аминный азот |
| 1. <i>Ps. aurantiaca</i> | 18,3 | 0,18 | 2,4 | 60,0 | 16,7 |
| 2. <i>B. subtilis</i> М 22 | 16,5 | 0,28 | 2,7 | 60,5 | 25,1 |
| 3. <i>B. subtilis</i> Гр-3 | 18,1 | 0,20 | 2,8 | 61,1 | 18,2 |
| 4. <i>B. subtilis</i> Гр-6 | 17,8 | 0,16 | 2,4 | 55,6 | 17,6 |
| 5. <i>B. subtilis</i> 10/19 | 17,6 | 0,10 | 2,6 | 56,7 | 18,6 |
| 6. <i>B. subtilis</i> 12 А | 18,0 | 0,14 | 2,2 | 52,8 | 14,0 |
| 7. <i>B. subtilis</i> 14 S | 18,1 | 0,20 | 2,2 | 56,0 | 25,2 |
| 8. Контроль | 18,3 | 0,36 | 2,6 | 61,6 | 21,7 |

В соответствии с полученными результатами, можно констатировать, что под влиянием КЖ бактерий-антагонистов *B. subtilis* М 22, *B. subtilis* Гр-3 и *B. subtilis* 10/19 происходит увеличение сахаристости корнеплодов гибридов Сильвана, Казино, Марс, тогда как при обработке КЖ *B. subtilis* 12 А увеличение этого показателя отмечено только для первых двух гибридов.

Кроме того обработка сахарной свеклы испытанными бактериями-антагонистами снижает количество инвертного сахара в корнеплодах по сравнению с контролем, что является положительным моментом, так как он при переработке корнеплодов не кристаллизуется и поступает в мелассу и жом. Содержание инвертного сахара у гибридов Сильвана, Казино, Марс и Белорусская односемянная в контрольных вариантах (без обработки бактериями) составило 0,24%, 0,28, 0,31 и 0,36% соответственно, в то время как при хранении корнеплодов обработанных бактериями-антагонистами содержание инвертного сахара уменьшилось до 0,1 – 0,2%, 0,09 – 2,0, 0,07 – 0,24 и 0,1 – 0,28% соответственно.

Известно, что высокое содержание α-аминного азота, натрия и калия в корнеплодах уменьшает выход продукции. Показано, что при обработке исследуемыми препаратами корнеплодов гибрида Казино и сорта Белорусская односемянная 69 на-

блюдается снижение уровня α -аминного азота. Бактерии-антагонисты *Ps. aurantiaca*, *B. subtilis* М 22, *B. subtilis* Гр-3 уменьшают количество калия у корнеплодов гибрида Сильвана, на основе *B. subtilis* Гр-6, *B. subtilis* 10/19 и *B. subtilis* 14S - у гибрида Казино, *B. subtilis* Гр-6 - у гибрида Марс. На сорте Белорусская односемянная 69 отмечено снижение калия при использовании всех биофунгицидов.

Интенсивность дыхания корнеплодов сахарной свеклы, хранившихся в условиях мало- и крупногабаритных буртов изменялась от 103 до 137 мг $\text{CO}_2/\text{кг}$ час в контроле. Установлено, что все испытанные биофунгициды, за исключением *B. subtilis* Гр-6, положительно влияют на сохранность сахарной свеклы, снижая интенсивность дыхания корнеплодов на 14-35% (Сильвана); 16-27% (Казино); 8-17% (Марс) и 9-21% (Белорусская односемянная 69) по сравнению с контролем (таблица 21).

Таблица 21 – Влияние бактерий-антагонистов на интенсивность дыхания корнеплодов сахарной свеклы, мг $\text{CO}_2/\text{кг}$ час

| Варианты опыта | Гибриды | | | Сорт |
|-----------------------------|----------|--------|-------|-----------------------------|
| | Сильвана | Казино | Марс | Белорусская односемянная 69 |
| 1. <i>Ps. aurantiaca</i> | 88,2 | 81,3 | 96,0 | 94,6 |
| 2. <i>B. subtilis</i> М 22 | 117,0 | 101,6 | 95,3 | 82,0 |
| 3. <i>B. subtilis</i> Гр-3 | 102,1 | 87,0 | 87,2 | 88,5 |
| 4. <i>B. subtilis</i> Гр-6 | 138,2 | 119,6 | 106,3 | 104,2 |
| 5. <i>B. subtilis</i> 10/19 | 91,4 | 88,0 | 80,4 | 83,0 |
| 6. <i>B. subtilis</i> 12 А | 99,8 | 94,0 | 87,4 | 84,9 |
| 7. <i>B. subtilis</i> 14S | 97,3 | 84,0 | 85,8 | 91,6 |
| 8. Контроль | 137,1 | 121,3 | 103,3 | 104,1 |

Таким образом, по результатам испытаний оптимальные показатели технологического качества и интенсивности дыхания корнеплодов сахарной свеклы, снижение распространенности и развития кагатной гнили обеспечивают штаммы на основе бактерий *B. subtilis* М 22, *B. subtilis* Гр-3 и *B. subtilis* 10/19. Эффективность отобранных нами штаммов была практически одинаковой.

Для выявления наиболее перспективного штамма в отношении возбудителей кагатной гнили нами проведены испытания отобранных трех бактерий-антагонистов на жестком инфекци-

онном фоне с созданием провокационных условий для заражения корнеплодов сахарной свеклы гибрида Сильвана (таблица 22).

Таблица 22 - Влияние бактерий-антагонистов на интенсивность развития кагатной гнили на инфекционном фоне (гибрид Сильвана)

| Штамм бактерии-антагониста | Концентрация рабочего состава, % | Реакция рабочего состава, рН | Распространенность заболевания, % | Развитие кагатной гнили, % |
|----------------------------|----------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|
| B. subtilis М-22 | 2,5% | 6 | 100,0 | 45,8 |
| | 5% | | 93,3 | 39,2 |
| | 10% | | 91,7 | 36,7 |
| | 2,5% | 9 | 100,0 | 51,7 |
| | 5% | | 100,0 | 49,4 |
| | 10% | | 95,0 | 39,2 |
| | 2,5% | 12 | 100,0 | 46,7 |
| | 5% | | 100,0 | 38,9 |
| | 10% | | 100,0 | 36,4 |
| B. subtilis 10/19 | 2,5% | 6 | 100,0 | 65,3 |
| | 5% | | 100,0 | 55,6 |
| | 10% | | 100,0 | 49,4 |
| | 2,5% | 9 | 100,0 | 56,9 |
| | 5% | | 100,0 | 46,4 |
| | 10% | | 100,0 | 40,0 |
| | 2,5% | 12 | 100,0 | 55,8 |
| | 5% | | 100,0 | 54,2 |
| | 10% | | 100,0 | 40,8 |
| B. subtilis Гр.3 | 2,5% | 6 | 100,0 | 55,8 |
| | 5% | | 98,3 | 53,6 |
| | 10% | | 96,7 | 47,8 |
| | 2,5% | 9 | 100,0 | 59,4 |
| | 5% | | 100,0 | 50,3 |
| | 10% | | 100,0 | 49,7 |
| | 2,5% | 12 | 100,0 | 57,2 |
| | 5% | | 100,0 | 53,1 |
| | 10% | | 92,3 | 49,4 |
| Контроль - обр. водой | | 6 | 100,0 | 59,4 |

Выявлено, что на жестком инфекционном фоне при провокационных условиях развития болезнетворных микроорганизмов штаммы бактерий-антагонистов *Bacillus subtilis* М 22, 10/19, Гр.3 снижали распространенность кагатной гнили на корнеплодах сахарной свеклы на 1,7 - 8,3% по сравнению с контролем. При этом отмечено уменьшение степени развития заболевания с 59,4% до 36,4%. Наиболее эффективной является бактерия-антагонист *Bacillus subtilis* М 22. Высокой антагонистической активностью обладает бактерия при концентрации рабочего состава от 5 до 10%.

Обработка корнеплодов бактериями-антагонистами привела к изменению технологических качеств корнеплодов сахарной свеклы (таблица 23).

Сахаристость корнеплодов сахарной свеклы изменялась от 12,27 до 14,65%. Низкое содержание сахаров объясняется тем, что данный опыт проводился на корнеплодах, убранных в августе.

Повышение концентрации рабочего состава бактерий-антагонистов до 10% способствует увеличению сахаристости корнеплодов (с 12,85 до 13,48% при рН 6) при обработке бактериями штамма *Bacillus subtilis* М-22.

Таблица 23 - Влияние бактерий-антагонистов на технологическое качество корнеплодов (гибрид Сильвана)

| Штамм бактерии-антагониста | Реакция рабочего состава, рН | Концентрация рабочего состава, % | Сахаристость, % | Содержание, ммоль на 1000 г. | | |
|----------------------------|------------------------------|----------------------------------|-----------------|------------------------------|-------|----------------|
| | | | | натрий | калий | α-аминный азот |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| <i>B. subtilis</i> М-22 | 6 | 2,5 | 13,48 | 4,3 | 67,6 | 15,5 |
| | | 5 | 12,85 | 6,0 | 58,3 | 20,2 |
| | | 10 | 13,35 | 4,0 | 68,5 | 25,6 |
| | 9 | 2,5 | 12,27 | 5,3 | 64,8 | 20,2 |
| | | 5 | 12,71 | 4,4 | 55,0 | 15,6 |
| | | 10 | 13,19 | 3,9 | 69,2 | 28,3 |
| | 12 | 2,5 | 12,42 | 3,9 | 79,5 | 23,2 |
| | | 5 | 12,85 | 5,6 | 61,0 | 23,4 |
| | | 10 | 13,11 | 4,1 | 58,8 | 18,2 |

| Продолжение таблицы 23 | | | | | | |
|----------------------------|----|-----|-------|-----|------|------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| B. subtilis 10/19 | 6 | 2,5 | 12,32 | 3,6 | 70,2 | 25,6 |
| | | 5 | 12,76 | 4,2 | 65,5 | 25,6 |
| | | 10 | 13,00 | 4,2 | 65,8 | 22,8 |
| | 9 | 2,5 | 12,99 | 5,0 | 52,1 | 16,3 |
| | | 5 | 12,48 | 4,8 | 72,9 | 25,5 |
| | | 10 | 13,35 | 3,9 | 57,9 | 25,3 |
| | 12 | 2,5 | 12,99 | 5,0 | 58,3 | 18,6 |
| | | 5 | 12,36 | 9,2 | 68,4 | 14,1 |
| | | 10 | 13,23 | 4,0 | 62,7 | 21,2 |
| B. subtilis Гр.3 | 6 | 2,5 | 12,76 | 4,6 | 66,3 | 24,5 |
| | | 5 | 14,02 | 4,8 | 61,2 | 23,4 |
| | | 10 | 13,23 | 4,5 | 73,4 | 13,6 |
| | 9 | 2,5 | 13,76 | 3,9 | 69,6 | 24,2 |
| | | 5 | 13,89 | 3,7 | 63,1 | 19,1 |
| | | 10 | 13,22 | 4,9 | 64,6 | 16,9 |
| | 12 | 2,5 | 13,04 | 4,3 | 69,8 | 29,3 |
| | | 5 | 12,93 | 4,0 | 75,8 | 32,7 |
| | | 10 | 14,65 | 5,0 | 70,3 | 24,3 |
| Контроль - обработка водой | | | 12,94 | 4,3 | 67,3 | 21,8 |

На изменение содержания α -аминного азота рН и концентрация рабочего состава не оказали заметного влияния.

Обработка культуральной жидкостью *Bacillus subtilis* Гр.3 обеспечивала сахаристость корнеплодов от 12,76% до 14,65% в зависимости от концентрации бактерий в рабочем составе. В контрольном варианте, при обработке корнеплодов водой, уровень сахаристости составил 12,94%.

Этот показатель изменялся в пределах 15,5 - 28,3; 14,1 - 25,6 и 13,6 - 32,7 ммоль. на 1000 г. соответственно при применении *Bacillus subtilis* М-22; *Bacillus subtilis* 10/19 и *Bacillus subtilis* Гр.3.

Таким образом, наиболее эффективной является бактерия-антагонист *Bacillus subtilis* М 22 при использовании ее в концентрации рабочего состава от 5 до 10%.

На основе проведенных испытаний в культуре *in vitro* и *in vivo* бактерий-антагонистов к возбудителям болезней сахарной свеклы при хранении был отобран штамм *B. subtilis* М-22, харак-

теризующийся высокой антагонистической активностью к фитопатогенным грибам, в качестве основы биопрепарата для защиты сахарной свеклы от кагатной гнили. Штамм *B. subtilis* М-22 выделен из образцов дерново-подзолистой почвы Минской области, идентифицирован как *Bacillus subtilis* и депонирован в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси под регистрационным номером БИМ В-439 Д.

Свойства штамма *Bacillus subtilis* БИМ В-439 Д.

Культуральные признаки: при культивировании на мясопептонном агаре штамм образует серо-белые неправильной формы колонии с зубчатым краем; поверхность гладкая, непрозрачная, матовая с мучнистым налетом; профиль чуть выпуклый в центре; консистенция вязкая.

Морфологические признаки: вегетативные клетки культуры представляют собой подвижные палочки бациллярной формы размером 0,6-0,7 x 1,0-1,3 мкм с округлыми концами. Споры эллипсоидные, расположены центрально или терминально, спорангий не раздут. Клетки располагаются одиночно, в парах или коротких цепочках. Окраска по Граму положительная.

Физиолого-биохимические особенности: Облигатный аэроб. Растет при температуре до 50°C, температурный оптимум - 30-35°C.

Отношение к источникам углерода: штамм утилизирует (образует кислоту из сахаров): ксилозу, арабинозу, глюкозу, галактозу, фруктозу, рамнозу, маннозу, сахарозу, лактозу, мальтозу, целлобиозу, трегалозу, рафинозу, дульцит, сорбит, маннит, инозит, глицерин; гидролизует цитрат и крахмал.

Отношение к источникам азота: штамм ассимилирует сульфат аммония, нитрат аммония, нитрат калия, мочевины, пептон; восстанавливает нитраты до нитритов; разжижает желатин; гидролизует казеин.

Другие особенности: характеризуется каталазной активностью, образует ацетоин, растет на средах Мейнелла, Чапека, в 7 % NaCl и не способен к росту при 10 % концентрации NaCl (Кильчевская О.С. и др., 2009).

Антагонистическая активность: бактерии данного штамма характеризуется широким спектром антифунгального действия

(табл. 24) и отличаются способностью контролировать развитие целого комплекса фитопатогенных грибов - возбудителей кагатной гнили сахарной свеклы, характерных для климатических условий Беларуси.

Таблица 24 - Спектр антифунгального действия штамма *B. subtilis* БИМ В-439 Д (метод лунок)

| № п./п. | Тест-объекты | Диаметр зоны подавления роста тест-объектов, мм |
|---------|------------------------|---|
| 1 | <i>F. redolens</i> | 26-35 |
| 2 | <i>F. culmorum</i> | 21-28 |
| 3 | <i>P. expansum</i> | 27-29 |
| 4 | <i>B. cinerea</i> | 38-46 |
| 5 | <i>S. sclerotiorum</i> | 40-56 |
| 6 | <i>Alt. tenuis</i> | 24-26 |
| 6 | <i>Ph. betae</i> | 41-42 |
| 7 | <i>Gl. catenulatum</i> | 35-37 |

Патогенность штамма: согласно «Заключению об испытании патогенности, токсичности и токсигенности штамма *Bacillus subtilis* М-22 (БИМ В-439 Д)» исследования, проведенные в Институте экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского, свидетельствует, что он не является патогенным, токсичным и токсигенным и может использоваться в микробиологическом производстве.

5. Технология производства биопестицида Бетапротектин

5.1 Оптимизация параметров глубинного культивирования штамма бактерии *Bacillus subtilis* М-22 БИМ В-439 Д

Изучение физиолого-биохимических свойств бактерий показало, что при выращивании на агаризованных средах с различными источниками углерода культура хорошо утилизирует моно- и дисахариды. Согласно полученным результатам (табл.25), культура бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д лучше растет на мелассе и хуже использует глюкозу и сахарозу. На питательной среде Мейнелла, содержащей в качестве основного источника углерода мелассу (20 г/л), штамм *B. subtilis* БИМ В-439 Д характеризуется наиболее активным ростом и спорообразованием, высокой антагонистической активностью (Коломиец Э.И. и др., 2008). На среде с глюкозой и сахарозой процесс спорообразования заторможен (титр спор значительно ниже, чем в варианте с мелассой).

Таблица 25 - Влияние различных источников углерода на рост и антифунгальную активность *B. subtilis* БИМ В-439 Д

| Источник углерода | Концентрация, % | Степень утилизации сахара, % | Титр, КОЕ/мл | Титр спор, п/мл | Диаметр зоны задержки роста тест-культур, мм | |
|-------------------|-----------------|------------------------------|------------------|------------------|--|--------------------|
| | | | | | <i>F. redolens</i> | <i>P. expansum</i> |
| Глюкоза | 1 | 33,8 | $5,0 \cdot 10^8$ | $4,3 \cdot 10^7$ | 23,0 | 16,5 |
| Сахароза | 1 | 45,3 | $7,6 \cdot 10^8$ | $9,0 \cdot 10^7$ | 24,0 | 17,5 |
| Меласса | 2 | 68,1 | $2,3 \cdot 10^9$ | $1,5 \cdot 10^9$ | 25,0 | 19,0 |

С учетом полученных данных, а также более низкой стоимости мелассы по сравнению с сахарозой и глюкозой, в качестве источника углеродного питания для исследуемой культуры бактерий была выбрана меласса.

При подборе источников азота исходная концентрация азотсодержащих солей рассчитывалась по содержанию их в стандартной среде Мейнелла (0,21 г/л азота – 1,0 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), используемой в качестве контроля. В качестве источника угле-

рода в среду добавлялась меласса (20 г/л). Источниками азота служили: сульфат аммония, аммиачная селитра, нитрат калия, мочевины и пептон (табл.26).

Таблица 26- Влияние различных источников азота на рост и антифунгальную активность *B. subtilis* БИМ В-439 Д

| Вариант | Содержание, г/л | Титр, КОЕ/мл | Титр спор, п/мл | Диаметр зоны задержки роста тест-культур, мм | |
|---|-----------------|---------------------|---------------------|--|--------------------|
| | | | | <i>F. redolens</i> | <i>P. expansum</i> |
| (NH ₄) ₂ SO ₄ | 1,0 | 2,3·10 ⁹ | 1,5·10 ⁹ | 19,0 | 16,5 |
| NH ₄ NO ₃ | 0,6 | 1,8·10 ⁹ | 1,3·10 ⁹ | 17,3 | 12,5 |
| KNO ₃ | 1,5 | 1,4·10 ⁹ | 5,3·10 ⁸ | 14,8 | 11,5 |
| мочевина | 0,45 | 8,9·10 ⁸ | 2,2·10 ⁸ | 17,5 | 15,5 |
| пептон | 5,0 | 2,1·10 ⁹ | 1,8·10 ⁹ | 15,0 | 15,0 |

Согласно полученным результатам, изученные минеральные и органические формы азота оказывают существенное влияние на рост бактерий и продукцию ими антимикробных веществ. Наиболее высокая скорость роста и спорообразования, а также антагонистическая активность культуры отмечены на среде с сульфатом аммония. При использовании аммиачной селитры эти показатели были несколько ниже, а на среде с нитратом калия – существенно более низкие. Из органических соединений азота интенсивному росту бактерий в наибольшей степени способствует пептон, однако при этом антагонистическая активность культуры ниже, чем на среде с сульфатом аммония. На среде с мочевиной в качестве азота используется, зарегистрирован самый низкий титр клеток и спор *B. subtilis* БИМ В-439 Д.

Таким образом, лучшим источником азота для проявления максимальной скорости роста клеток и антагонистической активности бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д является сульфат аммония.

Дальнейшие исследования выявили, что для получения КЖ *B. subtilis* БИМ В-439 Д с высоким титром клеток и спор и одновременно высокой антагонистической активностью имеет значение не только качественный состав источников углерода и азота, но и их количественное соотношение (табл. 27).

Таблица 27 - Влияние соотношения углерода и азота на рост и антифунгальную активность *B. subtilis* БИМ В-439 Д

| Состав питательной среды, г/л | Соотношение С:N | Титр, КОЕ/мл | Титр спор, п/мл | Диаметр зоны задержки роста тест-культур, мм | |
|---|-----------------|---------------------|---------------------|--|--------------------|
| | | | | <i>F. redolens</i> | <i>P. expansum</i> |
| Меласса – 20; (NH ₄) ₂ SO ₄ – 1 | 20 | 2,3·10 ⁹ | 1,5·10 ⁹ | 25,0 | 19,0 |
| Меласса – 30; (NH ₄) ₂ SO ₄ – 1 | 30 | 1,8·10 ⁹ | 1,3·10 ⁹ | 23,0 | 18,0 |
| Меласса – 30; (NH ₄) ₂ SO ₄ – 1,5 | 20 | 3,2·10 ⁹ | 2,8·10 ⁹ | 31,0 | 25,5 |

Согласно данным табл. 27, при соотношении углерода к азоту в питательной среде равном 20, показатели роста и продукции антимикробных метаболитов культурой были самыми высокими. Выращивание *B. subtilis* БИМ В-439 Д на питательной среде, содержащей 30 г мелассы и 1,5 г сульфата аммония, приводит к увеличению выхода спор почти в 2 раза, при этом, диаметр зоны задержки роста фитопатогенных грибов *F. redolens* и *P. expansum* возрастает на 35 % и 42 % соответственно по сравнению с показателями, полученными на среде с соотношением С: N равным 30.

С учетом полученных данных, предложен следующий состав питательной среды – модифицированной среды Мейнелла для выращивания бактерий *B. subtilis* БИМ В-439, г/л: меласса-30,0; K₂HPO₄·3H₂O-7,0; KH₂PO₄-3,0; MgSO₄·7H₂O-0,1; Натритрат·3H₂O-0,5; (NH₄)₂SO₄-1,5; вода дистиллированная-1 л.

Влияние температуры на рост и антагонистическую активность исследуемой культуры бактерий изучалось на оптимизированной нами для данной культуры бактерий питательной среде Мейнелла при глубинном культивировании в колбах на встряхивателе с водяной баней (АВУ-6П) в интервале температур от 28° до 37°С.

Согласно полученным данным (табл. 28), с увеличением в опытах температурного режима от 28°С до 34°С титр клеток и спор, а также их антифунгальная активность возрастают, а с

дальнейшим повышением температуры до 37°C титр клеток увеличивается, а антагонистическая активность культуры несколько снижается.

Таблица 28 - Влияние температуры на рост и антифунгальную активность *B. subtilis* БИМ В-439 Д

| Температура, °С | Титр, КОЕ/мл | Титр спор, п/мл | Диаметр зоны задержки роста тест-культур, мм | |
|-----------------|------------------|------------------|--|--------------------|
| | | | <i>F. redolens</i> | <i>P. expansum</i> |
| 28 | $2,6 \cdot 10^9$ | $1,7 \cdot 10^9$ | 24,0 | 19,5 |
| 30 | $3,2 \cdot 10^9$ | $2,8 \cdot 10^9$ | 25,5 | 20,0 |
| 34 | $4,9 \cdot 10^9$ | $4,6 \cdot 10^9$ | 31,5 | 22,5 |
| 37 | $5,9 \cdot 10^9$ | $4,8 \cdot 10^9$ | 29,5 | 18,5 |

Таким образом, можно считать, что оптимальной температурой при глубинном культивировании *B. subtilis* БИМ В-439 Д для получения бактерий с максимальной антифунгальной активностью при высоком титре клеток, является температура 34°C.

Для изучения технологических параметров культивирования бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д работу проводили в лабораторном ферментере АНКУМ-2М емкостью 10 л (200 об/мин, 34°C) при двух режимах аэрации: 1,0 и 1,5 л воздуха на 1 л среды в минуту на модифицированной среде Мейнелла. Изучалось влияние режимов аэрации на динамику роста и антагонистическую активность исследуемой культуры бактерий.

Показано (рис.20, табл.29), что более высокий режим аэрации (1,5 л воздуха/л среды·мин) способствует ускорению начала экспоненциальной фазы роста культуры на четыре часа и приводит к увеличению титра клеток на начальных стадиях развития культуры. Так, уже через 8 часов титр КОЕ при повышенной аэрации составляет $3,5 \cdot 10^9$, что в 6,7 раза выше аналогичного показателя при более низкой аэрации. Установлено, что экспоненциальная фаза развития бактерий заканчивается к 8 ч от начала ферментации при обоих режимах аэрации, после чего культура переходит в стационарную фазу роста, которая продолжается до 66-72 часов.

Представлена динамика роста *B. subtilis* БИМ В-439 Д в оптимизированных условиях (рис. 20, табл. 30).

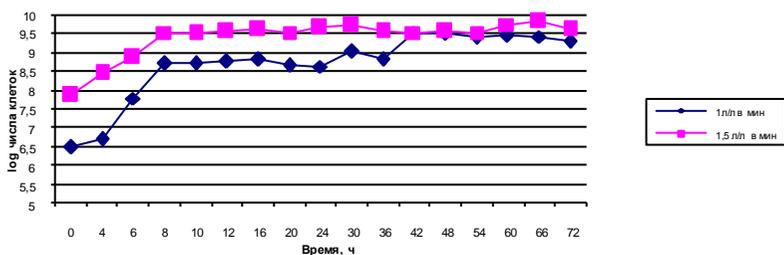


Рисунок 20 - Динамика роста *B. subtilis* БИМ В-439 Д при различных режимах аэрации

Таблица 29 – Влияние режима аэрации на рост *B. subtilis* БИМ В-439 Д в лабораторном ферментере

| Время, ч | 1,0 л воздуха/л среды·мин | | 1,5 л воздуха/л среды·мин | |
|----------|---------------------------|------------------|---------------------------|------------------|
| | Титр, КОЕ/мл | Титр спор, п/мл | Титр, КОЕ/мл | Титр спор, п/мл |
| 0 | $3,0 \cdot 10^6$ | $6,2 \cdot 10^4$ | $7,1 \cdot 10^7$ | $8,2 \cdot 10^6$ |
| 4 | $4,9 \cdot 10^6$ | $6,8 \cdot 10^4$ | $2,9 \cdot 10^8$ | $3,2 \cdot 10^7$ |
| 6 | $6,0 \cdot 10^7$ | $1,2 \cdot 10^5$ | $7,0 \cdot 10^8$ | $2,7 \cdot 10^7$ |
| 8 | $5,2 \cdot 10^8$ | $1,2 \cdot 10^5$ | $3,5 \cdot 10^9$ | $2,6 \cdot 10^7$ |
| 10 | $5,3 \cdot 10^8$ | $1,4 \cdot 10^5$ | $3,1 \cdot 10^9$ | $2,4 \cdot 10^7$ |
| 12 | $5,9 \cdot 10^8$ | $2,0 \cdot 10^7$ | $3,6 \cdot 10^9$ | $3,3 \cdot 10^7$ |
| 16 | $6,7 \cdot 10^8$ | $4,9 \cdot 10^7$ | $4,2 \cdot 10^9$ | $3,9 \cdot 10^8$ |
| 20 | $4,6 \cdot 10^8$ | $5,1 \cdot 10^7$ | $3,5 \cdot 10^9$ | $4,2 \cdot 10^8$ |
| 24 | $4,2 \cdot 10^8$ | $1,3 \cdot 10^8$ | $4,5 \cdot 10^9$ | $5,7 \cdot 10^8$ |
| 30 | $1,1 \cdot 10^9$ | $1,4 \cdot 10^8$ | $5,2 \cdot 10^9$ | $4,7 \cdot 10^8$ |
| 36 | $6,5 \cdot 10^8$ | $3,4 \cdot 10^8$ | $3,6 \cdot 10^9$ | $3,1 \cdot 10^9$ |
| 42 | $3,5 \cdot 10^9$ | $2,0 \cdot 10^9$ | $3,5 \cdot 10^9$ | $3,2 \cdot 10^9$ |
| 48 | $3,1 \cdot 10^9$ | $2,9 \cdot 10^9$ | $3,6 \cdot 10^9$ | $3,5 \cdot 10^9$ |
| 54 | $2,5 \cdot 10^9$ | $2,4 \cdot 10^9$ | $3,4 \cdot 10^9$ | $3,4 \cdot 10^9$ |
| 60 | $2,8 \cdot 10^9$ | $2,5 \cdot 10^9$ | $5,6 \cdot 10^9$ | $5,4 \cdot 10^9$ |
| 66 | $2,7 \cdot 10^9$ | $2,5 \cdot 10^9$ | $6,4 \cdot 10^9$ | $5,9 \cdot 10^9$ |
| 72 | $1,9 \cdot 10^9$ | $1,5 \cdot 10^9$ | $4,1 \cdot 10^9$ | $3,7 \cdot 10^9$ |

Для оценки динамики процесса спорообразования изучаемой культуры рассчитывали процентное соотношение титра спор от общего количества клеток (КОЕ) (рис. 21). При режиме аэрации 1,0 л воздуха/л среды·мин период активного спорообразования у бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д начинается с 20 ч и

достигает максимума (96%) к 54 ч ферментации. При режиме аэрации 1,5 л воздуха/л среды мин культура переходит в стадию активного спорообразования только к 30 ч роста. Вместе с тем, максимальный титр спор также, как и в первом случае, достигается к 54 ч. Таким образом, повышение аэрации способствует сокращению процесса спорообразования с 34 ч до 24 ч.

Понижение интенсивности аэрации до 1 л воздуха / л среды мин способствует более активному приросту биомассы по сравнению с режимом аэрации 1,5 л воздуха / л среды мин.

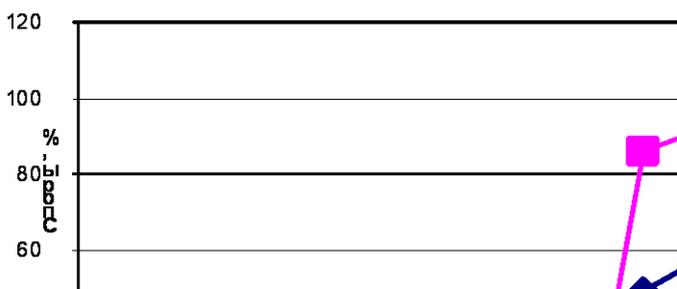


Рисунок 21 - Динамика спорообразования бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д. Наиболее высокий уровень накопления биомассы (4,9 г/л) наблюдается к 60 ч ферментации при обоих режимах аэрации (рис. 22).

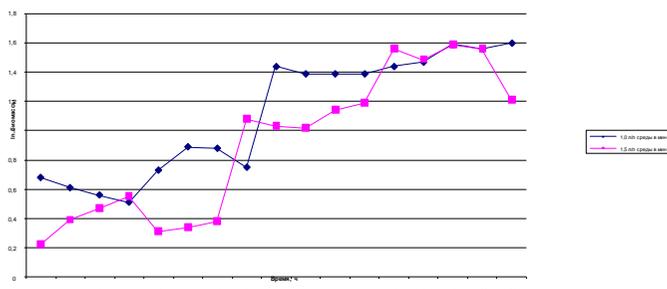


Рисунок 22 - Динамика накопления биомассы культурой *B. subtilis* БИМ В-439 Д

В соответствии с динамикой потребления углеводов культурой *B. subtilis* БИМ В-439 Д (рис. 23 и 24), при более высокой интенсивности аэрации происходит более полное потребление питательного субстрата (меласса) в среде. К концу ферментации сахара расходуется в два раза больше, чем при меньшей аэрации. Следует отметить постоянство активной кислотности среды на протяжении всего времени ферментации, соответствующее уровню pH 6,8 – 7,0.

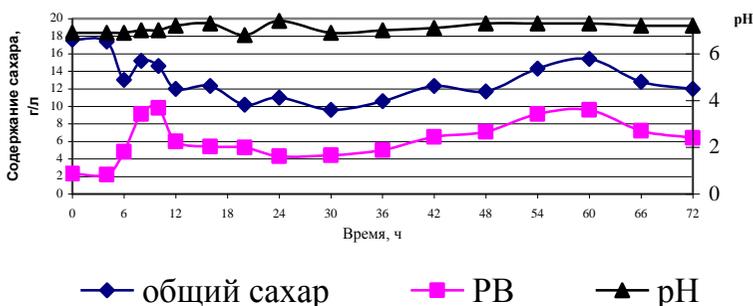


Рисунок 23 - Динамика потребления сахаров и изменения pH среды в процессе культивирования бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д при режиме аэрации 1,0 л воздуха/л среды·мин

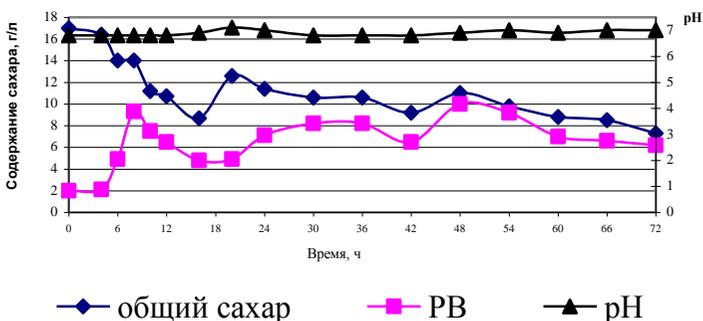


Рисунок 24 - Динамика потребления сахаров и изменения pH среды в процессе культивирования бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д при режиме аэрации 1,5 л воздуха/л среды·мин

Для изучения динамики антагонистической активности исследуемой культуры в качестве тест-объекта использовали *F. redolens*. Как следует из приведенных данных (рис. 25), увеличение интенсивности аэрации с 1,0 до 1,5 л воздуха/л среды·мин приводит к снижению антагонистической активности *B. subtilis* БИМ В-439 Д (диаметр зоны задержки роста гриба уменьшается на 6-8 %). Установлено, что максимальная антифунгальная активность культуры при более низком режиме аэрации (1,0 л воздуха/л среды·мин) достигается к 24-30 ч, а при повышенном (1,5 л воздуха/л среды·мин) – к 8 ч ферментации. Снижение антифунгальной активности культуры отмечено к 72 ч при обоих режимах аэрации.

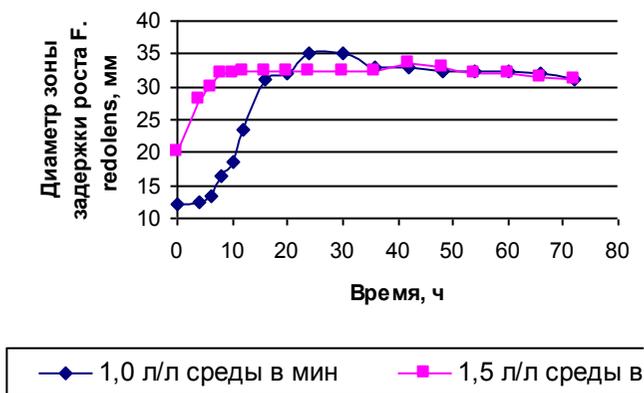


Рисунок 25 - Динамика изменения антагонистической активности бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д при различных режимах аэрации

Анализ полученных данных позволяет сделать вывод, что при выращивании *B. subtilis* БИМ В-439 Д в лабораторном ферментере оптимальные показатели процесса достигаются при подаче 1,0 л воздуха/л среды·мин. Оптимизированный режим аэрации позволяет получить к 42-48 часам ферментации жидкий

препарат с титром клеток и спор $3,5 \cdot 10^9$ и высокой антагонистической активностью.

Оценку устойчивости бактерий *Bacillus subtilis* БИМ В-439 Д к воздействию щелочной реакции среды проводили при их глубинном (табл. 30) и поверхностном культивировании в условиях различного значения рН (табл.31). Наблюдения за развитием бактерий в проведенных исследованиях выявили, что нейтральная реакция среды является оптимальной для роста бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д и проявления максимальной антагонистической активности.

Таблица 30 – Влияние рН на рост и антагонистическую активность бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д

| Величина рН | Титр, КОЕ/мл | Титр спор, п/мл | Диаметр зоны задержки роста <i>F. redolens</i> , мм |
|-------------|------------------|------------------|---|
| 6 | $3,6 \cdot 10^8$ | $3,3 \cdot 10^8$ | 23,0 |
| 7 | $5,1 \cdot 10^8$ | $4,8 \cdot 10^8$ | 33,5 |
| 8 | $4,0 \cdot 10^8$ | $3,9 \cdot 10^8$ | 33,0 |
| 9 | $3,9 \cdot 10^8$ | $3,9 \cdot 10^8$ | 31,0 |
| 10 | $2,5 \cdot 10^5$ | $2,5 \cdot 10^5$ | 30,5 |

Таблица 31 – Способность бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д к росту при поверхностном культивировании на МПА с различным значением рН

| Значение рН | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---------------|---|---|---|----|----|----|
| Рост бактерий | + | + | + | + | ± | – |

Примечание: + интенсивный рост; ± слабый рост; – рост отсутствует.

Установлено, что при увеличении значения рН до 9, качественные показатели КЖ стабильно поддерживаются на высоком уровне, однако при рН 10 титр клеток уменьшается в 2 раза, антифунгальная активность культуры – на 10 %. В сильно щелочной среде – при рН 11-12 – рост клеток и продукция антимикробных метаболитов практически прекращаются. Этот факт должен учитываться при использовании биофунгицида с

известковым материалом, который может использоваться при обработке корнеплодов при закладке их на хранение.

5.2 Оценка адгезионных свойств и стабильности антагонистической активности биопестицида Бетапротектин

С целью выбора наиболее оптимального прилипателя для биопестицида «Бетапротектин», изучались адгезионная способность препарата и влияние прилипателя на рост антагониста и развитие патогена. Проведенные исследования показали, что на выросшем газоне как бактериальной, так и грибных культур, не наблюдалось никаких изменений, что позволяет предположить, что используемые в работе прилипатели не оказывают ни ингибирующего, ни стимулирующего действия на рост фитопатогенных грибов и бактерий (Коломиец Э.И. и др., 2008).

В соответствии с полученными данными (табл. 32, рис. 26), чем выше концентрация прилипателей в КЖ, тем лучше споры бактерий удерживаются на стекле, о чем свидетельствует низкий титр диффундировавших в воду спор.

Таблица 32 - Влияние растворов прилипателей в различной концентрации на адгезионные свойства биопестицида «Бетапротектин» (лабораторный модельный опыт № 1)

| Прилипатели | Концентрация, % | Титр спор <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д, $n \cdot 10^7$ /мл | | |
|---------------------|-----------------|--|-----------|------------|
| | | Через 1 ч | Через 2 ч | Через 24 ч |
| ЕПАА | 0,5 | 11,8 | 7,5 | 2,3 |
| ЕПАА | 1,0 | 6,0 | 4,8 | 2,0 |
| ЕПАА | 1,5 | 5,8 | 5,5 | 1,0 |
| Поливиниловый спирт | 0,5 | 11,9 | 8,4 | 1,8 |
| Поливиниловый спирт | 1,0 | 10,8 | 7,3 | 0,8 |
| Поливиниловый спирт | 1,5 | 10,6 | 5,9 | 1,0 |
| Гисинар | 0,5 | 11,8 | 8,0 | 5,5 |
| Гисинар | 1,0 | 9,8 | 7,5 | 5,8 |
| Гисинар | 1,5 | 8,0 | 5,3 | 2,0 |

Примечание: Исходный титр спор КЖ *B. subtilis* БИМ В-439Д - $2,5 \cdot 10^8$ спор/мл

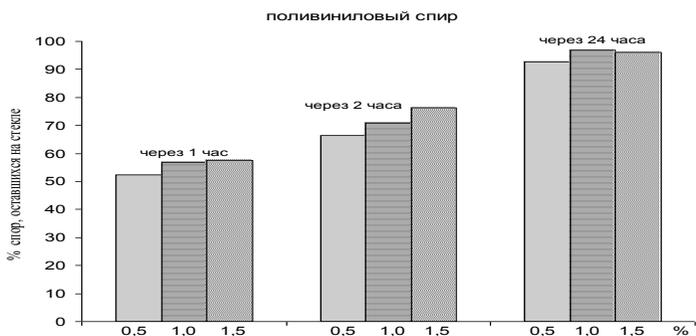
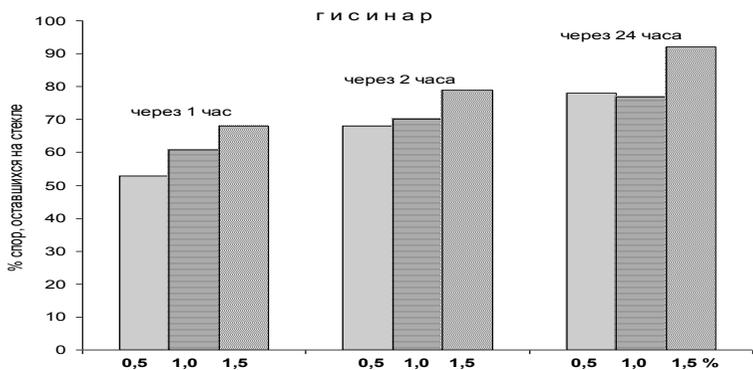
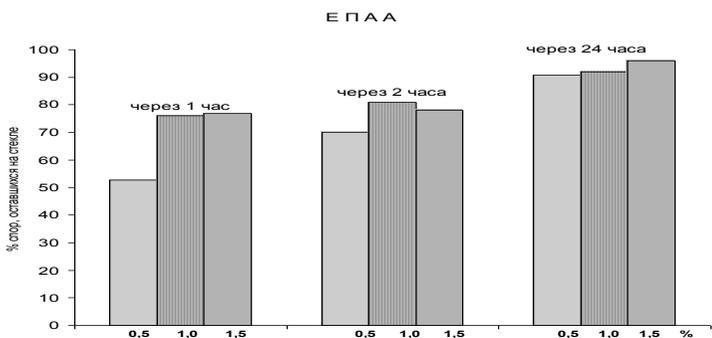


Рис. 26 - Динамика прилипаемости спор КЖ *B. subtilis* БИМ В-439 Д на стекле в зависимости от концентрации прилипателя и продолжительности опыта

Для достижения высокой адгезионной способности клеток *B. subtilis* БИМ В-439 Д достаточно, чтобы концентрации всех испытываемых в работе прилипателей, добавленных в КЖ бактерий, составляла 1%. Наиболее показательные результаты оценки адгезионной способности препаратов при таком способе оценки получают через 2 ч.

Для получения дополнительной информации об эффективности действия прилипателей был поставлен лабораторный модельный опыт, в котором все прилипатели добавляли в количестве 1% от массы препарата и испытывали одновременно. Титр спор суспензии *B. subtilis* БИМ В-439 Д контролировали через 2 часа, после чего рассчитывали процент спор, оставшихся на стекле в каждом варианте от их исходного количества в КЖ. На основании полученных данных, установлено, что все испытанные прилипатели характеризуются высокой адгезионной способностью (табл. 33).

Таблица 33 - Влияние прилипателей на адгезионные свойства биофунгицида Бетапротектин (лабораторный модельный опыт)

| Варианты | Титр спор суспензии <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д, $n \cdot 10^7$ /мл | % спор, оставшихся на стекле |
|--|--|------------------------------|
| КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д + ЕПАА | 2,4 | 88,6 |
| КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д +Поливиниловый спирт | 2,8 | 86,7 |
| КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д + Гисинар | 3,8 | 81,9 |
| КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д | 9,1 | 56,7 |

Примечание: исходный титр спор в КЖ *B. subtilis* БИМ В-439 Д - $2,1 \cdot 10^8$ спор/мл

Количество спор, оставшихся на стекле, во всех вариантах с добавлением прилипателей превышает 80 %. Наиболее высокий процент закрепившихся на стекле спор отмечался в варианте

с использованием ЕПАА (88,6 %). Следует также отметить, что меласса, используемая в качестве источника углерода в составе питательной среды для культивирования бактерий, также обладает адгезивной способностью. Так, в контрольном варианте без прилипателя, количество спор, оставшихся на стекле, составляет 56,7 %.

Было установлено (табл.34), что обработка ломтиков свеклы КЖ *B. subtilis* БИМ В-439 Д с последующей инокуляцией фитопатогенными грибами оказывает защитное действие на свеклу, и она поражается слабее.

Таблица 34 - Влияние прилипателей на адгезионные свойства препарата Бетапротектин (лабораторный модельный опыт)

| № п./п. | Вид обработки | Оценка в баллах |
|---------|---|-----------------|
| 1 | Контроль - без обработки | 0 |
| 2 | Заражение грибами | 5 |
| 3 | КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д | 0 |
| 4 | КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д + заражение грибами | 1,5 |
| 5 | 0,1 % КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д + заражение грибами | 2,0 |
| 6 | 0,05 % КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д + заражение грибами | 1,5 |
| 7 | 1 % раствор гисинара | 0 |
| 8 | (КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д +1% гисинара) | 0 |
| 9 | (КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д +1% гисинара)+ заражение грибами | 3,25 |
| 10 | 0,1 % (КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 +1% гисинара) + заражение грибами | 1,25 |
| 11 | 0,05 % (КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д +1% гисинара) + заражение грибами | 1,5 |
| 12 | 1% раствор ЕПАА | 0 |
| 13 | (КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д +1% ЕПАА) | 0 |
| 14 | (КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д +1% ЕПАА) + заражение грибами | 3,25 |
| 15 | 0,1% (КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д +1% ЕПАА) + заражение грибами | 1,25 |
| 16 | 0,05% (КЖ <i>B. subtilis</i> БИМ В-439 Д +1% ЕПАА) + заражение грибами | 1,5 |

Отмечено, что добавление прилипателей снижает степень заражения только при разведении препарата в 10 и 20 раз. Вероятно, прилипатели в высокой концентрации способствуют закреплению на поверхности корнеплодов не только бактерий-антагонистов, но и фитопатогенных грибов.

Нами проведены исследования эффективности биоpestицида Бетапротектин с различными прилипателями в производственных условиях. В качестве промоторов адгезии испытаны: поливиниловый спирт, ЕПАА, хитозан и гисинар. Все эти вещества добавляли в концентрации 1% от общего объема. Выявлено, что в качестве добавок в биопрепарат Бетапротектин предпочтительнее использовать хитозан или гисинар. Прилипатель хитозан по сравнению с гисинаром повышал биологическую и хозяйственную эффективность Бетапротекина на 15,1 % и 2,9 % соответственно (табл. 35).

Таблица 35 – Влияние различных прилипателей на эффективность действия биоpestицида Бетапротектин против кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы (гибрид Марс, норма расхода препарата 0,5 л/т, норма расхода рабочего состава 3 л/т, 2008 г.)

| № п/п | Прилипатели | Распространенность кагатной гнили, % | Развитие кагатной гнили, % | Вредность, % | Биологическая эффективность, % | Хозяйственная эффективность, % |
|-------------------|---------------------|--------------------------------------|----------------------------|--------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 1 | Поливиниловый спирт | 85,0 | 31,1 | 10,6 | 0 | 0,1 |
| 2 | ЕПАА | 83,3 | 31,7 | 12,0 | -1,9 | -1,5 |
| 3 | Хитозан | 83,3 | 26,4 | 8,0 | 15,1 | 2,9 |
| 4 | Гисинар | 81,7 | 31,1 | 10,6 | - | - |
| НСР ₀₅ | | | 0,8 | | | |

Однако следует отметить, что применение биоpestицида Бетапротектин совместно с прилипателем гисинар приводит к повышению сахаристости корнеплодов по сравнению с вариантами,

где в качестве промоторов адгезии используют поливиниловый спирт, ЕППА, хитозан (табл. 36).

Таблица 36 – Влияние биопрепарата с различными прилипателями на технологическое качество корнеплодов сахарной свеклы гибрида Марс (2008 г.)

| Прилипатели | Расход препарата / рабочего состава | Интенсивность дыхания, мг CO ₂ /кг ч | Сахаристость, % | Инвертный сахар, % | Содержание, ммоль на 1000 г | | |
|---------------------|-------------------------------------|---|-----------------|--------------------|-----------------------------|--------|-----------------|
| | | | | | калий | натрий | α-аминовый азот |
| Поливиниловый спирт | 0,5 л/т / 3 л/т | 20,3 | 15,9 | 0,7 | 38,9 | 4,1 | 15,7 |
| ЕПАА | | 25,0 | 16,0 | 0,9 | 31,9 | 5,9 | 20,0 |
| Хитозан | | 25,0 | 15,8 | 0,5 | 39,5 | 5,0 | 12,4 |
| Гисинар | | 20,6 | 16,6 | 0,5 | 39,2 | 3,9 | 22,5 |
| НСР ₀₅ | | | 0,5 | | | | |

В опыте с гисинаром отмечена низкая интенсивность дыхания корнеплодов и наименьшее содержание натрия.

Использование в качестве прилипателя хитозана привело к ингибированию гидролиза сахарозы до моносахаридов. Содержание инвертного сахара составило 0,5 %, а сахаристость – 15,8 %.

В процессе хранения препарата, полученного на основе *V. subtilis* БИМ В-439 Д (биопестицид Бетапротектин) с добавлением прилипателей значительных изменений антифунгальной активности культуры бактерий в течение месяца наблюдений не выявлено – диаметр зоны задержки роста фитопатогена *F. redolens* практически оставался неизменным как в опытных, так и контрольном (без прилипателей) вариантах. Следует отметить, что в присутствии гидрогеля Гисинара антагонистическая активность биофунгицида характеризовалась большей стабильностью, чем в вариантах с другими прилипателями.

Для определения срока годности биопрепарата Бетапротектин нами проведены исследования по изучению стабильности

антагонистической активности и титра спор. Изучалось влияние температурного режима хранения препарата на его качественные показатели (табл. 37).

Антифунгальную активность выражали в %, рассчитывая отношение зоны задержки роста тест-культуры *F. redolens* к исходному значению при тестировании свежеприготовленного биопрепарата, используемого для закладки опыта. Согласно полученным результатам при хранении жидкого биопрепарата Бетапротектин при температурном режиме ниже +15°C титр спор и антифунгальная активность препарата сохраняется на высоком уровне в течение длительного времени. Таким образом, гарантированный срок годности биопестицида «Бетапротектин» при хранении его при температуре от плюс 4 до плюс 15°C составляет 3 месяца со дня изготовления.

Проведено изучение эффективности действия различных добавок на сохранность препарата Бетапротектин. В качестве стабилизирующих веществ использовали хлористый натрий и прилипатели (ЕПАА, гисинар и поливиниловый спирт) для повышения адгезионной способности препарата.

Таблица 37 - Влияние температуры хранения на титр спор и антагонистическую активность биопрепарата Бетапротектин

| Продолжительность хранения, мес. | Температурный режим в процессе хранения, °С | | | | | |
|----------------------------------|---|------------------------------|------------------|------------------------------|------------------|------------------------------|
| | 18-25 | | 10-15 | | 4-6 | |
| | Титр спор, п/мл | Антифунгальная активность, % | Титр спор, п/мл | Антифунгальная активность, % | Титр спор, п/мл | Антифунгальная активность, % |
| 1 | $2,9 \cdot 10^9$ | 100 | $2,9 \cdot 10^9$ | 100 | $2,9 \cdot 10^9$ | 100 |
| 2 | $2,2 \cdot 10^9$ | 82 | $2,6 \cdot 10^9$ | 92 | $2,8 \cdot 10^9$ | 92 |
| 3 | $1,9 \cdot 10^9$ | 74 | $2,5 \cdot 10^9$ | 89 | $2,7 \cdot 10^9$ | 89 |
| 4 | $1,5 \cdot 10^9$ | 72 | $2,0 \cdot 10^9$ | 88 | $2,5 \cdot 10^9$ | 88 |
| 5 | $1,4 \cdot 10^9$ | 71 | $1,9 \cdot 10^9$ | 82 | $2,0 \cdot 10^9$ | 82 |
| 6 | $1,3 \cdot 10^9$ | 68 | $1,4 \cdot 10^9$ | 80 | $1,8 \cdot 10^9$ | 80 |
| 7 | $3,3 \cdot 10^8$ | 62 | $4,8 \cdot 10^8$ | 77 | $1,7 \cdot 10^9$ | 77 |
| НСР ₀₅ | $1,9 \cdot 10^8$ | 2,4 | $1,8 \cdot 10^8$ | 3,7 | $2,0 \cdot 10^8$ | 4,1 |

Установлено (табл. 38, рис. 27, 28), что использование до-

бавок позволило сохранить высокий титр спор и антифунгальную активность при хранении биопрепарата.

Таблица 38 – Влияние стабилизирующих добавок на антифунгальную активность биоpestицида Бетапротектин при хранении

| Варианты | Антифунгальная активность, % | | | |
|------------------------------------|------------------------------|--------|--------|--------|
| | Исх. | 1 мес. | 2 мес. | 3 мес. |
| К – без добавок | 100 | 97 | 95 | 94 |
| 1 % гисинар | 100 | 100 | 99 | 97 |
| 1 % гисинар + 4 % NaCl | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 1 % ЕПАА | 100 | 99 | 97 | 98 |
| 1 % ЕПАА + 4 % NaCl | 100 | 100 | 97 | 99 |
| 1 % поливиниловый спирт | 100 | 99 | 97 | 97 |
| 1 % поливиниловый спирт + 4 % NaCl | 100 | 100 | 99 | 98 |
| HCP ₀₅ | | 0,6 | 2,0 | 1,4 |

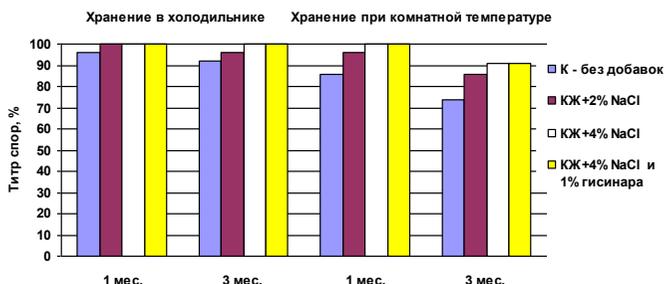


Рисунок 27 – Влияние стабилизирующих добавок на титр спор биоpestицида Бетапротектин при хранении

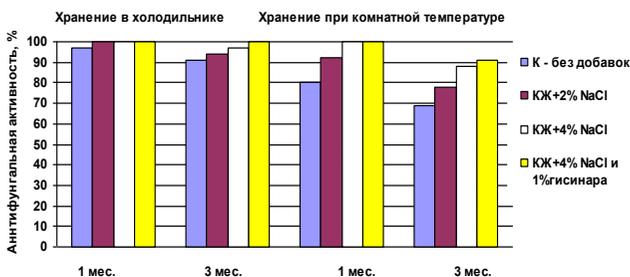


Рисунок 28 - Влияние стабилизирующих добавок на антифунгальную активность биопестицида Бетапротектин при хранении

Наиболее подходящим консервантом оказался NaCl в концентрации 4%. При его внесении титр спор и антифунгальная активность сохранялись на высоком уровне даже при хранении препарата при комнатной температуре. Максимальная сохранность антифунгальной активности и титра спор наблюдалась в варианте с внесением в препарат 4% NaCl и 1% гисинара.

Результаты проведенного эксперимента с определением оптимального промотора адгезии (прилипателя) для биопестицида Бетапротектин с целью усиления эффективности его действия при применении по назначению показали, что все используемые в работе прилипатели оказывают стабилизирующее действие на антифунгальную активность препарата при его хранении. При добавлении в препарат 1% гисинара и 4% NaCl активность препарата поддерживается на 100% уровне в течение 3-х месяцев.

5.3 Отработка технологического процесса получения биопрепарата Бетапротектин в опытно-промышленных условиях

На опытно-промышленной установке НТЦ РУП «Новополоцкий завод БВК» проведена отработка опытно-промышленной технологии производства биопестицида Бетапротектин. Глубинное культивирование *B. subtilis* БИМ В-439 Д осуществляли на оптимизированной питательной среде Мейнелла. В процессе оптимизации технологических параметров изменяли скорость вращения мешалки в ферментере от уровня 200 до 250 об/мин.

Динамика роста бактерий при глубинном культивировании в опытно-промышленном ферментере представлена в табл. 39.

В соответствии с полученными результатами оптимальные условия для активного роста бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д достигаются при скорости вращения мешалки в ферментере в интервале от 220 до 250 об/мин. При скорости вращения мешалки 220 и 240 об/мин титр КОЕ и спор достигал $1,2-1,3 \cdot 10^9$ и $1,0-1,1 \cdot 10^9$ уже к 30-36 ч с начала ферментации, в то время как при скорости 250 об/мин максимальные показатели титра клеток и

спор наблюдались только к 42-48 ч, а при скорости 200 об/мин – к 48 ч культивирования бактерий.

В варианте, где скорость мешалки равнялась 240 об/мин, титр КОЕ и титр спор были максимальными и составляли $2,8 \cdot 10^9$ и $2,6 \cdot 10^9$ соответственно.

Таблица 39 - Влияние скорости вращения мешалки на динамику роста клеток *B. subtilis* БИМ В-439 Д при глубинном культивировании в опытно-промышленном ферментере

| Время, ч | 200 об/мин | | 220 об/мин | | 240 об/мин | | 250 об/мин | |
|----------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Титр, п/мл | | Титр, п/мл | | Титр, п/мл | | Титр, п/мл | |
| | КОЕ | спор | КОЕ | спор | КОЕ | спор | КОЕ | спор |
| 0 | $3,4 \cdot 10^7$ | $1,4 \cdot 10^6$ | $1,6 \cdot 10^7$ | $1,0 \cdot 10^6$ | $2,1 \cdot 10^7$ | $1,8 \cdot 10^6$ | $1,4 \cdot 10^7$ | $2,6 \cdot 10^6$ |
| 2 | $1,4 \cdot 10^7$ | $9,0 \cdot 10^5$ | $1,8 \cdot 10^7$ | $1,6 \cdot 10^6$ | $2,4 \cdot 10^7$ | $3,7 \cdot 10^6$ | $1,5 \cdot 10^7$ | $3,6 \cdot 10^6$ |
| 6 | $1,5 \cdot 10^7$ | $9,0 \cdot 10^5$ | $1,9 \cdot 10^7$ | $1,6 \cdot 10^6$ | $1,3 \cdot 10^7$ | $5,2 \cdot 10^6$ | $5,3 \cdot 10^7$ | $7,8 \cdot 10^6$ |
| 12 | $2,3 \cdot 10^7$ | $1,9 \cdot 10^6$ | $2,0 \cdot 10^7$ | $1,6 \cdot 10^6$ | $3,6 \cdot 10^7$ | $1,7 \cdot 10^7$ | $5,8 \cdot 10^7$ | $8,7 \cdot 10^6$ |
| 18 | $1,8 \cdot 10^7$ | $3,5 \cdot 10^6$ | $2,4 \cdot 10^8$ | $4,5 \cdot 10^7$ | $3,5 \cdot 10^7$ | $1,7 \cdot 10^7$ | $9,3 \cdot 10^7$ | $1,6 \cdot 10^7$ |
| 24 | $1,9 \cdot 10^7$ | $5,6 \cdot 10^6$ | $2,5 \cdot 10^8$ | $1,6 \cdot 10^8$ | $4,2 \cdot 10^8$ | $3,1 \cdot 10^8$ | $1,2 \cdot 10^8$ | $6,2 \cdot 10^7$ |
| 30 | $1,9 \cdot 10^7$ | $7,8 \cdot 10^6$ | $1,2 \cdot 10^9$ | $1,0 \cdot 10^9$ | $8,9 \cdot 10^8$ | $6,7 \cdot 10^8$ | $1,7 \cdot 10^8$ | $9,0 \cdot 10^7$ |
| 36 | $9,0 \cdot 10^7$ | $5,0 \cdot 10^6$ | $1,2 \cdot 10^9$ | $1,1 \cdot 10^9$ | $1,3 \cdot 10^9$ | $1,0 \cdot 10^9$ | $1,8 \cdot 10^8$ | $1,0 \cdot 10^8$ |
| 42 | $1,0 \cdot 10^8$ | $6,0 \cdot 10^7$ | $1,4 \cdot 10^9$ | $1,3 \cdot 10^9$ | $2,0 \cdot 10^9$ | $1,6 \cdot 10^9$ | $1,1 \cdot 10^9$ | $7,5 \cdot 10^8$ |
| 48 | $1,6 \cdot 10^9$ | $1,5 \cdot 10^8$ | $2,1 \cdot 10^9$ | $2,0 \cdot 10^9$ | $2,8 \cdot 10^9$ | $2,6 \cdot 10^9$ | $2,0 \cdot 10^9$ | $1,7 \cdot 10^9$ |

На основании полученных данных, построены кривые роста бактерий в процессах ферментации при различных режимах вращения мешалки (рис. 29).

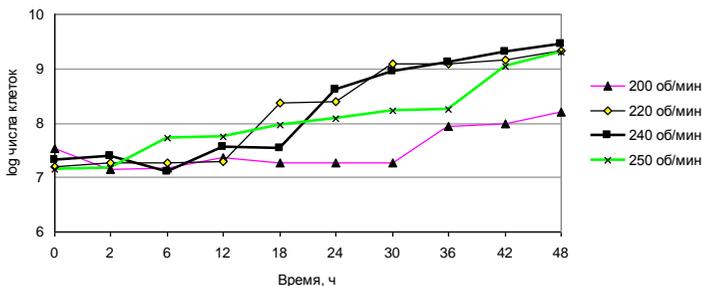


Рисунок 29 - Динамика роста бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д в процессе культивирования в опытно-промышленном ферментере при различной скорости вращения мешалки

Для оценки динамики процесса спорообразования бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д в процессе их культивирования в опытно-промышленном ферментере рассчитывали выход спор – процентное соотношение титра спор от общего количества клеток (КОЕ) (рис. 30).

Согласно полученным результатам, период наиболее активного спорообразования у бактерий при культивировании начинается с 24 ч с начала ферментации и достигает максимальных величин (92-95 %) к 36-48 ч культивирования в зависимости от скорости перемешивания. В целом было установлено, что увеличение скорости перемешивания культуральной жидкости в опытно-промышленном ферментере от 200 до 220 об/мин позитивно влияет на рост и спорообразование бактерий, но при дальнейшем увеличении скорости мешалки до 250 об/мин эти процессы несколько замедляются.

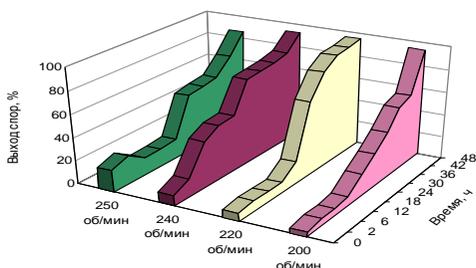


Рисунок 30 - Динамика спорообразования бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д при глубинном культивировании в опытно-промышленном ферментере

Высокая скорость вращения мешалки в ферментере способствует активному приросту биомассы. При скоростях от 220 до 250 об/мин отмечалось более активное накопление биомассы, чем при 200 об/мин. Самое высокое содержание абсолютно сухого вещества в ферментере наблюдалось при 240 об/мин (рис. 31).

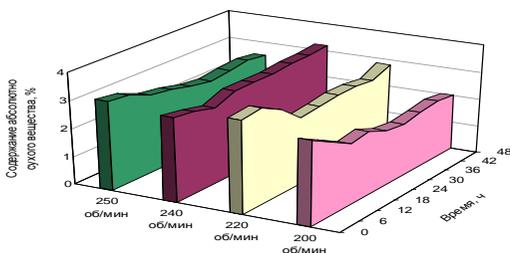
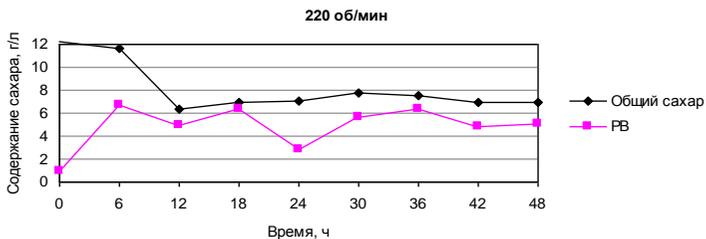
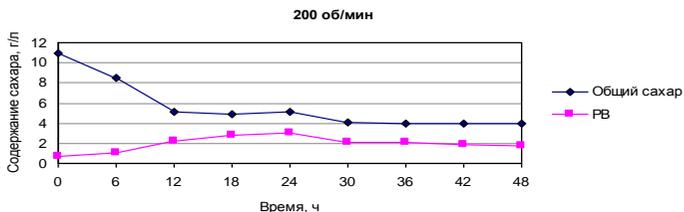


Рисунок 31 - Динамика накопления биомассы культурой *B. subtilis* БИМ В-439 Д при глубинном культивировании в опытно-промышленном ферментере

В соответствии с динамикой потребления углеводов культурой *B. subtilis* БИМ В-439 Д (рис. 32) при различных режимах вращения мешалки в опытно-промышленном ферментере происходит примерно одинаковое потребление углеводов в среде, однако при 240 об/мин наблюдалось их более полное усваивание.



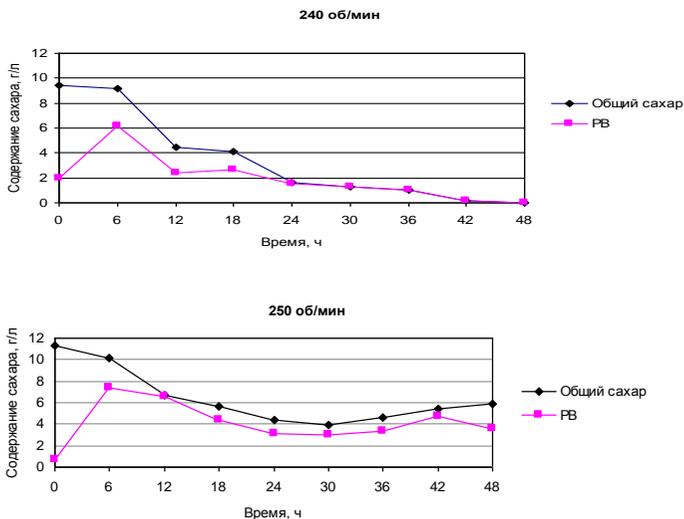


Рисунок 32 - Динамика потребления сахаров в процессе культивирования *B. subtilis* БИМ В-439 Д в опытно-промышленном ферментере при различной скорости вращения мешалки

При скорости перемешивания от 220 до 240 об/мин отмечалось и более полное потребление азота в среде (рис. 33). Динамика изменения содержания фосфора в процессе культивирования бактерий, независимо от режима перемешивания, была примерно одинаковой (рис. 34).

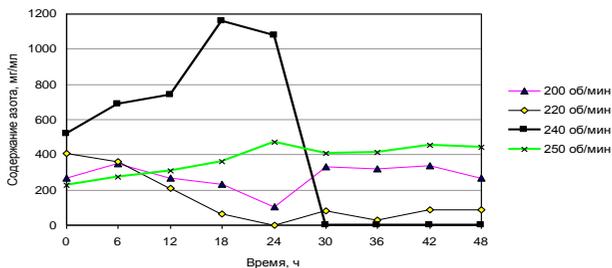


Рисунок 33 - Динамика изменения содержания азота в процессе культивирования бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д в опытно-промышленном ферментере

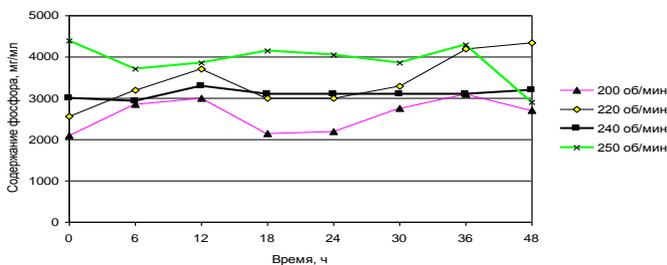


Рисунок 34 - Динамика изменения содержания фосфора в процессе культивирования *B. subtilis* БИМ В-439 Д в опытно-промышленном ферментере

При скоростях вращения мешалки от 220 до 250 об/мин наблюдалось поддержание активной кислотности на протяжении всего времени культивирования бактерий на нейтральном уровне от pH 6,5 до 7,4, тогда как при 200 об/мин отмечались более сильные колебания с подкислением среды до pH 5,9 (рис. 35).

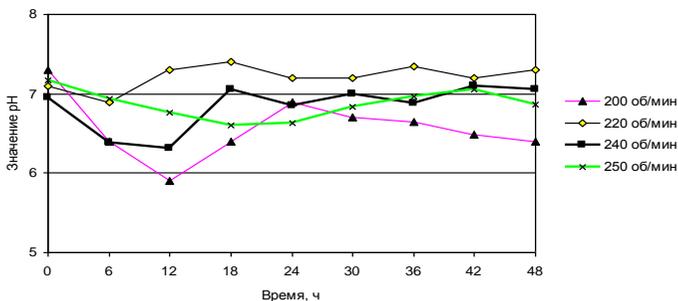


Рисунок 35 - Динамика изменения активной кислотности среды в процессе культивирования *B. subtilis* БИМ В-439 Д в опытно-промышленном ферментере

Изучение динамики антифунгальной активности *B. subtilis* БИМ В-439Д в процессе культивирования в опытно-промышленном ферментере при использовании в качестве тест-объекта *F. redolens* показало, что антагонистическая активность

культуры бактерий при увеличении скорости вращения мешалки возростала (рис. 36).

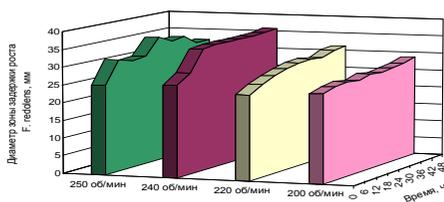


Рисунок 36 - Динамика изменения антагонистической активности *B. subtilis* БИМ В-439 Д, выращенных в опытно-промышленном ферментере при различной скорости вращения мешалки

Изменение скорости вращения мешалки с 200 до 250 об/мин приводило к увеличению антагонистической активности культуры – диаметр зоны задержки роста гриба увеличивался с 28,5 до 35,8 мм, причем максимум активности достигался к 24 ч ферментации, что практически на сутки быстрее, чем при 200 об/мин. Препарат с наибольшей антифунгальной активностью был получен при скорости вращения мешалки 240 об/мин.

Анализ полученных данных позволяет сделать вывод о том, что при выращивании бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д в опытно-промышленном ферментере НТЦ РУП «Новополоцкий завод БВК» более высокие показатели, характеризующие ферментационный процесс, достигаются при скорости вращения мешалки 240 об/мин. Такой режим скорости перемешивания позволяет получить к 36-48 часам ферментации биопестицид Бета-протектин с титром клеток и спор ($1-2,8 \cdot 10^9$) и высокой антагонистической активностью.

В соответствии с результатами проведенных исследований оптимальные условия для глубинного культивирования бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д и проявления максимальной антагонистической активности культуры достигаются при интенсивности аэрации 1 л воздуха/л среды·мин, температуре $(33 \pm 2)^\circ\text{C}$ и скорости вращения мешалки 240 об/мин. Оптимальная продолжительность ферментационного процесса составляет 48 ч.

Полученные результаты явились основой для разработки опытно-промышленного регламента на производство биопестицида «Бетапротектин».

Совместно с РУП «Новополоцкий завод БВК» разработан и утвержден «Опытно-промышленный регламент на производство биопестицида Бетапротектин». Документ согласован в Департаменте по хлебопродуктам Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь.

В опытно-промышленном регламенте (ОПР) на производство биопестицида Бетапротектин приводится характеристика конечной продукции производства, технологическая схема производства, аппаратурная схема производства и спецификация оборудования, характеристика сырья, материалов и полупродуктов, описание технологического процесса, материальный баланс, переработка и обезвреживание отходов производства, контроль производства, охрана труда, техника безопасности, пожарная безопасность, производственная санитария и условия труда работающих, охрана окружающей среды, перечень производственных инструкций, технико-экономические нормативы, и информационные материалы.

Согласно «Заключению по токсиколого-гигиенической оценке микробного препарата Бетапротектин», представленного ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены» Министерства здравоохранения Республики Беларусь, микробный препарат Бетапротектин на основе штамма бактерий *Bacillus subtilis* БИМ В-439 Д, не проявляет вирулентных, токсигенных и токсических свойств, не обладает раздражающим кожу и слизистые оболочки действием.

После недельного интраназального введения в максимально возможной концентрации препарат вызывает в организме белых крыс индукцию выраженной гиперчувствительности замедленного типа (2 класс аллергенной активности). При месячном ингаляционном воздействии препарата в максимально возможной концентрации у опытных животных выявлены выраженный алергизирующий эффект в основном анафилактического клеточноопосредованного типов гиперчувствительности, антигенная способность, проявляющаяся угнетением фагоцитарно-

клеточного звена иммунитета, существенные проявления гемотоксического действия при отсутствии иммуномодулирующего.

На основании результатов выполненных исследований РНПЦГ считает возможным рекомендовать микробный препарат Бетапротектин для постоянной государственной регистрации в Республике Беларусь в качестве препарата биологической защиты сахарной свеклы от кагатной гнили, опытно-промышленного производства и использования по назначению. Использование биопрепарата «Бетапротектин» в качестве пестицида экологически безопасно.

Условия и обеспечение труда работающих при производстве и применении препарата должны соответствовать требованиям соответствующих санитарных правил и норм, следует предусмотреть меры коллективной и индивидуальной защиты, а также меры первичной и вторичной медицинской профилактики.

5.4 Разработка методов контроля качества биопестицида Бетапротектин

Для оценки качественных показателей биопестицида Бетапротектин проводили наработку опытной партии препарата в условиях глубинного культивирования бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д в лабораторном ферментере АНКУМ 2М, емкостью 10 л в течение 3 суток при температуре 30°C на питательной среде Мейнелла с мелассой. Органолептические, биохимические и микробиологические показатели полученных образцов препарата представлены в табл. 40.

Таблица 40 - Основные показатели жидкого биопрепарата Бетапротектин

| Наименование показателя | Характеристика и норма |
|-------------------------|--|
| 1 | 2 |
| Внешний вид, цвет | Суспензия серо-коричневого цвета с размером взвешенных частиц не более 0,25 мм |
| Запах | Слабый, специфический для данного продукта |

| Продолжение таблицы 40 | |
|--|-----------|
| 1 | 2 |
| Плотность, г/см ³ | 1,01-1,05 |
| Показатель концентрации водородных ионов (рН) | 6,8-7,4 |
| Титр спор, млрд./мл, не менее | 1,0 |
| Антифунгальная активность, оцениваемая по диаметру зоны подавления роста тест-культуры <i>Fusarium redolens</i> , мм | 28-32 |

Полученные данные в совокупности с результатами ранее проведенных исследований по разработке лабораторной технологии получения биопрепарата Бетапротектин и изучению его качественных показателей явились основанием для разработки технических условий (ТУ) на препарат.

Настоящие технические условия распространяются на биопестицид Бетапротектин - биологический препарат фунгицидного действия предназначенный для защиты сахарной свеклы от кагатной гнили. Действующее начало биопестицида споры и продукты метаболизма спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* БИМ В-439Д. Биопрепарат получают путем глубинного культивирования бактерий. Биопестицид «Бетапротектин» обладает широким спектром антагонистического действия в отношении ряда фитопатогенных грибов, вызывающих порчу корнеплодов свеклы при хранении, снижает степень их поражения болезнями и обеспечивает получение экологически чистой продукции.

Технические условия на биопестицид Бетапротектин ТУ ВУ 100289066.045-2008 согласованы в Министерстве сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь - Первым заместителем министра сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь Н.Н. Котковец и в Республиканском центре гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья Главным врачом - Заместителем Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь В.В. Гринь. Государственным комитетом по стандартизации Республики Беларусь внесены в реестр Государственной регистрации под № 025514 от 05.12.2008. Срок

действия ТУ на биопестицид Бетапротектин с 05.12.2008 г. по 05.12.2013 г.

Нами разработаны и утверждены **Методы контроля показателей качества биопестицида Бетапротектин.**

1. Определение объема

Для определения объема биопестицида «Бетапротектин» необходимы следующие *материалы и аппаратура*:

- цилиндры 1-250-1, 1-500-1, 1-1000-1 по ГОСТ 1770;
- весы для статического взвешивания по ГОСТ 29329 с пределом взвешивания 50 кг, определения класс точности средний, цена деления 0,1 кг.

Проведение испытания.

Для контроля объема биопестицида «Бетапротектин» в потребительской таре из каждой единицы транспортной тары, включенной в выборку по п.4.4, отбирают по 1 единице потребительской тары или 2 фляги или канистры и в каждой из них определяют объем пестицида.

Содержимое полимерных флаконов вместимостью 0,25; 0,50; 1,0 дм³ помещают в соответствующий цилиндр 1-250-1, 1-500-1, 1-1000-1 и контролируют объем препарата в потребительской таре.

Объем биопестицида «Бетапротектин» в пластмассовой канистре вместимостью 20 дм³ и фляге вместимостью 40 дм³ контролируют косвенным методом. Тару с фасованным препаратом взвешивают на весах для статического взвешивания и определяют массу. Учитывая плотность биопестицида «Бетапротектин», определенную по п. 3 и массу пустой тары, контролируют объем препарата в канистре или фляге по формуле:

$$V=(m-m_1)/\rho,$$

где V – объем препарата, см³;

m – масса тары с препаратом, г;

m₁ - масса пустой тары, г;

ρ – плотность препарата, г/см³.

2. Определения цвета, запаха, размера взвешенных частиц

Для определения цвета, запаха, размера взвешенных частиц биопестицида «Бетапротектин» необходимы следующие материалы и оборудование:

- стаканы В-1-100 ТС по ГОСТ 25336;
- бумага писчая по ГОСТ 18510;
- сито с сеткой 025 по ГОСТ 6613.

Проведение испытания.

Пробу биопестицида «Бетапротектин» объемом не менее 50 см³ помещают в стеклянный стакан. Стакан устанавливают на лист бумаги писчей и рассматривают при рассеянном дневном свете с целью определения цвета препарата.

Запах биопестицида «Бетапротектин» контролируют органолептически.

Размер взвешенных частиц биопрепарата контролируется с помощью сита с сеткой 025 (должно достигаться полное прохождение суспензии через отверстия указанного размера).

3. Определение плотности

Для определения плотности биопестицида «Бетапротектин» необходимо следующее оборудование:

- пикнометры стеклянные ПЖ2-100-КШ 10/19 по ГОСТ 22524;
- весы лабораторные электронные, наибольший предел взвешивания 200 г, дискретность 0,01 г, класс точности высокий по ГОСТ 24104.

Проведение испытания.

Плотность биопестицида «Бетапротектин» определяют по ГОСТ 18995.1, используя пикнометры стеклянные вместимостью 100 см³. За результат испытания принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, абсолютное расхождение между которыми при доверительной вероятности Р=0,95 не превышает значения допустимого расхождения, равного 0,005 г/см³.

4. Определения показателя концентрации водородных ионов (рН)

Для определения показателя концентрации водородных ионов (рН) биопестицида «Бетапротектин» необходимы следующие: *оборудование, материалы, реактивы, растворы*:

- рН-метр лабораторный (иономер) по действующим ТНПА, с пределами измерения 0-14 единиц, с ценой деления 0,01 или 0,05 единиц рН;
- стаканы Н-1-50 ТС или Н-2-50 ТС по ГОСТ 25336;
- бумага фильтровальная по ГОСТ 12026;
- стандарт-титры рН 9,18; 6,86; 4,01 единиц рН по ГОСТ 8.135;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709;
- кислота соляная, х.ч. по ГОСТ 3118.

Подготовка к испытанию.

Метод основан на потенциометрическом определении рН.

Перед началом определения настраивают рН-метр по трем буферным растворам, приготовленным из стандарт-титров с рН 4,01; 6,86 и 9,18 при температуре $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$, согласно инструкции, приложенной к нему.

Проведение испытания.

20 см³ биопестицида «Бетапротектин» наливают в стакан вместимостью 50 см³, доводят температуру до $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ и производят замер. Отсчет по шкале рН-метра следует проводить после того, как показания примут постоянное значение. Время установления показания не превышает 3 мин. Результат измерения округляют до первого десятичного знака. За результат контроля принимают среднее арифметическое значение трех параллельных результатов определения, допустимое расхождение между которыми не должно превышать 0,1 единиц рН.

5. Метод определения титра спор в 1 см³

Для определения титра спор в 1 см³ биопестицида «Бетапротектин» необходимы следующие: *оборудование, материалы, реактивы, растворы*:

- автоклав по ГОСТ 28694;

- весы лабораторные электронные, наибольший предел взвешивания 200 г, дискретность 0,01 г, класс точности высокий по ГОСТ 24104;
- термостат с диапазоном рабочих температур от 28°C до 70°C, позволяющий поддерживать заданную температуру с погрешностью $\pm 1^\circ\text{C}$;
- рН-метр лабораторный (иономер) по действующим ТНПА, с пределами измерения 0-14 единиц, с ценой деления 0,01 или 0,05 единиц рН;
- баня водяная;
- чашки Петри по ГОСТ 25336;
- пробирки стеклянные по ГОСТ 25336;
- пипетки мерные вместимостью 1, 2, 5 и 10 см³ по ГОСТ 29227;
- спиртовка СК-1 по ГОСТ 25336;
- термометр жидкостной стеклянный по ГОСТ 28498, позволяющий измерять температуру в диапазоне 0-100°C, с ценой деления (1-2)°C;
- цилиндр 1-1000-1 по ГОСТ 1770;
- мясо-пептонный бульон по ГОСТ 20730;
- агар микробиологический по ГОСТ 17206;
- спирт этиловый технический по ГОСТ 17299;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Проведение испытания.

Приготовление плотных питательных сред с массовой долей агара 1,2 и 2 %.

Для получения плотной питательной среды с массовой долей агара 1,2 % в колбу с (98,8 \pm 0,1) г мясо-пептонного бульона (рН 7,0) вносят агар микробиологический в количестве (1,2 \pm 0,05) г, а для получения плотной питательной среды с массовой долей агара 2,0 % в колбу с (98,0 \pm 0,1) г мясо-пептонного бульона (рН 7,0) вносят агар микробиологический в количестве (2,0 \pm 0,05) г. Содержимое колб перемешивают и стерилизуют в автоклаве при давлении 0,1 МПа в течение 40 мин. Мясо-пептонный агар (МПА) с массовой долей агара 1,2 % помещают в термостат при температуре (42 \pm 2)°C с целью последующего использования в качестве второго слоя. МПА с массовой долей агара 2,0 %,

соблюдая правила асептики, разливают по 15 см³ в 6 чашек Петри. После застывания среды чашки Петри подсушивают в термостате при температуре (33±3)°С с целью удаления капель влаги с крышек и проверяют на чистоту по ГОСТ 28085.

Приготовление серии разведений биопестицида «Бетапротектин».

Стерильно отбирают пробу биопестицида «Бетапротектин» объемом 1 см³ и вносят в пробирку с 9 см³ стерильной дистиллированной воды, получая первое разведение (10⁻¹). Пробирку с содержимым помещают в горячую водяную баню и подвергают термической обработке (10 мин при температуре (80±2)°С). После охлаждения из этой пробы готовят ряд последовательных десятикратных разведений до 10⁻⁶, 10⁻⁷. Для этого из пробирки с первым разведением после тщательного перемешивания стерильной пипеткой отбирают 1 см³ полученной суспензии и переносят во 2-ю пробирку с 9 см³ стерильной дистиллированной воды – получают 2-е разведение (10⁻²). Таким же образом готовят последующие разведения. Для приготовления каждого разведения следует обязательно использовать стерильную пипетку.

В чашки Петри с застывшим слоем МПА стерильно вносят по 0,1 см³ суспензии из пробирок с разведениями 10⁻⁶ и 10⁻⁷ и заливают, осторожно перемешивая, 5 см³ второго слоя МПА (массовая доля агара 1,2 %). Из каждого разведения делают 3 параллельных посева. После застудневания верхнего слоя чашки Петри помещают в термостат при (30±2)°С и инкубируют в течение 24-26 ч, после чего подсчитывают количество образовавшихся колоний.

Обработка результатов.

Титр спор (количество жизнеспособных спор) в 1 см³ биопестицида «Бетапротектин» вычисляют по формуле:

$$T=A \cdot 10^n / V,$$

где T - количество жизнеспособных спор *Bacillus subtilis* БИМ В-439 Д в 1 см³;

A - среднее количество колоний при посеве каждого разведения на трех чашках Петри;

10 – коэффициент разведения;

n – порядковый номер разведения, из которого сделан посев;

V – объем пробы, взятой для посева, см³.

6. Определения антифунгальной активности

Для определения антифунгальной активности биоpestицида «Бетапротектин» в отношении тест-культуры *Fusarium redolens* необходимы следующие: *аппаратура, материалы, реактивы*:

- автоклав по ГОСТ 28694;
- весы лабораторные электронные, наибольший предел взвешивания 200 г, дискретность 0,01 г, класс точности высокий по ГОСТ 24104;
- термостат с диапазоном рабочих температур от 28°C до 70°C, позволяющий поддерживать заданную температуру с погрешностью $\pm 1^\circ\text{C}$;
- рН-метр лабораторный (иономер) по действующим ТНПА, с пределами измерения 0-14 единиц, с ценой деления шкалы 0,01 или 0,05 единиц рН;
- чашки Петри по ГОСТ 25336;
- пробирки стеклянные по ГОСТ 25336;
- пипетки мерные вместимостью 1, 2, 5 и 10 см³ по ГОСТ 29227;
- спиртровка СК-1 по ГОСТ 25336;
- термометр жидкостной стеклянный по ГОСТ 28498, позволяющий измерять температуру в диапазоне 0-100°C, с ценой деления 1-2°C;
- цилиндр 1-1000-1 по ГОСТ 1770;
- бульон Хоттингера по действующим ТНПА;
- картофельно-декстрозная среда по действующим ТНПА;
- агар микробиологический по ГОСТ 17206;
- спирт этиловый технический по ГОСТ 17299;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Проведение испытания.

Приготовление плотных питательных сред с массовой долей агара 1,2 и 2,0 %.

Для получения плотной питательной среды с массовой долей агара 1,2 % в колбу с (98,8 \pm 0,1) г бульона Хоттингера (рН

6,0) вносят агар микробиологический в количестве $(1,2 \pm 0,05)$ г, а для получения плотной питательной среды с массовой долей агара 2,0 % в колбу с $(98,8 \pm 0,1)$ г бульона Хоттингера (рН 6,0) вносят агар микробиологический в количестве $(2,0 \pm 0,05)$ г. Содержимое колб (бульон Хоттингера агаризованный, БХА) перемешивают и стерилизуют в автоклаве при давлении 0,1 МПа в течение 40 мин. БХА с массовой долей агара 1,2 % помещают в термостат при температуре $(42 \pm 2)^\circ\text{C}$ с целью последующего использования в качестве второго слоя. БХА с массовой долей агара 2 %, соблюдая правила асептики, разливают по 15 см^3 в 5 чашек Петри и оставляют для застывания среды.

*Выращивание тест-культуры *Fusarium redolens* для засева БХА.*

Колбу вместимостью 250 см^3 с 50 см^3 стерильной картофельно-декстрозной среды (рН 6,0) с помощью стерильной бактериологической петли засевают 3-суточной культурой *Fusarium redolens*, полученной на скошенном картофельно-декстрозном агаре, и выращивают в колбах на качалке (200 об/мин) в течение трех суток. Жидкую культуру тест-объекта смешивают в соотношении 1:4 с БХА (массовая доля агара 1,2 %), затем разливают по 5 см^3 на поверхность БХА с массовой долей агара 2 % и оставляют для застывания.

Оценка антифунгальной активности.

Стерильным пробочным сверлом из инокулированных *Fusarium redolens* агаровых пластинок вырезают диски диаметром 10 мм, получая на каждой чашке Петри по 2 симметрично расположенных отверстия, в которые вносят по $0,1 \text{ см}^3$ биопестицида «Бетапротектин». После внесения жидкости в лунки чашки осторожно устанавливают в холодильник при 10°C для диффузии и спустя 5 ч переносят в термостат с температурой $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$. Через 48 ч измеряют диаметр образовавшихся вокруг лунок зон подавления роста тест-культуры гриба.

Обработка результатов.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое значение величины диаметра зон подавления роста тест-объекта, рассчитанное по данным, полученным на пяти чашках Петри.

6. Технология применения биопестицида Бетапротектин против кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы

6.1 Определение оптимальной нормы расхода биопрепарата и нормы расхода рабочего состава

Для определения оптимальной нормы расхода биопестицида Бетапротектин нами были заложены опыты на различных гибридах сахарной свеклы в производственных условиях УО СПК “Путришки” Гродненского района (табл. 41).

Установлено, что бактериальный препарат сдерживает развитие кагатной гнили уже при норме расхода 0,25 л/т корнеплодов. Однако биологическая эффективность при этой дозировке очень низка (2,2 % - 4,1 % в зависимости от гибрида). Применение биопрепарата с нормой расхода 0,5 л/т обеспечивает повышение его биологической эффективности на гибридах Сильвана, Казино и Марс до 17,2 %, 21,6 % и 21,1 % соответственно. С увеличением нормы расхода препарата до 1 л/т эффективность Бетапротектина на корнеплодах гибрида Сильвана достигает 20,0 %, гибрида Казино – 24,7 % и гибрида Марс – 27,1 %.

Выявлено, что норма расхода рабочего состава не должна превышать 3 л/т корнеплодов, поскольку это приводит к снижению биологической и хозяйственной эффективности препарата (Свиридов А.В. и др., 2011; Попов Ф.А. и др., 2010).

Таблица 41 – Влияние нормы расхода рабочего состава и препарата на его эффективность (2008 г.)

| Вариант | Норма расхода препарата, л/га | Норма расхода рабочего состава, л/га | Гибрид | Распространенность кагатной гнили, % | Развитие кагатной гнили, % | Вредоносность, % | Биологическая эффективность, % | Хозяйственная эффективность, % |
|-------------------|-------------------------------|--------------------------------------|----------|--------------------------------------|----------------------------|------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| 1. | 0,25 л/т | 3 | Сильвана | 93,3 | 38,1 | 15,1 | 2,2 | 0,5 |
| 2. | 0,5 л/т | | | 80,0 | 32,2 | 12,6 | 17,2 | 3,2 |
| 3. | 1л/т | | | 90,0 | 31,1 | 10,0 | 20,0 | 6,1 |
| 4. | Контроль – без обработки | | | 90,0 | 38,9 | 15,5 | | |
| НСП ₀₅ | | | | | 2,4 | | | |

| Продолжение таблицы 41 | | | | | | | | |
|------------------------|--------------------------|---|--------|------|------|------|------|-----|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| 5. | 0,25 л/т | 3 | Казино | 81,7 | 34,4 | 13,9 | 3,8 | 0,1 |
| 6. | 0,5 л/т | | | 75,0 | 28,1 | 10,0 | 21,6 | 4,4 |
| 7. | 1л/т | | | 76,7 | 26,9 | 9,3 | 24,7 | 5,2 |
| 8. | Контроль – без обработки | | | 88,3 | 35,8 | 14,0 | | |
| НСР ₀₅ | | | | | 1,7 | | | |
| 9. | 0,25 л/т | 3 | Марс | 71,7 | 26,7 | 9,8 | 4,1 | 0,5 |
| 10. | 0,5 л/т | | | 65,0 | 21,9 | 7,0 | 21,1 | 3,5 |
| 11. | 1л/т | | | 66,7 | 20,3 | 6,0 | 27,1 | 4,5 |
| 12. | Контроль – без обработки | | | 73,3 | 27,8 | 10,2 | | |
| НСР ₀₅ | | | | | 2,9 | | | |
| 13. | 0,25 л/т | 5 | Марс | 71,7 | 30,3 | 12,6 | 1,1 | 0,5 |
| 14. | 0,5 л/т | | | 80,0 | 28,9 | 10,9 | 5,6 | 1,5 |
| 15. | 1л/т | | | 75,0 | 25,3 | 8,6 | 17,4 | 3,9 |
| 16. | Контроль – без обработки | | | 81,7 | 30,6 | 12,2 | | |
| НСР ₀₅ | | | | | 1,5 | | | |

Показано, что различные нормы расхода препарата и рабочего состава оказывают влияние на технологическое качество и физиологическое состояние корнеплодов. Так, при норме расхода бактериального препарата 0,5 л/т интенсивность дыхания корнеплодов гибридов Сильвана, Казино и Марс снижается на 16,7 мг CO₂/кг·ч; 8,2 и 34 мг CO₂/кг·ч соответственно (табл. 42).

Таблица 42 - Влияние нормы расхода рабочего состава и препарата на технологическое качество корнеплодов сахарной свеклы (2008 г.)

| Гибрид | Расход рабочего состава, л/т | Расход препарата, л/т | Интенсивность дыхания, мг CO ₂ /кг·ч | Сахаристость, % | Инвертный сахар, % | Содержание, ммоль на 1000 г | | |
|----------|------------------------------|-----------------------|---|-----------------|--------------------|-----------------------------|--------|-----------------|
| | | | | | | калий | натрий | α-аминовый азот |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Сильвана | 3 | 0,25 | 33 | 15,3 | 1,3 | 44,8 | 5,4 | 19,7 |
| | | 0,5 | 21 | 16,0 | 0,8 | 41,2 | 5,0 | 19,5 |
| | | 1 | 24 | 16,0 | 0,7 | 60,0 | 4,9 | 12,6 |
| | Контроль - без обработки | | 37,7 | 15,8 | 0,9 | 55,0 | 6,0 | 20,9 |

| Продолжением таблицы 42 | | | | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|-------------------|------|------|------|------|------|------|--|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | |
| | НСР ₀₅ | | | 0,2 | | | | | |
| Казино | 3 | 0,25 | 27,2 | 16,2 | 0,6 | 51,2 | 6,1 | 20,9 | |
| | | 0,5 | 24,6 | 15,7 | 0,9 | 60,0 | 4,8 | 21,4 | |
| | | 1 | 23,2 | 15,8 | 0,9 | 55,8 | 5,3 | 17,5 | |
| | Контроль - без обработки | | 32,8 | 14,9 | 1,3 | 51,7 | 4,6 | 22,9 | |
| | НСР ₀₅ | | | 0,3 | | | | | |
| Марс | 3 | 0,25 | 46,4 | 16,8 | 0,8 | 40,6 | 4,4 | 15,8 | |
| | | 0,5 | 30,3 | 17,1 | 0,9 | 48,0 | 4,7 | 19,4 | |
| | | 1 | 32,8 | 16,5 | 0,6 | 51,1 | 3,9 | 20,0 | |
| | | НСР ₀₅ | | | 0,2 | | | | |
| | 5 | 0,25 | 54,8 | 15,4 | 1,1 | 50,0 | 6,8 | 14,8 | |
| | | 0,5 | 31,1 | 17,2 | 0,5 | 44,9 | 3,5 | 19,7 | |
| | | 1 | 33,4 | 17,7 | 0,5 | 31,4 | 4,5 | 11,4 | |
| Контроль - без обработки | | 64,3 | 16,7 | 0,5 | 47,0 | 5,1 | 19,0 | | |
| | НСР ₀₅ | | | 0,2 | | | | | |

При этом сахаристость корнеплодов составляет 16,0 %; 15,7 и 17,1 % (соответственно на 0,2 %; 0,9 и 0,4 % выше, чем в контроле), а содержание инвертного сахара в корнеплодах гибридов Сильвана и Казино на 0,1 и 0,41 % ниже, чем в контроле.

Следовательно, оптимальной нормой расхода биопрепарата для обработки корнеплодов сахарной свеклы, обеспечивающей эффективную защиту от кагатной гнили при хранении, является не ниже 0,5 л/т при расходе рабочей жидкости не более 3 л/т.

6.2 Оценка влияния температуры на эффективность действия биопестицида Бетапротектина

Условия окружающей среды оказывают влияние на развитие микроорганизмов. Температура – один из важнейших факторов среды, влияющий на скорость ферментативных процессов. Известно, что с повышением температуры до определенного температурного оптимума, находящегося в интервале от 30 до 40°C, скорость реакций растет, а с дальнейшим повышением температуры происходит утрата каталитической активности

бактерии-антагониста *B. subtilis* БИМ В-439 Д вследствие денатурации белков. Для большинства бактерий температурный оптимум развития лежит в границах 30-37°C (Коломиец Э.И. и др., 2009).

Задачей наших исследований является поиск условий, способствующих усилению эффективности действия биопрепарата при его производственном применении. Для изучения влияния температуры на качественные показатели биопрепарата его подогрели до 35°C на водяной бане и поместили в термостат с такой же температурой. Затем проводили определение титра клеток, спор и антагонистической активности по отношению к *F. redolens* в начале опыта, через один, два и три часа нахождения препарата в подогретом состоянии.

Влияние температуры на рост и антифунгальную активность штамма бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д в условиях *in vitro* изучали в интервале температур от 28° до 37°C (рис. 37).

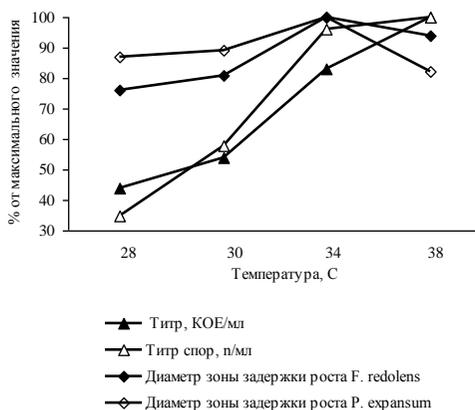


Рисунок 37 – Влияние температуры на рост и антифунгальную активность *B. subtilis* БИМ В-439 Д

Согласно результатам исследования с увеличением температурного режима от 28° до 34°C титр клеток и спор, а также антифунгальная активность культуры возрастают, тогда как при дальнейшем повышении температуры до 37°C титр клеток увеличивается, а антагонистическая активность несколько снижается. Таким образом, наиболее благоприятные условия для роста и

синтеза антимикробных метаболитов данным штаммом бактерий достигаются при температуре около 34°C.

На основании полученных данных было высказано предположение о необходимости активации бактерий перед применением путем предварительного подогрева готового препарата до 35°C (согласно ТУ рекомендуемый температурный режим хранения препарата не должен превышать 15°C).

Для подтверждения данного предположения наработан опытный образец биопрепарата с титром КОЕ и титром спор равным $1,4 \cdot 10^9$ и помещен в холодильник на хранение. С целью активации препарата его подогревали до 35°C и выдерживали при этой температуре в течение 1-3 ч. Оценивали влияние продолжительности температурного воздействия на титр спор и антифунгальную активность бактерий. Результаты экспериментов представлены в таблице 43.

Таблица 43 – Влияние продолжительности подогрева препарата Бетапротектин до температуры 35°C на его качественные показатели

| Время, ч | Опыт 1 | | | Опыт 2 | | |
|-------------------|------------------|----------------------|---|------------------|----------------------|---|
| | Титр КОЕ/мл | Титр спор п/мл | Диаметр зоны задержки роста <i>F.</i> <i>redolens</i> , мм | Титр КОЕ/мл | Титр спор п/мл | Диаметр зоны задержки роста <i>F.</i> <i>redolens</i> , мм |
| 0 | $0,9 \cdot 10^9$ | $1,0 \cdot 10^9$ | 23,5 | $1,1 \cdot 10^9$ | $1,0 \cdot 10^9$ | 22,0 |
| 1 | $1,3 \cdot 10^9$ | $1,3 \cdot 10^9$ | 26,8 | $1,4 \cdot 10^9$ | $1,4 \cdot 10^9$ | 24,0 |
| 2 | $1,2 \cdot 10^9$ | $1,2 \cdot 10^9$ | 37,5 | $1,6 \cdot 10^9$ | $1,4 \cdot 10^9$ | 31,8 |
| 3 | $1,3 \cdot 10^9$ | $1,4 \cdot 10^9$ | 37,4 | $1,3 \cdot 10^9$ | $1,3 \cdot 10^9$ | 30,3 |
| НСР ₀₅ | $0,3 \cdot 10^9$ | $0,2 \cdot 10^9$ | 2,6 | $0,3 \cdot 10^9$ | $0,2 \cdot 10^9$ | 1,5 |

Согласно полученным данным, при подогреве биопрепарата до 35°C и выдержки при этой температуре просходит некоторое увеличение числа клеток и спор, а также заметно возрастает антифунгальная активность, достигая максимального значения после 2-х часов температурного воздействия (рис. 38). Увеличение продолжительности подогрева до 3 ч и более не приводит к дальнейшему повышению контролируемых показателей.

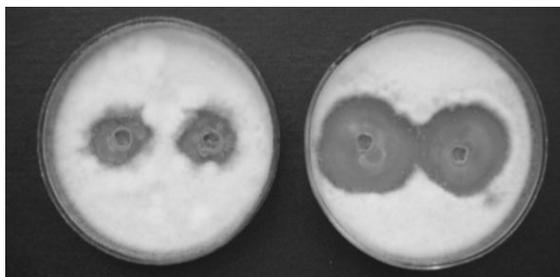


Рисунок 38 – Зоны задержки роста *F. redolens* под действием бактериоантагониста *B. subtilis* БИМ В-439 Д (метод лунок) при использовании непрогретого (чашка Петри слева) и подогретого до 35°С в течение 2-х ч препарата (чашка Петри справа)

При проведении испытаний в условиях *in vivo* за два часа до обработки корнеплодов подогрели биопротектин до 35°С, выдержали его при данной температуре в течение двух часов, а затем обработали корнеплоды и заложили на хранение сроком на 3 месяца, после чего провели мониторинг хранящихся корнеплодов (табл. 44).

В результате проведенных исследований установлено, что при обработке корнеплодов сахарной свеклы перед закладкой на хранение подогретым до температуры 35°С в течение двух часов биопрепаратом, распространенность кагатной гнили снижалась на 25,0%, развитие заболевания – на 12,8%. Биологическая эффективность составила 36,0%, хозяйственная – 6,7% (Свиридов А.В. и др., 2008).

Таблица 44 – Эффективность действия подогретого биопрепарата Бетапротектин против кагатной гнили сахарной свеклы (гибрид Марс, норма расхода препарата 0,5 л/т, норма расхода рабочего состава 3 л/т, 2008 г.)

| № п/п | Вариант | Распространенность кагатной гнили, % | Развитие кагатной гнили, % | Вредность, % | Биологическая эффективность, % | Хозяйственная эффективность, % |
|-------|-----------------------------|--------------------------------------|----------------------------|--------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 1 | Бетапротектин без подогрева | 81,7 | 31,1 | 10,6 | 12,7 | 3,0 |

| Продолжение таблицы 44 | | | | | | |
|------------------------|--|------|------|------|------|-----|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 2 | Бетапротектин с подогревом до 35°С в течение 2-х ч | 70,0 | 22,8 | 6,9 | 36,0 | 6,7 |
| 3 | Контроль – без обработки био-препаратом | 95,0 | 35,6 | 13,1 | - | - |
| НСР _{0,05} | | | 1,77 | | | |

Кроме того обработка корнеплодов подогретым при температуре 35°С в течение двух часов биопрепаратом Бетапротектин способствует снижению интенсивности дыхания на 8,0 мг СО₂/кг·ч и повышению сахаристости на 0,5 % (табл. 45).

Таблица 45 – Влияние подогретого биоpestицида Бетапротектин на качественные показатели корнеплодов сахарной свеклы (гибрид Марс, норма расхода препарата 0,5 л/т, норма расхода рабочего состава 3 л/т, 2008 г.)

| Вариант | Норма расхода препарата / рабочего состава | Интенсивность дыхания, мг СО ₂ /кг·ч | Сахаристость, % | Инвертный сахар, % | Содержание, ммоль на 1000 г | | |
|--|--|---|-----------------|--------------------|-----------------------------|--------|-----------------|
| | | | | | калий | натрий | α-аминовый азот |
| Бетапротектин с подогревом до 35°С в течение 2-х ч | 0,5 л/т / 3 л/т | 34,9 | 16,3 | 1,0 | 46,5 | 4,4 | 14,8 |
| Бетапротектина без подогрева | | 42,9 | 15,8 | 0,5 | 39,5 | 5,0 | 12,4 |
| НСР ₀₅ | | | 0,4 | | | | |

В целях практической реализации полученных результатов возникла необходимость разработки устройства для подогрева биопестицида Бетапротектин от температуры хранения до оптимальной температуры использования. Схема предлагаемого устройства представлена на рис. 39.

Устройство для подогрева раствора содержит емкость 1, внутри которой смонтированы подогреватели-регуляторы 2 температуры воды. На дне емкости 1 установлена гидравлическая мешалка 3, создающая циркуляцию жидкости в емкости. Внутри емкости над гидравлической мешалкой 3 на подставках установлена полость 4 для осуществления теплообмена между жидкостью в емкости и подогреваемым раствором. Подача раствора осуществляется из канистры 5 посредством насоса 6 через гидрорпровод 7. Подогретый раствор по гидрорпроводу 8 поступает в отдельную канистру 9.

Подогрев препарата осуществляется следующим образом. Перед началом работы в емкость 1 монтируют гидравлическую мешалку 3 и подогреватели-регуляторы температуры. После этого производят установку полости 4 для циркуляции подогреваемого раствора и заполняют емкость 1 водой. Так как подогрев жидкости и поддержания заданной температуры в емкости осуществляется посредством подогревателей-регуляторов 2, то для ускорения выхода устройства на рабочий режим можно воспользоваться подогретой водой.

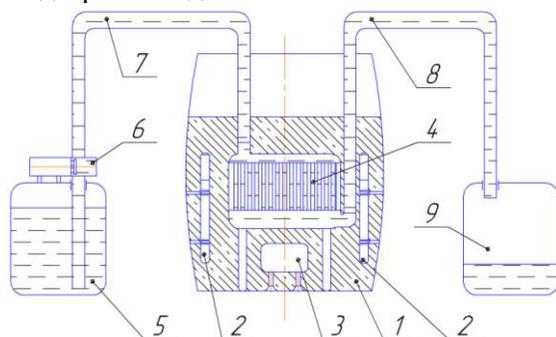


Рисунок 39 – Принципиальная схема устройства для подогрева раствора

Условные обозначения: 1 – емкость; 2 – подогреватели-регуляторы; 3 – мешалка; 4 – тепло; 5, 9 – канистры; 6 – насос; 7,8 – гидрорпроводы

После выхода устройства на рабочий режим с помощью электрического насоса 6 осуществляется подача раствора из канистры 5 по гидропроводу 7 в полость 4, где и происходит его нагрев до температуры окружающей среды, т.е. до температуры воды в емкости 1. Раствор после прохождения полости 4 по гидропроводу 8 сливается в канистру 9. Регулирование скорости подачи раствора на подогрев осуществляется посредством реостата (не показан) вмонтированного в электрическую цепь привода насоса. Контроль температуры жидкости в емкости 1 и раствора в канистре 9 осуществляется с помощью термометров (не показаны).

Для создания данного устройства были закуплены: трансформатор электрического тока, гидравлическая мешалка, ТЭН, регулятор температуры, емкость и пр. (рис. 40).

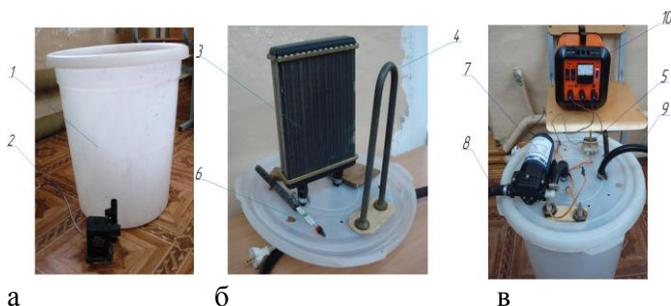


Рисунок 40 – Устройство для подогрева раствора

Условные обозначения: 1 – емкость; 2 – гидравлическая мешалка; 3 – радиатор; 4 – трубчатый электронагреватель; 5 – регулятор температуры; 6 – термометр; 7 - электрический насос; 8, 9 – гидропроводы; 10 – трансформатор: а – емкость; б – вид снизу; в – вид сверху

Представленный образец функционирует следующим образом. После включения устройства в электрическую сеть необходимо подождать, пока вода в емкости 1 нагреется до заданной температуры (42-45°C), контроль температуры воды осуществляется термометром 6. Заданная температура воды поддерживается с помощью регулятора температуры 5, который управляет работой трубчатого электронагревателя 4. Равномерность нагре-

ва всего объема воды обеспечивается гидравлической мешалкой 2.

После достижения водой заданной температуры можно приступать к нагреву раствора, что происходит следующим образом. Входной гидропровод 8 необходимо опустить в канистру с препаратом, а выходной гидропровод 9 в другую канистру. Насос 7 прокачивает холодный раствор через радиатор 3, где и происходит передача тепловой энергии от воды в емкости 1 к раствору в радиаторе. После нагрева раствор через выходной гидропровод 9 сливается в канистру. Производительность установки по раствору регулируется краном, установленным на конце выходного гидропровода 9.

Согласно нашим исследованиям, устройство выходит на рабочий режим за 25-30 минут, нагрев 5-ти литровой канистры осуществляется за 3-3,5 минуты (Бычек П.В., Заяц Э.В., 2009; Патент 6186 РБ, 2010).

Подогретый препарат в дальнейшем помещается в термостат с температурой 35⁰С. При данной температуре биопестицид Бетапротектин выдерживается в течение 2 часов.

Таким образом, перед использованием биопестицид Бетапротектин рекомендуется подогреть до температуры +35⁰С и выдержать данную экспозицию в течение двух часов. Данный прием позволяет снизить распространенность и развитие кагатной гнили по сравнению с неподогретым препаратом. Для подогрева препарата нами разработано приспособление, которое позволяет за короткое время нагреть его без отрицательного воздействия на бактерии.

6.3 Эффективность действия биопестицида Бетапротектин против кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы в зависимости от степени их травмированности

Исследования показали, что эффективность действия био-препарата Бетапротектин против кагатной гнили сахарной свеклы зависит от степени механического повреждения поверхностных тканей корнеплодов (табл.46).

Установлено, что наибольшую биологическую (18,3% - 28,3%) и хозяйственную (5,9% - 11,4%) эффективность биофун-

гицид проявляет при степени травмированности поверхностных тканей корнеплодов от 5 до 25%. Сохранность корнеплодов в этих вариантах достигает 82,5% - 93,2%, развитие кагатной гнили после обработки препаратом снижается на 9,6 - 10,6% (Гри-нашкевич Е.В. и др., 2008). При повышении степени поврежде-ния корнеплодов более 25 % биологическая и хозяйственная эф-фективность препарата снижается до 3,7 - 9,8 % и 3,6 - 8,9 % со-ответственно, а сохранность корнеплодов составляет 57,1 – 70,9%.

Следовательно, для закладки на длительное хранение нельзя допускать сильного травмирования корнеплодов. Меха-нические травмы приводят к интенсивному заражению корне-плодов и развитию кагатной гнили. Выявлено, что наибольшую биологическую и хозяйственную эффективность биопестицид показал при степени травмированности поверхностных тканей корнеплодов от 5 до 25%.

Таблица 46 – Эффективность биопестицида Бетапротектин против кагатной гнили сахарной свеклы в зависимости от степени травмированности корнеплодов (сорт Белорусская односемянная 69)

| Степень поврежде- ния корнепло- дов, % | Развитие кагатной гнили, % | | Биологическая эффек- тивность, % | | Хозяйственная эффек- тивность, % | | Сохранность корне- плодов, % | |
|---|-------------------------------|---------|-------------------------------------|---------|-------------------------------------|---------|---------------------------------|---------|
| | 2008 г. | 2009 г. | 2008 г. | 2009 г. | 2008 г. | 2009 г. | 2008 г. | 2009 г. |
| До 5 | | 37,4 | - | - | - | - | - | 87,6 |
| От 5 до 10 | 45,9 | 47,8 | - | - | - | - | 79,2 | 79,2 |
| От 10 до 25 | 49,3 | 53,2 | - | - | - | - | 75,1 | 71,1 |
| От 25 до 50 | 56,7 | 61,0 | - | - | - | - | 68,4 | 60,4 |
| Более 50 | 73,0 | 70,8 | - | - | - | - | 50,8 | 56,8 |
| Контроль – без обработки | | | | | | | | |
| Обработка корнеплодов биопестицидом Бетапротектин (0,5 л/т) | | | | | | | | |
| До 5 | | 26,8 | - | 28,3 | 28,3 | - | 5,9 | 93,2 |
| От 5 до 10 | 33,0 | 40,7 | 36,9 | 23,1 | 23,1 | 10,5 | 6,3 | 88,5 |
| От 10 до 25 | 39,3 | 47,8 | 43,6 | 18,3 | 18,3 | 12,0 | 10,7 | 85,3 |
| От 25 до 50 | 50,7 | 59,3 | 55,0 | 9,8 | 9,8 | 8,6 | 9,2 | 74,8 |
| Более 50 | 67,8 | 68,5 | 68,2 | 7,2 | 0,1 | 3,7 | 12,7 | 58,1 |
| | | | | | | | | 56,0 |
| | | | | | | | | 87,6 |
| | | | | | | | | 79,2 |
| | | | | | | | | 71,1 |
| | | | | | | | | 60,4 |
| | | | | | | | | 53,8 |
| | | | | | | | | 93,2 |
| | | | | | | | | 86,5 |
| | | | | | | | | 82,5 |
| | | | | | | | | 70,9 |
| | | | | | | | | 57,1 |

6.4 Оценка влияния времени и кратности обработок сахарной свеклы биопестицидом Бетапротектин на его эффективность

Установлено, что двукратная обработка корнеплодов сахарной свеклы Бетапротектином – при уборке и повторном опрыскивании при закладке на хранение (норма расхода препарата 0,5 л/т) является наиболее эффективной (табл. 47). Биологическая эффективность этого приема составляет на гибриде Сильвана – 40,9 %, Марс – 43,7 %, Казино – 42,0 %. При этом сохранность корнеплодов при применении биопрепарата достигает 92,1 – 95,0 %.

Таблица 47 – Влияние кратности обработок корнеплодов биопестицидом Бетапротектин на его эффективность (2008 г.)

| Гибрид | Время обработки | Развитие кагатной гнили, % | Вредность заболевания, % | Биологическая эффективность, % | Хозяйственная эффективность, % | Сохранность корнеплодов, % |
|----------|-----------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| Сильвана | I | 30,0 | 10,0 | 8,4 | 2,8 | 90,0 |
| | II | 21,5 | 6,1 | 34,8 | 7,0 | 93,9 |
| | III | 19,4 | 5,0 | 40,9 | 8,0 | 95,0 |
| | K | 33,1 | 12,6 | - | - | 87,4 |
| Марс | I | 29,2 | 10,2 | 15,8 | 2,7 | 89,9 |
| | II | 22,3 | 6,5 | 35,2 | 6,5 | 93,5 |
| | III | 19,4 | 5,3 | 43,7 | 7,6 | 94,7 |
| | K | 34,6 | 12,6 | - | - | 87,4 |
| Казино | I | 39,4 | 15,7 | 10,4 | 2,5 | 84,3 |
| | II | 27,3 | 8,0 | 38,1 | 10,5 | 92,0 |
| | III | 25,4 | 7,9 | 42,0 | 10,6 | 92,1 |
| | K | 44,2 | 17,7 | - | - | 82,3 |

Примечание: I - обработка при уборке, II – при закладке на хранение, III – при уборке и закладке на хранение, K - контроль без обработки.

Однократная обработка сахарной свеклы Бетапротектином при уборке корнеплодов дает незначительный эффект и снижает развитие заболевания в зависимости от гибрида всего на 2,1-5,4

%. Это можно объяснить травмированием корнеплодов при погрузке, транспортировке и закладке на хранение, что создает дополнительные возможности их заражения фитопатогенами.

Проведение обработки во время закладки корнеплодов на хранение в кагаты обеспечивает повышение биологической эффективности препарата до 34,8 % - 38,1 %.

Установлено, что двукратная обработка корнеплодов сахарной свеклы Бетапротектином – при уборке и закладке на хранение, а также однократная обработка – при закладке на хранение в кагаты – оказывают положительное влияние на технологическое качество и физиологическое состояние корнеплодов (табл. 48).

Таблица 48 – Влияние кратности обработок сахарной свеклы Бетапротектином на физиологическое и технологическое качества корнеплодов (2008 г.)

| Гибрид | Время обработки | Интенсивность дыхания, мг CO ₂ /кг·ч | Сахаристость, % | Инвертный сахар, % | Содержание, ммоль на 1000 г | | |
|----------|-----------------|---|-----------------|--------------------|-----------------------------|--------|----------------|
| | | | | | калий | натрий | α-аминный азот |
| Сильвана | I | 46,7 | 17,2 | 0,24 | 47,7 | 4,7 | 16,7 |
| | II | 32,1 | 17,3 | 0,32 | 45,2 | 4,3 | 16,2 |
| | III | 37,3 | 17,8 | 0,20 | 50,2 | 4,7 | 14,7 |
| | K | 45,9 | 16,9 | 0,29 | 56,6 | 6,5 | 18,2 |
| Марс | I | 43,2 | 17,1 | 0,25 | 42,3 | 3,0 | 15,0 |
| | II | 34,6 | 17,6 | 0,26 | 44,8 | 2,6 | 13,7 |
| | III | 33,0 | 18,0 | 0,20 | 42,6 | 2,3 | 15,4 |
| | K | 46,6 | 17,2 | 0,36 | 42,8 | 2,2 | 16,3 |
| Казино | I | 43,6 | 16,6 | 0,43 | 66,1 | 7,8 | 23,0 |
| | II | 42,2 | 17,1 | 0,33 | 64,6 | 6,7 | 21,0 |
| | III | 34,6 | 16,5 | 0,27 | 55,5 | 5,3 | 19,0 |
| | K | 52,3 | 16,2 | 0,37 | 66,5 | 7,2 | 26,0 |

Примечание: I - обработка при уборке, II – при закладке на хранение, III – при уборке и закладке на хранение, K - контроль без обработки.

Так, интенсивность дыхания корнеплодов в вариантах II и

III составила у гибридов: Сильвана - 32,1-37,3 мг CO₂/кг·ч; Марс – 33,0-34,6 и Казино – 34,6-42,2 мг CO₂/кг·ч, в то время как в контроле этот показатель был выше (45,9 мг CO₂/кг·ч; 46,6 и 52,3 мг CO₂/кг·ч соответственно). Сахаристость корнеплодов в вариантах, где применяли биологический препарат, находилась в пределах 17,2-17,8 %; 17,1-18,0 и 16,5-17,1 %, соответственно. В то же время в контрольных вариантах содержание сахарозы в корнеплодах было несколько ниже (16,9 %; 17,2 и 16,2 % соответственно). Низкое значение инвертного сахара отмечено в варианте с двукратной обработкой корнеплодов биопрепаратом.

В условиях 2009 г. изучение эффективности биопрепарата Бетапротектин проведены на гибриде Кораб. Полученные данные представлены в таблице 49.

Таблица 49 – Влияние кратности обработок корнеплодов биопестицидом Бетапротектин на его эффективность (2009 г.)

| Гибрид | Время обработки | Развитие кагатной гнили, % | Вредность заболевания, % | Биологическая эффективность, % | Сохранность корнеплодов, % |
|--------|-----------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| Кораб | I | 28,7 | 11,0 | 22,0 | 89,0 |
| | II | 26,1 | 9,0 | 29,1 | 91,0 |
| | III | 23,0 | 7,2 | 37,5 | 92,8 |
| | K | 36,8 | 15,0 | - | 85,0 |

Примечание: I - обработка корнеплодов при уборке, II – при закладке на хранение, III – при уборке и закладке на хранение, K - контроль - без обработки.

Наилучшие результаты получены при двукратной обработке корнеплодов – при уборке и закладке их на хранение. Биологическая эффективность данного приема достигает 37,5 %.

Обработка корнеплодов гибрида Кораб биопрепаратом оказывало положительное влияние на их технологическое качество (табл. 50). Содержание сахара находилось на уровне 16,1-16,4 %, в контрольном варианте – 15,9 %.

Таблица 50 - Влияние сроков обработки сахарной свеклы биопестицидом Бетапротектин на физиологическое и технологическое качества корнеплодов (2009 г.)

| Гибрид | Время обработки | Сахаристость, % | Инвертный сахар, % | Содержание, ммоль на 1000 г | | |
|--------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------------------|--------|-----------------|
| | | | | калий | натрий | α-аминовый азот |
| Кораб | I | 16,1 | 0,31 | 60,0 | 4,9 | 15,2 |
| | II | 16,4 | 0,29 | 50,1 | 4,4 | 14,9 |
| | III | 16,1 | 0,35 | 51,0 | 5,0 | 15,1 |
| | K | 15,9 | 0,48 | 52,5 | 5,1 | 16,0 |

Примечание: I - обработка корнеплодов при уборке, II – при закладке на хранение, III – при уборке и закладке на хранение, K - контроль без обработки

Отмечена также тенденция снижения содержания натрия, α-аминового азота и инвертного сахара в корнеплодах по сравнению с контролем во всех опытных вариантах.

Известно, что бактерии *Bacillus subtilis* являются представителями ризосферной микрофлоры и хорошо адаптируются в почвенных условиях. Поскольку первичная инфекция корнеплодов сахарной свеклы возбудителями кагатной гнили происходит еще в период вегетации, была предпринята попытка создать более эффективную систему защиты этой ценной культуры путем комплексной обработки биопестицидом Бетапротектин вегетирующих растений, а также корнеплодов во время уборки и закладки в кагаты. Данные исследования проведены в 2009-2010 гг. на базе РУП “Несвижская опытная станция по сахарной свекле” на гибриде сахарной свеклы Биг Бен. При обработке растений в период вегетации норма расхода биопрепарата составила 1 л/га. Анализ данных показывает, что применение биопестицида Бетапротектин обеспечивает высокую эффективность против гнилей корнеплодов в период вегетации (поясковая парша, фузариозная гниль, бурая гниль). Биологическая эффективность препарата составила от 31,6% до 42,1% в зависимости от срока применения. Наиболее эффективным было опрыскивание растений на ранних фазах развития растений. Причем обработку био-

препаратом можно проводить одновременно с применением гербицидов.

Выявлено последствие обработки растений Бетапротектином в период вегетации на сохранность корнеплодов (табл. 51). Установлено, что опрыскивание растений бетапротектином на ранней стадии развития культуры способствует снижению вредоносности кагатной гнили в кагатах и буртах (Гринашкевич Е.Г. и др., 2009). Наиболее эффективным было однократное применение биопрепарата Бетапротектин путем обработки растений в фазе перед смыканием рядков. В этом варианте отмечен самый низкий уровень развития кагатной гнили – 24,3%. Биологическая эффективность этого приема составила 47,1% при уровне хозяйственной эффективности 19,8%. В варианте без обработки растений биопрепаратом развитие заболевания на корнеплодах в кагатах находилось на уровне 45,9%.

О влиянии обработки растений сахарной свеклы в период вегетации на технологическое качество заложенных впоследствии на хранение корнеплодов гибрида Биг Бен можно судить по данным таблицы 52.

Таблица 52 – Влияние обработки растений сахарной свеклы биопестицидом Бетапротектин в период вегетации на технологическое качество корнеплодов гибрида Биг Бен

| Вариант | Сахаристость, % | | | Содержание, ммоль на 1000 г | | | | | | | | |
|--|-----------------|---------|---------------------|-----------------------------|---------|-------------|---------|-----------------|------------|---------------------|------|-------------|
| | 2009 г. | 2010 г. | в среднем за 2 года | калий | | натрий | | α-аминовый азот | | | | |
| | | | | 2009 г. | 2010 г. | 2009 г. | 2010 г. | 2009 г. | 2010 г. | в среднем за 2 года | | |
| Однократная обработка в фазе 2-4 настоящих листьев | 16,7 | 15,4 | 16,1 | 51,5 | 74,1 | 62,8 | 5,1 | 5,2 | 5,2 | 20,8 | 18,6 | 19,7 |
| Двукратная обработка: в фазе 2-4 настоящих листьев и через 20 дней после 1-ой обработки | 17,6 | 13,9 | 15,8 | 44,2 | 65,1 | 54,7 | 4,4 | 10,2 | 7,3 | 19,3 | 22,1 | 20,7 |
| Однократная обработка в фазе перед смыканием рядков | 17,4 | 14,6 | 16,0 | 45,4 | 76,2 | 60,8 | 4,9 | 6,2 | 5,6 | 20,0 | 24,6 | 22,3 |
| Двукратная обработка: в фазе перед смыканием рядков и через 20 дней после 1-ой обработки | 16,0 | 15,8 | 15,9 | 49,1 | 71,7 | 60,4 | 4,5 | 5,7 | 5,1 | 21,8 | 24,6 | 23,2 |
| Контроль – без обработки | 14,4 | 16,2 | 15,3 | 47,0 | 70,2 | 58,6 | 5,3 | 5,6 | 5,5 | 20,6 | 21,7 | 21,2 |

Среднестатистические данные 2-годичных исследований свидетельствуют о том, что применение однократной обработки растений Бетапротектином (варианты 1 и 3) повышает уровень сахаристости корнеплодов гибрида Биг Бен до 16,0-16,1% по сравнению с 15,3 % в корнеплодах контрольного варианта (без обработки растений в период вегетации).

Низкое содержание калия (54,7ммоль) установлено в варианте с двукратной обработкой в фазе 2-4 настоящего листа и через 20 дней, а натрия и α -аминного азота (5,2 и 19,7 ммоль в 1000г) при однократной обработке растений в фазе 2-4 настоящих листьев.

Для нас представляло интерес изучить эффективность комплексного применения биопестицида Бетапротектин как в период вегетации растений, так и во время закладки корнеплодов на хранение. Норма расхода биопрепарата для обработки растений в период вегетации была равна 1 л/га. Норма расхода биопрепарата для обработки корнеплодов во время закладки на хранение составила 0,5 л/т и 1 л/т. Исследования проводились в 2009-2010 гг. на базе РУП “Несвижская опытная станция по сахарной свекле” на гибриде сахарной свеклы Биг Бен.

Установлено, что в среднем за два года прием комплексного применения биопрепарата Бетапротектин для обработки растений сахарной свеклы в период вегетации и корнеплодов при закладке на хранение существенно сдерживал инфекционный процесс на корнеплодах при хранении сахарной свеклы (табл. 53, 54).

Таблица 53 – Эффективность комплексного применения биопестицида Бетапротектин во время вегетации и при закладке на хранение против кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы

| Вариант | Развитие кагатной гнили, % | | Биологическая эффективность, % | | Хозяйственная эффективность, % | | Сохранность корнеплодов, % | | | | | |
|---|----------------------------|---------|--------------------------------|---------|--------------------------------|---------------------|----------------------------|---------|-------------|---------------------|------|-------------|
| | 2009 г. | 2010 г. | в среднем за 2 года | 2009 г. | 2010 г. | в среднем за 2 года | 2009 г. | 2010 г. | 2011 г. | в среднем за 2 года | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| Обработка растений в фазе 2-4 настоящих листьев (1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (0,5 л/т) | 19,4 | 11,7 | 15,6 | 70,9 | 53,2 | 66,0 | 43,6 | 8,3 | 26,0 | 95,4 | 94,5 | 95,0 |
| Обработка растений в фазе 2-4 настоящих листьев и через 20 дней после 1-ой обработки (по 1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (0,5 л/т) | 24,4 | 12,2 | 18,3 | 63,4 | 51,1 | 60,1 | 42,5 | 8,1 | 25,3 | 93,5 | 94,2 | 93,9 |

Продолжение таблицы 53

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|--|------|------|-------------|------|------|-------------|------|-----|-------------|------|------|-------------|
| Обработка растений в фазе перед смыканием рядков (1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (0,5 л/г) | 31,5 | 18,9 | 25,2 | 52,8 | 24,4 | 45,1 | 38,7 | 5,0 | 21,9 | 87,8 | 91,1 | 89,5 |
| Обработка растений в фазе перед смыканием рядков и через 20 дней после 1-й обработки (по 1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (0,5 л/г) | 29,4 | 15,6 | 22,5 | 55,9 | 37,6 | 51,0 | 40,0 | 6,1 | 23,1 | 89,7 | 92,2 | 91,0 |
| Обработка корнеплодов при закладке на хранение (0,5 л/г) | 43,9 | 16,1 | 30,0 | 34,3 | 35,6 | 34,6 | 30,5 | 6,3 | 18,4 | 77,4 | 92,4 | 85,0 |
| Контроль – без обработки | 66,8 | 25,0 | 45,9 | - | - | - | - | - | - | 53,8 | 86,6 | 70,2 |

Таблица 54 – Эффективность комплексного применения биопестицида Бетапротектин во время вегетации и при закладке на хранение против кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы

| Вариант | Развитие кагатной гнили, % | | Биологическая эффективность, % | | | Хозяйственная эффективность, % | | | Сохранность корнеплодов, % | | | |
|---|----------------------------|---------|--------------------------------|---------|---------|--------------------------------|---------|---------|----------------------------|---------|---------------------|-------------|
| | 2009 г. | 2010 г. | в среднем за 2 года | 2009 г. | 2010 г. | в среднем за 2 года | 2009 г. | 2010 г. | 2009 г. | 2010 г. | в среднем за 2 года | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| Обработка растений в фазе 2-4 настоящих листьев (1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (1 л/т) | 23,9 | 11,1 | 17,5 | 64,2 | 55,6 | 59,9 | 42,5 | 8,6 | 25,6 | 93,6 | 94,7 | 94,2 |
| Обработка растений в фазе 2-4 настоящих листьев и через 20 дней после 1-ой обработки (по 1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (1 л/т) | 20,3 | 9,4 | 14,9 | 69,7 | 62,2 | 65,9 | 43,5 | 9,4 | 26,5 | 95,2 | 95,5 | 95,4 |

Продолжение таблицы 54

| | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|---|------|------|-------------|------|------|-------------|------|-----|-------------|------|------|-------------|
| 1 | | | | | | | | | | | | |
| Обработка растений в фазе перед смыканием рядков (1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (1 л/г) | 16,1 | 10,0 | 13,1 | 75,9 | 60,0 | 67,9 | 44,2 | 9,1 | 26,7 | 96,4 | 95,3 | 95,9 |
| Обработка растений в фазе перед смыканием рядков и через 20 дней после 1-й обработки (по 1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (1 л/г) | 27,2 | 8,3 | 18,7 | 59,2 | 66,8 | 63,0 | 41,3 | 9,1 | 25,2 | 91,6 | 95,3 | 93,5 |
| Обработка корнеплодов при закладке на хранение (1 л/г) | 38,0 | 11,1 | 24,6 | 43,1 | 55,6 | 49,4 | 34,0 | 8,6 | 21,3 | 81,5 | 96,0 | 88,8 |
| Контроль – без обработки | 66,8 | 25,0 | 45,9 | - | - | - | - | - | - | 53,8 | 86,6 | 70,2 |

Так, комплексное применение Бетапротектина снизило развитие кагатной гнили (табл. 54) на 20,7% - 30,3%, и увеличило сохранность корнеплодов на 19,3% - 24,8% по сравнению с контрольным вариантом. Обработка корнеплодов биопрепаратом только при закладке на хранение уменьшила развитие болезни на 15,9% и повысила на 14,8% сохранность корнеплодов. Биологическая эффективность биопрепарата Бетапротектин в вариантах комплексного применения биопрепарата была на уровне 45,1% - 66,0%, хозяйственная – 21,9 - 26,0%. При применении биофунгицида только при закладке корнеплодов на хранение биологическая и хозяйственная эффективность составила 34,6% и 18,4% соответственно.

Увеличение нормы расхода препарата для обработки корнеплодов во время их закладки на хранение до 1 л/т (табл. 55) повысило эффективность обработки по сравнению с нормой расхода 0,5 л/т. При этом биологическая эффективность обработки корнеплодов возросла на 6,4%, а комплексного применения биопестицида на 1,9-22,8%.

Эффективность действия комплексной обработки сахарной свеклы биопестицидом Бетапротектин на качественные показатели хранящихся корнеплодов демонстрируют данные таблиц 55 и 56.

Таблица 55 – Влияние комплексного применения биопестицида Бетапротектин во время вегетации и при закладке на хранение на технологическое качество гибрида Биг Бен

| Сроки обработки | Сахаристость, % | | | | | | Содержание, ммоль на 1000 г | | | | | |
|--|-----------------|------|-------------|------|---------------------|-------------|-----------------------------|-----|------------|------|-----------------|-------------|
| | 2009 г. | | 2010 г. | | в среднем за 2 года | | калий | | натрий | | α-аминовый азот | |
| | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| 1 | 16,7 | 17,1 | 16,9 | 46,8 | 68,7 | 57,8 | 5,1 | 6,5 | 5,8 | 21,9 | 24,3 | 23,1 |
| Обработка растений в фазе 2-4 настоящих листьев (1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (0,5 л/г) | 17,3 | 14,4 | 15,9 | 42,5 | 69,5 | 56,0 | 5,7 | 6,0 | 5,9 | 21,2 | 22,9 | 22,1 |
| Обработка растений в фазе 2-4 настоящих листьев и через 20 дней после 1-ой обработки (по 1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (0,5 л/г) | | | | | | | | | | | | |

Продолжение таблицы 55

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|---|------|------|-------------|------|------|-------------|-----|-----|------------|------|------|-------------|
| Обработка растений в фазе перед смыканием рядков (1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (0,5 л/т) | 15,6 | 15,7 | 15,7 | 50,8 | 61,4 | 56,1 | 4,8 | 5,4 | 5,1 | 22,8 | 22,1 | 22,5 |
| Обработка растений в фазе перед смыканием рядков и через 20 дней после 1-й обработки (по 1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (0,5 л/т) | 16,3 | 16,6 | 16,5 | 48,6 | 67,5 | 58,1 | 4,6 | 5,9 | 5,3 | 21,6 | 21,6 | 21,6 |
| Обработка корнеплодов при закладке на хранение (0,5 л/т) | 15,1 | 16,3 | 15,7 | 45,8 | 63,3 | 54,6 | 5,7 | 7,0 | 6,4 | 20,8 | 21,2 | 21,0 |
| Контроль – без обработки | 14,4 | 16,2 | 15,3 | 47,0 | 70,2 | 58,6 | 5,3 | 5,6 | 5,5 | 20,6 | 21,7 | 21,2 |

Таблица 56 – Влияние комплексного применения биопестицида Бетапротектин во время вегетации и при закладке на хранение на технологическое качество гибрида Биг Бен

| Сроки обработки | Сахаристость, % | | | | | | Содержание, ммоль на 1000 г | | | | | |
|---|-----------------|------|-------------|------|---------------------|-------------|-----------------------------|-----|------------|------|---------------------|-------------|
| | 2009 г. | | 2010 г. | | в среднем за 2 года | | 2009 г. | | 2010 г. | | в среднем за 2 года | |
| | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
| 1 | | | | | | | | | | | | |
| Обработка растений в фазе 2-4 настоящих листьев (1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (1 л/г) | 16,3 | 17,2 | 16,8 | 42,3 | 68,8 | 55,6 | 4,4 | 5,9 | 5,2 | 20,5 | 22,4 | 21,5 |
| Обработка растений в фазе 2-4 настоящих листьев и через 20 дней после 1-ой обработки (по 1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (1 л/г) | 16,6 | 16,7 | 16,7 | 40,4 | 63,0 | 51,7 | 6,0 | 6,6 | 6,3 | 23,6 | 23,9 | 23,8 |

Продолжение таблицы 56

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|---|------|------|-------------|------|------|-------------|-----|-----|------------|------|------|-------------|
| Обработка растений в фазе перед смыканием рядков (1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (1 л/г) | 16,6 | 16,1 | 16,4 | 44,3 | 69,0 | 56,7 | 5,1 | 6,1 | 5,6 | 21,0 | 24,4 | 22,7 |
| Обработка растений в фазе перед смыканием рядков и через 20 дней после 1-й обработки (по 1 л/га) и обработка корнеплодов при закладке на хранение (1 л/г) | 15,1 | 16,7 | 15,9 | 48,8 | 63,8 | 56,3 | 3,3 | 5,2 | 4,3 | 16,6 | 23,9 | 20,3 |
| Обработка корнеплодов при закладке на хранение (1 л/г) | 15,3 | 17,4 | 16,4 | 45,8 | 64,7 | 55,3 | 5,4 | 5,3 | 5,4 | 16,4 | 25,9 | 21,2 |
| Контроль – без обработки | 14,4 | 16,2 | 15,3 | 47,0 | 70,2 | 58,6 | 5,3 | 5,6 | 5,5 | 20,6 | 21,7 | 21,2 |

Выявлено, что корнеплоды с лучшим технологическим качеством были получены при комплексной обработке Бетапротектином вегетирующих растений с последующей обработкой корнеплодов в период закладки их на хранение. Содержание сахарозы в этих вариантах было на уровне 15,7-16,9% в то время как в контроле этот показатель равнялся 15,3 %.

При обработке корнеплодов биопрепаратом Бетапротектин с нормой расхода 0,5 л/т содержание сахарозы в корнеплодах варьировало от 15,7% до 16,9 %. Повышение дозы препарата для комплексной обработки корнеплодов при закладке на хранение в кагаты до 1 л/т незначительно изменяло сахаристость. Ее уровень составил 15,9-16,8%. Однако, при применении биопрепарата только перед закладкой корнеплодов на хранение в количестве 1 л/т содержание сахарозы составило 16,4%, в то время как при использовании 0,5 л/т препарата ее уровень был 15,7%.

В опытах не было отмечено существенных изменений в содержании α -аминного азота в зависимости от дозы препарата. Содержание калия и натрия в корнеплодах при увеличении количества препарата до 1 л/т несколько снизилось.

В лучших по содержанию сахарозы вариантах содержание калия и α -аминного азота было ниже, чем на контроле.

Таким образом, наиболее эффективными способами применения биопрепарата являются одно- двукратное опрыскивание растений в период вегетации в начальной фазе развития культуры с нормой расхода препарата 1 л/га и последовательная обработка корнеплодов при уборке и при закладке на хранение в кагаты.

6.5 Эффективность действия биопестицида Бетапротектин против кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы в зависимости от условий хранения

В 2008 г. нами проведено изучение эффективности Бетапротектина при хранении корнеплодов сахарной свеклы в кагатах и буртах. Испытания Бетапротектина проведены при нормах расхода препарата и рабочего состава 0,5 л/т и 3 л/т соответственно. Обработано 80 тонн корнеплодов сахарной свеклы в двух

сельскохозяйственных предприятиях Гродненской области. Корнеплоды заложены на хранение в бурты УО СПК “Путришки” Гродненского района, СПК «Занеманский» Мостовского района и в кагаты «Скидельского сахарного комбината».

Установлено, что биологическая эффективность биопестицида Бетапротектин достигает 17,5-39,6% при хранении корнеплодов сахарной свеклы в кагатах и буртах (Свиридов А.В. и др., 2008). Причем максимальная сохранность корнеплодов отмечена в буртах, заложенных непосредственно в хозяйствах. В СПК “Занеманский” биологическая эффективность Бетапротектина на корнеплодах, обработанных непосредственно в момент уборки, составила 39,6%, в УО СПК “Путришки” – 37% при уровне хозяйственной эффективности – 18,6%, 36,8% соответственно (табл. 57).

Таблица 57 – Эффективность действия Бетапротектина против кагатной гнили корнеплодов в зависимости от условий хранения

| Гибрид | Условия хранения | Вариант опыта | Распространенность кагатной гнили, % | Развитие кагатной гнили, % | Вредность, % | Биологическая эффективность, % | Хозяйственная эффективность, % |
|--------|------------------|--------------------------|--------------------------------------|----------------------------|--------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Кораб | Кагат | Контроль – без обработки | 98,3 | 34,2 | 10,8 | - | - |
| | | Бетапротектин – 0,5л/т | 90,0 | 24,7 | 5,9 | 27,6 | 5,1 |
| | Бурт | Контроль – без обработки | 100,0 | 70,8 | 49,1 | - | - |
| | | Бетапротектин – 0,5л/т | 91,7 | 42,8 | 19,5 | 39,6 | 18,6 |

| Продолжение таблицы 57 | | | | | | | |
|------------------------|-------|--------------------------|-------|------|------|------|------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Сильвана | Кагат | Контроль – без обработки | 100,0 | 58,9 | 34,6 | - | - |
| | | Бетапротектин – 0,5л/т | 100,0 | 48,6 | 22,0 | 17,5 | 16,1 |
| | Бург | Контроль – без обработки | 100,0 | 56,9 | 30,4 | - | - |
| | | Бетапротектин – 0,5л/т | 83,3 | 35,8 | 14,5 | 37,0 | 36,8 |

Обработка корнеплодов биологическим препаратом Бетапротектин приводит к изменению технологического качества корнеплодов сахарной свеклы (табл. 58).

Таблица 58 – Влияние биопестицида Бетапротектина на качественные показатели корнеплодов сахарной свеклы, хранящихся в условиях буртов и кагатов

| Гибрид | Условия хранения | Вариант опыта | Интенсивность дыхания, мг CO ₂ /кг·ч | Сахаристость, % | Инвертный сахар, % | Содержание, ммоль на 1000 г | | |
|--------|------------------|--------------------------|---|-----------------|--------------------|-----------------------------|--------|-----------------|
| | | | | | | калий | натрий | α-аминовый азот |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Кораб | Кагат | Контроль – без обработки | 41,7 | 16,5 | 0,1 | 56,6 | 4,0 | 22,7 |
| | | Бетапротектин – 0,5л/т | 28,0 | 17,2 | 0,1 | 26,8 | 3,1 | 19,3 |
| | Бург | Контроль – без обработки | 49,9 | 16,9 | 0,9 | 58,0 | 4,8 | 20,0 |
| | | Бетапротектин – 0,5л/т | 31,6 | 17,4 | 0,7 | 38,0 | 3,3 | 18,5 |

| Продолжение таблицы 58 | | | | | | | | |
|------------------------|-------|--------------------------|------|------|-----|------|-----|------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Сильвано | Кагат | Контроль – без обработки | 47,7 | 16,9 | 0,4 | 66,1 | 3,6 | 17,0 |
| | | Бетапротектин – 0,5л/т | 30,0 | 17,1 | 0,3 | 52,4 | 2,6 | 15,4 |
| | Бурт | Контроль – без обработки | 46,7 | 15,0 | 1,5 | 44,9 | 6,5 | 27,4 |
| | | Бетапротектин – 0,5л/т | 37,6 | 17,2 | 0,9 | 39,1 | 4,3 | 16,2 |

Установлено, что при обработке биопрепаратом корнеплодов гибрида Кораб и Сильвана, хранящихся в буртах, повышается сахаристость на 0,5-2,2% и при этом снижается количество калия, натрия и α -аминного азота.

Обработка препаратом сахарной свеклы, хранящейся в кагате ОАО “Скидельский сахарный комбинат”, вызывает снижение интенсивности дыхания корнеплодов с 41,7 до 28,0 мг $\text{CO}_2/\text{кг}\cdot\text{ч}$ у гибрида Кораб и с 47,7 до 30,0 мг $\text{CO}_2/\text{кг}\cdot\text{ч}$ у гибрида Сильвана (таблица 58). В вариантах с применением биопестицида Бетапротектин отмечен более высокий процент сахаристости корнеплодов, меньшее количество калия, натрия и α -аминного азота. Содержание инвертного сахара при обработке корнеплодов снижается, независимо от условий их хранения.

7. Приспособления для обработки корнеплодов сахарной свеклы

Во время уборки корнеплоды травмируются и создаются благоприятные условия для заражения их возбудителями кагатной гнили. Ограничение развития фитопатогенов с помощью синтетических фунгицидов ограничено санитарными требованиями. Альтернативой химическим препаратам для борьбы с болезнями корнеплодов при хранении могут выступить биопестициды на основе бактерий-антагонистов, характеризующихся широким спектром антимикробной активности и способные контролировать развитие фитопатогенных микроорганизмов. В Беларуси не разработаны приспособления для обработки корнеплодов как во время их уборки, так и в момент закладки в кагаты. Разработка отечественных машин для этих целей является актуальной задачей.

В течение 2007-2009 годов нами проведены теоретические исследования и конструкторские разработки приспособлений к свеклоуборочному комбайну СФ-10 Kleine и к буртоукладочной машине типа «Комплекс-65М2Б» для обработки корнеплодов свеклы растворами микробного препарата. Данные разработки защищены Патентами РБ № 4150, 4307, 4868, 5444, 5609, 5635, 5744, 6087, 6191, 6281, 6571, 7014, 7309, 14558 и представлены нами в литературных источниках (Бычек П.Н., Цыбульский Г.С., 2008; Ладутько С.Н., Бычек П.Н., 2008; Бычек П.Н. и др., 2008; Бычек П.Н., 2008; Ладутько С.Н., Бычек П.Н., 2008; Ладутько С.Н., Бычек П.Н., 2008; Бычек П.Н., 2009; Бычек П.Н., Цыбульский Г.С., 2009; Ладутько С.Н., Бычек П.Н., 2009; Свиридов А.В. и др., 2009; Кузьмицкий А.В., Бычек П.Н., 2009; Кузьмицкий А.В., Бычек П.Н., 2009; Бычек П.Н., Заяц Э.В., 2010; Бычек П.Н., Филатова Н.А., 2010; Бычек П.Н. и др., 2010; Бычек П.Н., 2010; Бычек П.Н., 2010; Свиридов А.В. и др., 2010).

Приспособления доведены до образцов, которые могут быть изготовлены промышленным способом и рекомендованы для использования соответственно в хозяйствах выращивающих сахарную свеклу, и на свеклоперерабатывающих предприятиях.

7.1 Приспособление к самоходному свеклоуборочному комбайну для обработки выкапываемых корнеплодов

Нами разработан и изготовлен образец приспособления, которое устанавливается на самоходный свеклоуборочный комбайн Kleine, и представляет собой камеру протравливания, монтируемую сверху комбайна, и блок приготовления и дозирования рабочего раствора, расположенный на площадке около кабины (рисунок 41, 42).



Рисунок 41 – Общий вид свеклоуборочного комбайна с приспособлением для обработки корнеплодов сахарной свеклы жидким защитным препаратом.



Рисунок 42 – Камера протравливания, установленная над циркуляционным элеватором свеклоуборочного комбайна.

Камера протравливания 1 (рис. 43) с распылителем 2 расположена над циркуляционным элеватором 3 комбайна. Выполнена в виде усеченной четырехугольной пирамиды, каркас которой сделан из металлического профиля, а боковые грани обтянуты прозрачным водонепроницаемым эластичным материалом в виде защитного кожуха, причем длина боковых ребер 4 камеры равна $(1,2-1,5) B$, где B - ширина верхней рамы циркуляционного элеватора 3. По центру верхнего основания камеры протравливания смонтирован направленный выходным отверстием вниз распылитель 2 для тонкого диспергирования рабочей жидкости, сверху которого расположена крыльчатка вентилятора 5, закрепленная на валу электродвигателя 6, соединенного через пульт управления (не показан) с аккумуляторной батареей комбайна.

Продольные ребра 7 нижнего основания камеры протравливания 1 соосны с трубчатыми направляющими 8, которые закреплены зажимами 9 по концам продольных балок 10 верхней рамы циркуляционного элеватора, а со стороны кабины и двигателя комбайна к нижним поперечинам 12 камеры протравливания подсоединены гибкие тяги 13.

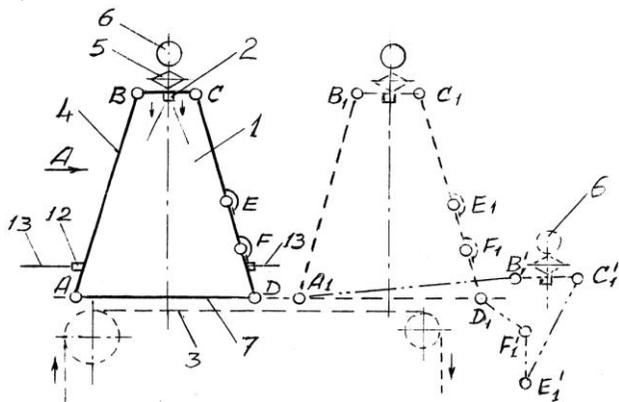
В рабочем положении камера протравливания располагается со стороны кабины комбайна в начале выхода корнеплодов из циркуляционного элеватора, а в транспортном положении камера протравливания имеет возможность складываться в сторону двигателя комбайна за счёт шарнирных соединений передней AB и задней CD стенок камеры протравливания относительно верхнего и нижнего её оснований и наличия шарниров E и F , с фиксацией шарниров C , E и F в рабочем положении.

До начала работы собирают каркас камеры протравливания, в продольные ребра 7 вводят трубчатые направляющие 8, а сверху камеры устанавливают распылитель 2 и вентилятор 5 с электродвигателем 6. Затем к боковым ребрам 7 крепят элементы защитного кожуха с учетом увеличенного размера его боковых частей для свободного складывания в транспортное положение.

После этого поднимают собранную камеру над циркуляционным элеватором 3 комбайна и с помощью зажимов 9 направляющие 8 крепят к продольным балкам 10 верхней рамы циркуляционного элеватора. К поперечинам 12 камеры протрав-

ливания подсоединяют гибкие тяги 13 и передвигают камеру протравливания 1 в сторону кабины комбайна, то есть в зону выхода корнеплодов из циркуляционного элеватора в бункер-накопитель. Это рабочее положение, в котором фиксируют камеру 1 с помощью гибких тяг 13.

К правой площадке кабины крепят блок приготовления и дозирования раствора, выход насосного агрегата которого с помощью шланга соединяют с распылителем 2. Электродвигатель насосного агрегата этого блока, а также электродвигатель 6 вентилятора 5 соединяют с аккумуляторными батареями, находящимися сзади комбайна, и пультом управления (не показан), размещаемым в кабине.



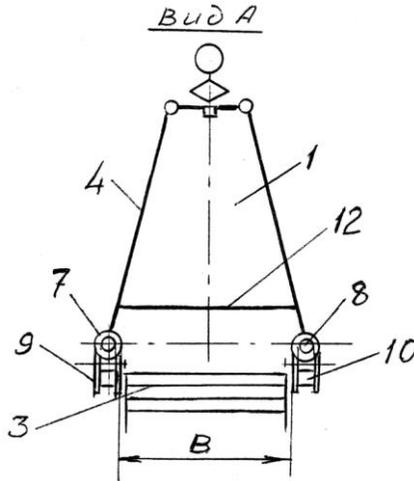


Рисунок 43 – Схема размещения камеры протравливания в ее рабочем и транспортном положениях

Условные обозначения:

1 – камера протравливания; 2 – распылитель; 3 – циркуляционный элеватор; 4 – боковое ребро камеры протравливания; 5 – вентилятор; 6 – электродвигатель вентилятора; 7 – продольные рёбра; 8 – трубчатые направляющие; 9 – зажимы; 10 – балки рамы комбайна; 12 – поперечины; 13 – гибкая тяга.

В связи с тем, что габариты комбайна с данным приспособлением по высоте превышают допустимые «Правилами дорожного движения» 4 м, то для перевода камеры протравливания в транспортное положение её передвигают с помощью гибких тяг 13 в сторону двигателя комбайна из положения ABCD в $A_1B_1C_1D_1$. Освободив фиксаторы шарниров С, Е и F, складывают камеру в положение $A_1B_1/C_1/E_1/F_1/D_1$, при котором элементы камеры займут свободное пространство между бункером-накопителем корнеплодов и двигателем комбайна.

Для небольших норм расхода рабочей жидкости с высокой дисперсностью распыла в протравочной камере может быть установлен полевой распылитель с сердечником типа 3. Такой распылитель при давлении 0,5 МПа и диаметре выходного отверстия 1,0 мм обеспечивает расход 0,3 л/мин., а при диаметре 1,25 мм - 0,5 л/мин.

Средняя производительность комбайна типа СФ-10-2 Kleine по корнеплодам свеклы равна 1 т/мин., поэтому потребуется для часовой его работы 18...30 л рабочей жидкости. В этой связи для функционирования приспособления потребуются относительно небольшой бак с запасом раствора, который может быть смонтирован вблизи кабины на правой площадке для обслуживания комбайна.

Вентилятор с электродвигателем может быть взят с комбайна типа Дон-1500, где используется для вентиляции кабины.

Продольные ребра 7 нижнего основания могут быть изготовлены из водогазопроводной трубы 40x3,5, а направляющие 8 из трубы 32x3,2. Боковые ребра 4 могут быть из уголков 25x4, а поперечины 12, элементы шарниров А, В, С, Е, F, D, а также зажимов 9 - из полосы 25x4.

Устойчивое состояние камеры протравливания в рабочем положении обеспечивается за счет жесткой рамки верхнего основания, к которой снизу по углам закреплены проушины шарниров В, С и жесткого соединения поперечин 12 к ребрам 4, а также фиксации шарниров С, Е и F болтами М6 с гайками-барашками. В остальных шарнирах могут быть установлены пальцы с шайбами и шплинтами. Пальцы могут быть изготовлены из заклёпок с полукруглыми головками.

Защитный кожух протравочной камеры может быть из полиэтиленовой пленки толщиной 150-200 мкм, крепление её к ребрам 4 может быть осуществлено через просверленные в ребрах отверстия шурупами-саморезами путем зажима пленки между полками ребер 4 и деревянными брусками 15x20 мм (не показаны). Боковые стенки кожуха по контуру ABCD должны быть изготовлены с таким расчетом, чтобы не разрывались при их складывании в положение $A_1B_1/C_1/E_1/F_1/D_1$.

Электрические соединения электродвигателей приспособления с аккумуляторной батареей комбайна могут быть осуществлены кабелем МКЭШ 2x3,5, проложенным в гофрированной трубе 16 мм ПВХ, а пульт управления может быть в виде выключателя А14-116.

Соединение закрепленного сверху протравочной камеры 1 распылителя 2 с насосным агрегатом может быть произведено с

помощью шланга 12,5x3, предназначенного для соединения коммуникаций опрыскивателей.

Ниже вентилятора 2 смонтирован на направляющих 5, с возможностью регулирования относительно вентилятора, распылитель.

Модуль дозирования раствора МДР – 3.5 (рисунок 44), после некоторых доработок был использован в качестве блока приготовления и дозирования раствора. Доработки заключались в переоборудовании системы питания с 380 В на 24 В и в установке регулятора давления от штангового опрыскивателя. Модуль дозирования раствора содержит бак для раствора емкостью 120 л, всасывающий фильтр, насосный агрегат с электродвигателем, работающим от электросети с напряжением 24 В и стандартный регулятор давления от полевого штангового опрыскивателя.



Рисунок 44 – Модуль дозирования раствора.

Устройство для обработки корнеплодов сахарной свеклы на комбайне работает следующим образом.

С помощью электрического насоса, установленного на блоке приготовления и дозирования рабочего раствора и работающего от бортовой сети комбайна напряжением 24 В, рабочая

жидкость подается на распылитель в камере протравливания. Выходя из распылителя, капли рабочей жидкости попадают в зону действия осаждающего воздушного потока и транспортируются им к циркуляционному элеватору, где и обрабатывают корнеплоды. Рабочая жидкость, осевшая на стенках камеры протравливания, также стекает на циркуляционный элеватор и попадает на корнеплоды, за счет чего предотвращаются непроизводительные потери препарата.

Привод вентилятора, как и привод электродвигателя насосного агрегата, осуществляется от бортовой сети комбайна напряжением 24 В.

Во время производственных испытаний с помощью предложенного нами устройства расход препарата составил 0,5 литра на тонну корнеплодов.

7.2 Приспособление к буртоукладочной машине для обработки корнеплодов сахарной свеклы перед закладкой на хранение

Современные машины для формирования крупных кагатов свеклы при закладке ее на хранения оснащены опрокидными площадками, обеспечивающими разгрузку бортовых автомобилей, автосамосвалов, автопоездов без расцепки, включая полуприцепы всех марок свекловичного транспорта. Имеется приспособление для очистки свеклы и выдачи отходов отдельным потоком.

Буртоукладчик типа «Комплекс – 65М2Б» (рис. 45) работает совместно с трактором класса 30 кН. Его средняя производительность 130-150 т/ч.



Рисунок 45 – Буртоукладчик при отборе образцов
Условные обозначения: 1- стрела погрузочного транспорта; 2 – аэрозольная установка.

Буртоукладчик 68ЭЗ-БЗ подключается к электросети, установленная мощность электродвигателей 146,7 кВт. Его производительность до 300 т/ч. Угол поворота укладочного конвейера 140° ($\pm 70^{\circ}$ от продольной оси укладчика). Высота укладываемого кагата до 9,5 м. Скорость передвижения 0,8 км/ч. Габаритные размеры 44,5х13,05х7,4 м. Масса до 75 т.

Наши разработки направлены на создание высокопроизводительного приспособления к буртоукладочной машине для обработки корнеплодов сахарной свеклы при закладке их на хранение в кагаты.

На рисунке 46 изображена схема размещения узлов одного из вариантов приспособления для обработки корнеплодов сахарной свеклы аэрозолями на буртоукладочной машине.

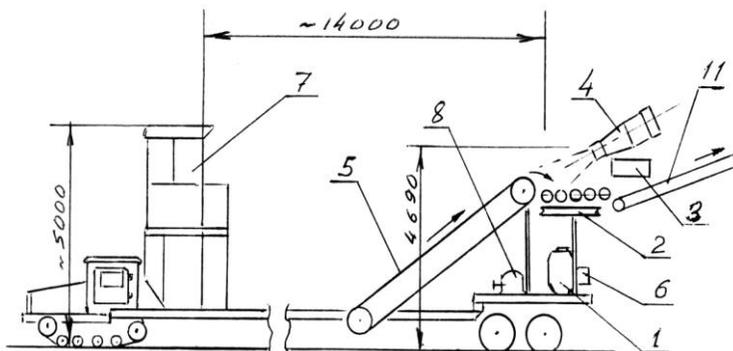


Рисунок 46 – Схема размещения узлов приспособления с распылительным устройством STIHL SR 420 на буртоукладочной машине – «Комплекс- 65М2Б».

Условные обозначения : 1 – основной бак для рабочей жидкости; 2 – транспортер почвоотделителя; дополнительный бак; 4 – аэрозольный генератор холодного тумана; 5 – подающий транспортер; 6 – насосный агрегат; 7 – кабины БУМа; 8 - генератор

Приспособление к буртоукладочной машине для обработки корнеплодов сахарной свеклы аэрозолями содержит основной бак 1 для рабочей жидкости, установленный под транспортером 2 почвоотделителя буртоукладочной машины, а также дополнительный бака 3 небольшой емкости распылительного устройства в виде аэрозольного генератора холодного тумана 4, смонтированного на специальном кронштейне (на схеме не показан), который закреплен в верхней части рамы буртоукладчика. Распылительное сопло аэрозольного генератора 4 направлено в сторону стода корнеплодов с подающего транспортера 5 на почвоотделитель. Основной бак 1 соединен шлангами (на схеме не показаны) через насосный агрегат 6 с баком 3 аэрозольного генератора 4.

Нами доказано, что при плотности покрытия равной 60 капель/см², при медианно-массовом диаметре капель 280 мкм, на 1 т корнеплодов потребуется 207 г жидкости, то есть примерно $0,2$ л. Если же повысить дисперсность распыла и размер капель снизить втрое, то на 1 т потребуется $10-30$ г жидкости.

Это вполне возможно только при использовании для обработки укладываемых в кагат корнеплодов аэрозольного генера-

тора, который обеспечивает повышенную дисперсность распыла. Распылительное устройство, расположенное в конце стрелы выгрузного транспортера буртоукладочной машины БУМ, имеет бесспорное преимущество. Однако разместить там аэрозольную установку с бензиновым двигателем невозможно. В этой связи предложено установить эту установку на центральной верхней площадке БУМ (рис. 46).

Над кулачковым транспортером имеется балка 1 из швеллера №12, к которой через рамку высотой 0,5-0,6 м можно закрепить аэрозольную установку.

Аэрозольная установка для своего обслуживания требует постоянного оператора. Поэтому для загружаемой свеклы в кагаты на длительное хранение лучше использовать электрифицированный загрузчик, в конце стрелы которого можно разместить аэрозольную установку холодного тумана с электроприводом и дистанционным управлением, пульт которого можно разместить на площадке управления загрузчика.

Как уже отмечалось, электрифицированных буртоукладчиков крайне мало. В этой связи предложен вариант приспособления с использованием аэрозольной установки типа «Торнадо» с электроприводом и установленным на БУМе электрогенератором.

Аэрозольный генератор «Торнадо» предлагается ООО «АЭРОЗОЛЬТЕХНО», г. Минск. Производительность по препарату 0-29 л/ч, вместимость бака для раствора 11,4 л, масса 9,1 кг, габариты 520 x 190 x 685 мм. Электропитание 220 В, 4,3 А, 50 Гц, то есть мощность для его привода $P \approx 1 \text{ кВт}$.

Так как буртоукладчик типа «Комплекс – 65М2Б», приводимый в действие от гусеничного трактора ДТ-75, часто переезжает на значительные расстояния от цехов переработки свеклы и укладывает корнеплоды на временные площадки, то подвести к нему силовые кабели для подключения электродвигателей переменного тока на 220 В не представляется возможным.

Так как все электродвигатели обладают значительной индуктивностью, то для их привода следует использовать источник электроэнергии в четыре раза более мощный, чем суммарная мощность подсоединенных к нему электродвигателей.

Вариант приспособления с названным аэрозольным генератором и передвижной электростанцией с бензиновым двигателем показан на рис.47.

Приспособление содержит резервуар для рабочей жидкости 1 с установленным внутри электрическим насосом 2, который, в свою очередь, посредством гидропровода 3 связан с гидроаккумулятором 4.

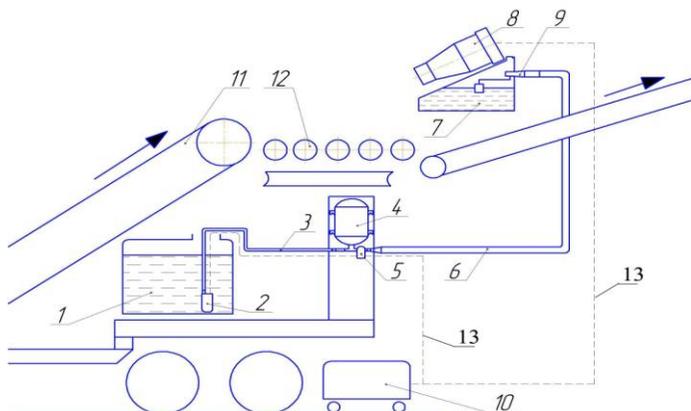


Рисунок 47 – Схема размещения узлов приспособления с аэрозольным генератором «Торнадо» для протравливания корнеплодов на буртоукладочной машине

Условные обозначения: 1 – резервуар для рабочей жидкости; 2 – электрический насос; 3,6 - гидропроводы; 4 – гидроаккумулятор; 5 – блок управления; 7 – бак аэрозольного генератора; 8 – аэрозольный генератор; 9 – поплавковый клапан; 10 – электростанция; 11 – подающий транспортер; 12 – кулачковый землеотделитель; 13 - электрический кабель

На гидроаккумуляторе 4 смонтирован блок управления 5, который поддерживает давление рабочей жидкости внутри гидроаккумулятора в заданных пределах и по мере необходимости включает и выключает электрический насос 2. Гидроаккумулятор с помощью гидропровода 6 соединен с баком 7 аэрозольного генератора 8, причем внутри бака 7 установлен поплавковый клапан 9.

Подача электрической энергии на блок управления 5 и электродвигатель аэрозольного генератора 8 осуществляется от переносной электростанции 10, привод которой выполнен от

двигателя внутреннего сгорания. Все потребители электрической энергии соединены между собой электрическим кабелем 13.

Выходное отверстие аэрозольного генератора направлено в сторону стога корнеплодов с подающего транспортера 11 на землеотделитель 12.

Резервуар для рабочей жидкости 1 с электрическим насосом внутри поместили под транспортером буртоукладчика (рисунок 48). Была использована емкость 200 л, которая может быть увеличена до 600 л, что при расходе рабочей жидкости 0,5 л на 1 т корнеплодов обеспечит обработку до 1200 т корнеплодов без дозаправки.



Рисунок 48 – Резервуар для рабочей жидкости

Электрическим насосом рабочая жидкость подавалась в гидроаккумулятор, смонтированный на вертикальной стойке буртоукладочной машины (рисунок 49).

Распыл рабочей жидкости производится с помощью аэрозольного генератора, установленного над кулачковым землеотделителем. Для предотвращения сноса рабочей жидкости ветром изготовлен специальный защитный кожух из водонепроницаемого материала (рисунок 50).



Рисунок 49 – Установка гидроаккумулятора
Условные обозначения: 1 – гидроаккумулятор; 2 - блок управления



Рисунок 50 – Установка аэрозольного генератора
Условные обозначения: 1 - Аэрозольный генератор; 2 - защитный кожух

Для изготовления приспособления согласно схемы (рис.44) необходим электрический генератор мощностью не менее 3 кВт, гидроаккумулятор, аэрозольный генератор, электрический насос и резервуар для рабочей жидкости.

В связи с малой емкостью бака аэрозольного генератора, потребовалась доработка, которая заключалась в установке внутрь его бака поплавкового клапана для отключения подачи рабочей жидкости во избежание переполнения этого бака.

Преимуществом предложенной схемы является то, что соединение всех элементов осуществлено с помощью электрических кабелей и резинового шланга, в связи с чем отсутствует необходимость жесткой привязки отдельных элементов схемы друг к другу.

В производственных условиях на ОАО «Скидельский сахарный комбинат» монтаж двумя работниками всего оборудования на БУМ занимает 20-30 минут, что возможно выполнить во время профилактических остановок БУМа.

В качестве электронасоса может быть использован БВ 0,12-40 «Ручеек» ОАО «Ливгидромаш», г.Ливны, Орловской обл., Россия. Максимальна мощность 300 Вт, напор до 60 м, производительность до 1500л/ч. Масса 3,9 кг.

Гидроаккумулятор автоматизированный ГА-30 предназначен для управления бытовыми электронасосами и создания в сети требуемого давления. Гидроаккумулятор содержит запас воды под давлением воздушной подушки и посредством реле давления периодически включает и выключает насос для поддержания давления в системе водоснабжения в заданных пределах.

Вместимость резервуара 30 л, рабочее давление до 0,5МПа, диапазон настройки реле при выключении насоса 0,2-0,5МПа, при выключении насоса 0,1-0,4 МПа. Наибольшая мощность насоса, управляемого гидроаккумулятором, при напряжении 220 В – 1500 Вт. Масса $6,5 \pm 0,5$ кг. Габариты – высота 635 мм, диаметр – 315 мм.

В исходном положении резервуар гидроаккумулятора заполнен воздухом, давление равно нулю. При включении насоса вода поступает в резервуар и сжимает в нем воздух. При достижении заданного давления отключения насоса реле давления отключит насос. По мере разбора воды давление в резервуаре снижается и при достижении значения, установленного на включение насоса, реле давления включает насос.

Изготовитель гидроаккумулятора ГА-30 – «Гродненский завод торгового машиностроения».

В качестве источника электроэнергии можно использовать передвижную электростанцию с бензиновым двигателем «Honda» и итальянским генератором «Синхро». Мощность дви-

гателя 6,6 кВт, вместимость бака 6 л, бензин А-92, время работы от одной заправки 2,9 ч, мощность генератора (1-ф)- 3,5 кВт, ток до 15,2 А, масса 55 кг. Выпускается Сморгонским агрегатным заводом.

Названная электростанция может быть установлена на верхней площадке буртоукладчика вблизи его кабины (рис.51)



Рисунок 51 – Размещение электростанции на 220 В

Так как указанная электростанция требует заправки бензином и хороших условий её обслуживания и хранения, то нами предложен простейший электрогенератор, работающий от ВОМ трактора.

Таким образом, разработанные нами установки доведены до образцов, которые могут быть изготовлены промышленным способом и рекомендованы для использования соответственно в хозяйствах выращивающих сахарную свеклу, и на свеклоперерабатывающих предприятиях. Они позволяют качественно провести обработку корнеплодов биопестицидом Бетапротектин не повышая существенно влажность в кагате или крупногабаритном бурте.

8. Государственная регистрация биопестицида Бетапротектин

Биопестицид Бетапротектин прошел производственную проверку, зарегистрирован в Главной государственной инспекции по семеноводству, карантину и защите растений и включен в «Государственный реестр средств защиты (пестицидов) и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь». Препарат рекомендован для защиты сахарной свеклы от возбудителей кагатной гнили и применяется следующим образом:

1. Одно- двукратное опрыскивание растений в период вегетации в начальной фазе развития культуры с нормой расхода препарата 1 л/га.
2. Обработка корнеплодов при закладке на хранение в кагаты. Норма расхода препарата 0,5 л/т, расход рабочей жидкости 3л/т.
3. Последовательная обработка корнеплодов:
 - при уборке;
 - при закладке на хранение в кагаты. Норма расхода препарата по 0,5 л/т с расходом рабочей жидкости 3 л/т.

9. Эффективность действия биопестицида Бетапротектин в производственных условиях

Испытания эффективности действия биопестицида Бетапротектин против кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы проведены в 2009-11 гг. в условиях кагатов ОАО «Скидельский сахарный комбинат» и ОАО «Жабинковский сахарный завод». Норма расхода препарата составила 0,5 литра на тонну корнеплодов.

Для обработки корнеплодов на буртоукладочные машины устанавливался аэрозольный (генератор) опрыскиватель. За годы испытаний было обработано 6734 тонны корнеплодов. После обработки во время закладки в кагаты препаратом корнеплодов из 12-и хозяйств Гродненской и Брестской областей были отобраны сеточные пробы согласно общепринятой методике. Контролем служили корнеплоды из этих же хозяйств, прошедшие через БУМ, но не обработанные биологическим препаратом. Отобранные сеточные пробы опытного и контрольного вариантов были заложены в необработанный препаратом кагат. Анализ образцов был проведен через 55-70 суток после закладки на хранение при разборке корнеплодов кагата.

Установлено, что обработка биопрепаратом корнеплодов сахарной свеклы в момент закладки их в кагаты сдерживала развитие кагатной гнили (таблица 59).

Таблица 59 – Эффективность действия биопестицида Бетапротектин в производственных условиях

| Хозяйство | Гибрид | Вариант опыта | Распространенность кагатной гнили, % | Развитие кагатной гнили, % | Биологическая эффективность, % | Вредоносность, % | Хозяйственная эффективность, % | Сохранность корнеплодов, % |
|---|------------------|---------------|--------------------------------------|----------------------------|--------------------------------|------------------|--------------------------------|----------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| 2009 г., ОАО «Скидельский сахарный комбинат» | | | | | | | | |
| КСУП «Первомайск-Агро» | Кристалл (Z тип) | опыт | 100,0 | 40,0 | 14,5 | 14,4 | 6,1 | 85,6 |
| | | контроль | 100,0 | 46,9 | 0,0 | 20,4 | 0,0 | 79,7 |

| Продолжение таблицы 59 | | | | | | | | |
|---|-------------------|----------|-------|------|------|------|------|------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| ЧСУП «Скидельское» | Космея (NZ тип) | опыт | 93,8 | 30,2 | 26,3 | 8,9 | 6,2 | 91,2 |
| | | контроль | 100,0 | 41,0 | 0,0 | 14,6 | 0,0 | 85,5 |
| ЗАО «Гудевичи» | Завиша (NZ тип) | опыт | 100,0 | 37,7 | 18,0 | 12,4 | 7,5 | 87,6 |
| | | контроль | 100,0 | 46,0 | 0,0 | 18,9 | 0,0 | 81,1 |
| СПК «Октябрь-Гродно» | Дорена (NE тип) | опыт | 88,8 | 26,5 | 26,6 | 7,6 | 4,7 | 92,4 |
| | | контроль | 100,0 | 36,0 | 0,0 | 12,0 | 0,0 | 88,0 |
| 2010 г., ОАО «Жабинковский сахарный завод» | | | | | | | | |
| СПК "Рогозынский" | Консуэла (NE тип) | опыт | 100,0 | 34,6 | 27,8 | 11,1 | 10,4 | 88,9 |
| | | контроль | 100,0 | 48,1 | 0,0 | 20,4 | 0,0 | 79,6 |
| ОАО "Беловежский" | Баккара (NZ тип) | опыт | 100,0 | 45,0 | 12,5 | 17,6 | 8,0 | 82,4 |
| | | контроль | 100,0 | 51,5 | 0,0 | 23,4 | 0,0 | 76,6 |
| ОАО "Агро-Колядичи" | Модус (Z тип) | опыт | 100,0 | 37,1 | 27,5 | 12,9 | 13,4 | 87,1 |
| | | контроль | 100,0 | 51,5 | 0,0 | 24,8 | 0,0 | 75,2 |
| ОАО "Шениагропродукт" | Крокодил (N тип) | опыт | 98,8 | 34,0 | 33,5 | 10,7 | 13,5 | 89,3 |
| | | контроль | 100,0 | 51,3 | 0,0 | 22,8 | 0,0 | 77,2 |
| 2011 г., ОАО «Жабинковский сахарный завод» | | | | | | | | |
| СПК "Покровский" | Ненси (NZ тип) | опыт | 93,3 | 27,8 | 33,5 | 7,9 | 9,7 | 92,1 |
| | | контроль | 98,3 | 43,3 | 0,0 | 17,0 | 0,0 | 83,0 |
| СПК "Шениагропродукт" | Агния (Z тип) | опыт | 73,3 | 19,2 | 47,4 | 5,3 | 9,4 | 94,7 |
| | | контроль | 100,0 | 39,4 | 0,0 | 14,4 | 0,0 | 85,6 |
| ОАО "Колленковичи" | Алла (Z тип) | опыт | 81,7 | 21,7 | 23,4 | 5,8 | 3,1 | 94,2 |
| | | контроль | 90,0 | 28,9 | 0,0 | 8,8 | 0,0 | 91,3 |
| СПК "Видомлянское" | Алла (Z тип) | опыт | 86,7 | 28,3 | 43,4 | 8,4 | 14,1 | 91,6 |
| | | контроль | 100,0 | 49,7 | 0,0 | 21,3 | 0,0 | 78,7 |

В условиях 2009 года обработка корнеплодов Бетапротектином привела к снижению развития заболевания на 6,9% - 10,8% в зависимости от гибрида и сельскохозяйственного предприятия, из которого завезены корнеплоды. Биологическая эф-

фektivность применения препарата составила 14,5% – 26,6%, хозяйственная – 4,7% – 7,5%.

Эффективность биопестицида Бетапротектин в 2010 году была достаточно высокой. Развитие заболевания уменьшилось на 6,5% - 17,3% по сравнению с необработанными корнеплодами. Биологическая эффективность применения препарата колебалась от 12,5% до 33,5% при уровне хозяйственной эффективности 8,0% – 13,5%.

Подобная закономерность по эффективности биологического препарата отмечена нами и в условиях 2011 года. Так, развитие кагатной гнили в контрольном варианте находилось на уровне 28,9 – 49,7% в зависимости от гибрида. При обработке корнеплодов Бетапротектином развитие заболевания составило 19,2 – 28,3%. Биологическая эффективность применения биопестицида достигла 23,4% – 47,4%, хозяйственная – 3,1% – 14,1%.

Обработка корнеплодов биологическим препаратом оказала влияние на технологические качества корнеплодов сахарной свеклы (таблица 60).

Таблица 60 – Влияние обработки корнеплодов биопестицидом Бетапротектин на технологические показатели качества сахарной свеклы

| Хозяйство | Гибрид | Вариант опыта | Сахаристость, % | Содержание, ммоль на 1000г. | | |
|---|------------------|---------------|-----------------|-----------------------------|--------|----------------|
| | | | | калий | натрий | α-аминный азот |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 2009 г., «Скидельский сахарный комбинат» | | | | | | |
| КСУП «Первомайск-Агро» | Кристалл (Z тип) | опыт | 16,27 | 52,1 | 5,0 | 18,8 |
| | | контроль | 16,09 | 54,3 | 5,3 | 16,9 |
| ЧСУП «Скидельское» | Космея (NZ тип) | опыт | 16,30 | 55,9 | 5,9 | 17,9 |
| | | контроль | 15,49 | 55,8 | 5,7 | 18,6 |
| ЗАО «Гудевичи» | Завиша (NZ тип) | опыт | 16,21 | 56,4 | 5,1 | 18,1 |
| | | контроль | 15,96 | 51,4 | 5,1 | 17,0 |

| Продолжение таблицы 60 | | | | | | |
|---|-------------------|----------|-------|------|-----|------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| СПК «Октябрь-Гродно» | Дорена (NE тип) | опыт | 16,07 | 59,6 | 5,4 | 18,9 |
| | | контроль | 15,55 | 57,9 | 5,3 | 20,8 |
| 2010 г., ОАО «Жабинковский сахарный завод» | | | | | | |
| СПК "Рогознянский" | Консуэла (NE тип) | опыт | 14,71 | 62,6 | 2,6 | 24,6 |
| | | контроль | 13,69 | 61,2 | 3,1 | 25,6 |
| ОАО "Беловежский" | Баккара (NZ тип) | опыт | 13,57 | 57,7 | 3,9 | 18,0 |
| | | контроль | 13,35 | 58,4 | 6,0 | 17,6 |
| ОАО "АгроКолядичи" | Модус (Z тип) | опыт | 15,38 | 56,7 | 2,8 | 17,5 |
| | | контроль | 14,45 | 61,3 | 2,5 | 15,1 |
| ОАО "Шениагропродукт" | Крокодил (N тип) | опыт | 14,49 | 57,2 | 7,2 | 16,9 |
| | | контроль | 13,91 | 61,8 | 8,1 | 18,8 |
| 2011 г., ОАО «Жабинковский сахарный завод» | | | | | | |
| СПК "Покровский" | Ненси (NZ тип) | опыт | 15,3 | 54,8 | 2,8 | 13,0 |
| | | контроль | 14,1 | 56,0 | 2,7 | 10,4 |
| СПК "Шениагропродукт" | Агния (Z тип) | опыт | 15,2 | 50,0 | 1,9 | 12,5 |
| | | контроль | 13,1 | 53,8 | 2,5 | 9,2 |
| ОАО "Колениковичи" | Алла (Z тип) | опыт | 14,5 | 45,2 | 2,5 | 10,1 |
| | | контроль | 15,4 | 41,1 | 1,1 | 6,3 |
| СПК "Видомлянское" | Алла (Z тип) | опыт | 16,6 | 49,7 | 1,2 | 12,7 |
| | | контроль | 14,4 | 48,8 | 1,3 | 13,4 |

Так, выявлено, что в вариантах с применением биологического препарата сахаристость корнеплодов в 2009 году была на уровне 16,07 – 16,30%, в контроле (без обработки) – 15,49 – 16,09%. Значительных изменений в содержании калия, натрия и α-аминного азота при применении Бетапротектина нами не отмечено.

Испытание биологического препарата в производственных условиях 2010 года показало, что сахаристость корнеплодов в варианте с применением биопестицида была на уровне 13,57 – 15,38%, в контроле (без обработки) – 13,35 – 14,45%. Отмечено снижение содержания калия, натрия в корнеплодах сахарной свеклы, обработанных Бетапротектином.

В условиях 2011 года была отмечена подобная закономерность. Применение биологического препарата привело к повышению сахаристости корнеплодов и составило 14,5 – 16,6%. В контрольном варианте - без обработки корнеплодов этот показатель находился на уровне 13,1 – 15,4%. Наблюдается снижение содержания натрия в корнеплодах сахарной свеклы, обработанных Бетапротектином на гибридах Агния и Алла, калия – на гибридах Ненси и Агния.

Таким образом, применение биопестицида Бетапротектин в среднем за 3 года (2009-2011 гг.) в производственных условиях привело к снижению развития кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы на 6,9 – 16,1% по сравнению с контролем. Биологическая эффективность достигла 16,8-35,8%, хозяйственная – 5,3 – 11,7%. Обработка биопрепаратом позволила сохранить от 0,21 до 1,4% сахаристости корнеплодов и уменьшить количество калия и натрия в свекловичной массе.

Заклучение

Сахарная свекла - важнейшая техническая культура. Посевные площади ее в Республике Беларусь составляют около 100 тыс. га. Урожайность корнеплодов в среднем по республике достигает 300-450 ц/га при сахаристости 15-17% и выходе сахара 12-13%, что позволяет получить с каждого гектара 40-50 ц сахара, а также дополнительно 72 ц к.ед. в виде жома и патоки. Климатические же условия республики, научно-производственная база уже сегодня позволяют повысить урожайность свеклы до 480-600 ц/га и получить не менее 7,0-9,0 тонн сахара с гектара. Однако достижению таких показателей препятствует сильное поражение сахарной свеклы болезнями, как во время вегетации, так и во время зимнего хранения. В эпифитотийные годы потери урожая могут составить более 30 %. Использование метода биологического контроля фитопатогенов в качестве альтернативы химическому, призвано обеспечить эффективную защиту корнеплодов и получение экологически безопасной продукции. В связи с этим, исследования по разработке отечественных технологий получения и применения биопрепаратов для защиты сахарной свеклы от кагатной гнили приобретают особую актуальность.

В результате проведенных многолетних исследований установлено, что возбудителями кагатной гнили в условиях Республики Беларусь являются следующие грибы: *Penicillium expansum* Link, *Fusarium solani* (Mart) App.et Wr, *Alternaria tenuis* Nees., *Botrytis cinerea* Pers. Et Fr., *Sclerotinia sclerotiorum* (lib) de Bary, *Fusarium oxysporum* Schlecht. Данные патогены широко распространены и вызывают существенные потери корнеплодов при их хранении. Распространенность заболевания колеблется от 70% до 92% при развитии – 13,4 - 44,4%. Вредоносность болезни в условиях 2004 – 2007 гг. варьировала от 3,3% до 22,6%.

Для защиты корнеплодов сахарной свеклы от кагатной гнили нами отобран штамм бактерии *B. subtilis* БИМ В-439 Д с высокой антагонистической активностью в качестве основы биопестицида Бетапротектин. Выявлено, что метаболиты бактерии-антагониста влияют на нарушении прорастания спор и развития мицелия фитопатогенных грибов. Установлено, что бактерия *B. subtilis* БИМ В-439 Д сохраняются на поверхности корне-

плодов длительное время и обладают высокой конкурентоспособностью.

В процессе исследований отработана технология получения биофунгицида. Оптимизирована питательная среда для глубинного культивирования *B. subtilis* БИМ В-439 Д в лабораторном ферментере: меласса–30,0; $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ –7,0; KH_2PO_4 –3,0; $(NH_4)_2SO_4$ –1,5; Na-цитрат $\cdot 3H_2O$ –0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ –0,1; вода водопроводная–1 л; рН 7,0-7,2 и условия культивирования – наиболее благоприятный температурный режим для роста бактерий и синтеза антимикробных метаболитов достигается при 34°C, качестве оптимального выбран режим аэрации 1,0 л воздуха/л среды·минуту. Установлено, что нейтральная реакция среды является оптимальной для роста и проявления максимальной антагонистической активности бактерий *B. subtilis* БИМ В-439 Д. Максимальная антифунгальная активность и титр спор сохраняются при добавлении в препарат 1 % «Гисинара» и 4 % NaCl. Срок годности препарата при хранении его при температуре от плюс 4 до плюс 15°C составляет 3 месяца со дня его изготовления;

Микробный препарат Бетапротектин не проявляет вирулентных, токсигенных и токсических свойств, не обладает раздражающим кожу и слизистые оболочки действием и может быть рекомендован для промышленного производства. Биопестицид Бетапротектин не фитотоксичен. При работе, транспортировке и хранении биопестицида следует соблюдать меры личной гигиены и требования техники безопасности. Специальных мероприятий по обезвреживанию биопестицида не требуется. Тара после использования препарата тщательно промывается горячей водой.

Наиболее эффективными способами применения биопрепарата являются:

1. Одно- двукратное опрыскивание растений в период вегетации в начальной фазе развития культуры с нормой расхода препарата 1 л/га.
2. Обработка корнеплодов при закладке на хранение в кагаты. Норма расхода препарата 0,5 л/т, расход рабочей жидкости 3л/т.
3. Последовательная обработка корнеплодов:

- a. при уборке;
- b. при закладке на хранение в кагаты. Норма расхода препарата по 0,5 л/т с расходом рабочей жидкости 3 л/т.

Перед использованием препарат рекомендуется подогреть до температуры +35°C и выдержать данную экспозицию в течение двух часов. Данный прием позволяет снизить распространенность кагатной гнили на 25,0%, развитие заболевания – на 12,8% по сравнению с неподогретым препаратом. Для подогрева препарата разработано приспособление, которое позволяет за короткое время нагреть его без отрицательного воздействия на бактерии.

Для закладки на длительное хранение нельзя допускать сильного травмирования корнеплодов. Механические травмы приводят к интенсивному заражению корнеплодов и развитию кагатной гнили. Выявлено, что наибольшую биологическую и хозяйственную эффективность биофунгицид показал при степени травмированности поверхностных тканей корнеплодов от 5 до 25%. Развитие кагатной гнили после обработки препаратом снижалось на 9,6 - 10,6%. Биологическая эффективность Бетапротектина составила 18,3% - 28,3%, хозяйственная – 5,9% - 11,4%.

Недопустимо проводить обработку подмороженных, подгнивших, покрытых почвой корнеплодов и с механическим повреждением поверхностных тканей более чем на 25 %;

Нами разработано приспособление к свеклоуборочному комбайну СФ-10 Kleine для обработки выкапываемых корнеплодов в полевых условиях. Для обработки корнеплодов при закладке их на хранение в кагаты целесообразно использовать аэрозольные установки для покрытия корнеплодов мелкими каплями. Приспособления доведены нами до образцов, которые могут быть изготовлены промышленным способом и рекомендованы для использования соответственно в хозяйствах выращивающих сахарную свеклу, и на свеклоперерабатывающих предприятиях.

Применение биопестицида Бетапротектин в среднем за 3 года (2009-2011 гг.) в производственных условиях привело к снижению развития кагатной гнили корнеплодов сахарной свек-

лы на 6,9 – 16,1% по сравнению с контролем. Биологическая эффективность достигла 16,8-35,8%, хозяйственная – 5,3 – 11,7%. Обработка биопрепаратом позволила сохранить от 0,21 до 1,4% сахаристости корнеплодов и уменьшить количество калия и натрия в свекловичной массе.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Александров Т.Ф., Белбухов В.А., Бородин П.В. и др. Возделывание сельскохозяйственных культур по интенсивной технологии: Практическое руководство. Гродно: Гродненский государственный аграрный университет, 2001 - 320с.
2. Бекер М.Е. Основы микробиологического производства / М.Е. Бекер // Введение в биотехнологию. Гл. 4. – М.: Пищевая пром-сть, 1978.– С. 75-102.
3. Брояковская К.Н., Пожар З.А., Никулина М.Т. Фунгициды против болезней // Сахарная свёкла - 1991. - №4. - с.46 - 47.
4. Бычек П.Н., Цыбульский Г.С. Требования к машинам для внесения биопрепаратов. Исследование инжекторных распылителей. Современные технологии сельскохозяйственного производства: материалы XI МНПК, Гродно, 2008 г.- Издательско-полиграфический отдел УО «ГГАУ».- С.25-26.
5. Бычек П.Н., Ладутько С.Н., Кузьмицкий А.В. Оборудование для обработки корнеплодов сахарной свеклы жидкими консервантами. – Доклады МНПК «Энергосберегающие технологии и технические средства в с/х производстве» 12-13 июня 2008 г. БГАТУ, Минск. – Ч2.- С. 97-99.
6. Бычек П.Н. Приспособление для обработки корнеклубнеплодов сахарной свеклы жидкими защитно-стимулирующими веществами. Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сб. науч. тр.:Т.1/под ред. В.К. Пестиса.- Гродно: ГГАУ, 2008.- С. 18-23.
7. Бычек П.Н. Лабораторная установка для определения равномерности распределения рабочей жидкости по ширине камеры захвата камеры протравливания. Современные технологии сельскохозяйственного производства: материалы XII МНПК, Гродно, 2009 г.- Издательско-полиграфический отдел УО «ГГАУ».- С. 164.
8. Бычек П.Н., Заяц Э.В. Устройство для подогрева микробиологических препаратов. Современные технологии сельскохозяйственного производства: материалы XII МНПК, Гродно, 2009 г.- Издательско-полиграфический отдел УО «ГГАУ».- С. 165.
9. Бычек П.Н., Цыбульский Г.С. Устройство к буртоукладочной машине для обработки корнеплодов свеклы. Современные технологии сельскохозяйственного производства: материалы XII

МНПК, Гродно, 2009 г.- Издательско-полиграфический отдел УО «ГГАУ».- С. 166-167.

10. Бычек П.Н., Заяц Э.В. Приспособление к буртоукладочной машине для обработки корнеплодов сахарной свеклы жидким защитным препаратом: материалы XIII МНПК, Гродно, 2010. - Издательско-полиграфический отдел УО «ГГАУ».- С. 48-50.

11. Бычек П.Н., Филатова Н.А. Электрорядное устройство к буртоукладочной машине для повышения качества обработки корнеплодов жидким защитным препаратом: материалы XIII МНПК, Гродно, 2010.- Издательско-полиграфический отдел УО «ГГАУ».- С. 50-52.

12. Бычек П.Н., Заяц Э.В., Ладутько С.Н., Свиридов А.В., Кузьмицкий А.В., Куликовский С.Е. О повышении сохранности корнеплодов сахарной свеклы при длительном хранении: журнал «Белорусское сельское хозяйство».-№11(103).-2010.- с.

13. Бычек П.Н. Эффективность использования приспособления для обработки корнеплодов сахарной свеклы защитным препаратом на буртоукладочной машине. Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сб. науч. тр.:Т.2/под ред. В.К. Пестиса.- Гродно: ГГАУ, 2010.- С. 34-42.

14. Бычек П.Н. Теоретическое обоснование взаимодействия направленного воздушного потока и капли жидкости, выходящей из распылителя. Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сб. науч. тр.:Т.2/под ред. В.К. Пестиса.- Гродно: ГГАУ, 2010.- С. 25-34.

15. Буренин В.И. Свекла – Beta L.(систематика, генетика, исходный материал и методы селекции) // Автореф. дис. докт. С.-х. наук. – Л., 1983. – 46с.

16. Буренин В.И., Власова Э.А., Воскресенская В.В. Изучение и поддержание мировой коллекции корнеплодов. – Л., 1989. – 195 с.

17. Буренин С.В. Устойчивость образцов свеклы к корнееду и кагатной гнили в Северо-Западной зоне Российской Федерации. Диссертация канд. с.-х. наук. – М.ЗГБ, 2003. – 103 с.

18. Ван дер Планк Я. Генетические и молекулярные основы патогенеза у растений. – М.:Мир, 1981. – 236 с.

19. Варшавская В.Б., Процко Р.Ф., Данилюк Н.И., Варшавский Б.Я. Основы повышения сахаристости и технологических качеств сахарной свеклы. – Киев, 1986. – С.143-152.
20. Власова Э.А., Сазонова Л.В. Корнеплодные растения. Л.: Колос. Ленинградское отделение, 1990. – 295с.
21. Виестур У.Э. Культивирование микроорганизмов / У.Э. Виестур, М.Ж. Кристапсонс, Е.С. Былинкина. - М.: Пищевая пром-сть, 1980. – 232 с.
22. Вострухин Н. П. Сахарная свекла: качество корнеплодов и выход сахара.- Мн.: Ураджай, 1997.
23. Вострухин Н.П. Сахарная свекла. - Минск: Минская фабрика цветной печати, 2005. – 392 с.
24. Вострухим Н.П. Сахарная свекла на Несвижчине. – Мн.; МФЦП. – 2007. – 192 с.
25. Вострухим Н.П. Сахарная свекла. – Мн.; МФЦП. – 2011. – 384 с.
26. Возбудители кагатных гнилей сахарной свеклы и меры борьбы с ними / А.В. Широков, Р.А. Кудаярова, В.И. Кузнецов // Матер. V Всерос. конгр. по медиц. микологии. Т. IX. – М., 2007. – С. 120-121.
27. Гаджиева Г. И. Пестициды, разрешённые для применения в посевах сахарной свёклы в 2005году // Белорусское сельское хозяйство - 2005. №5 - С.35 - 38.
28. Гамуев В. В., Гамуев В. О. Защита сахарной свёклы от вредителей и болезней // Сахарная свёкла - 2004. №5 - С.27-28.
29. Горленко М. В. Сельскохозяйственная фитопатология (частная патология растений). Учеб. пособие для студентов сельскохозяйственных ВУЗов специальности «Защита растений». М.: «Высшая школа», 1968 - 434 с.
30. Государственный стандарт Республики Беларусь. СТБ 1893-2008. Сахарная свекла. Технические условия. Госстандарт, Минск.
31. Григорьев П.С. Влияние биофунгицида Фитоспорин-М на урожайность и сохранность в кагатах корнеплодов сахарной свеклы / П.С. Григорьев, Л.И. Пусенкова, Р.А. Кудаярова // Агрехимический вестник. – 2007, № 2. – С. 27-28.
32. Григорьев П.; Пусенкова Л.; Кудаярова Р. Влияние биофунгицида Фитоспорин-М на урожайность и сохранность в ка-

гатах корнеплодов сахарной свеклы / Рубрики ГРНТИ. -2008. - N 7. - С. 42-44.

33. Гринашкевич Е.В. Эффективность действия биопрепарата Бетапротектин против кагатной гнили сахарной свеклы / Е.В. Гринашкевич, В.В. Просвиряков, О.С. Кильчевская // Состояние и перспективы развития свеклосахарного производства в республике Беларусь. Матер. междунар. науч.-произв. конф. 10-11 июля 2008 г. – Несвиж, 2008. – С. 54-58.

34. Гринашкевич Е.В. Испытания биопрепарата Бетапротектин против кагатной гнили сахарной свеклы / Е.В.Гринашкевич, Н.А. Лукьянюк, О.С.Кильчевская // XII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського: тези доповідей, 25-30 травня 2009 р. – Ужгород: “Патент”, 2009. - С. 366.

35. Грищенко Н.Н. Эффективность микроудобрений в современной технологии возделывания сахарной свеклы // Земляробства і ахова раслін. 2009. – N 6 (67). – С.43-44.

36. Доброзракова, Т.Л. Сельскохозяйственная фитопатология. 20е изд., испр. и доп. Под ред. проф. М.К.Хохрякова. Л., «Колос» (Ленинградское отделение), 1974. – 328 с.

37. Добровольская Т.Г. Методы выделения и идентификации почвенных бактерий / Т.Г. Добровольская, И.Н.Скворцова, Л.В.Лысак. М.: МГУ, 1989.

38. Добротворцева А.В. и др. Прогрессивные приемы в семеноводстве сахарной свеклы. М.: ВНИИТЭИСХ, 1982.

39. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б.А. Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

40. Дубич З.И. Агротехнические приемы против корнееда // Защита растений. - 2001. - № 3. - С. 17.

41. Дука А.И. Устойчивость селекционных материалов // Сахарная свекла. – 1983. - №6. – С.31.

42. Дьяков Ю.Т., Семенкова И.Г., Кспенская Г.Д. Общая фитопатология с основами иммунитета. – М.:Колос, 1976. – 256 с.

43. Емельянова И.З. Химико-технический контроль гидролизных производств / И.З. Емельянова. – М.: Лесная пром-сть, 1969. – 367 с.

44. ЕПАА – універсальний біологічний прилипач пестицидів і регуляторів росту рослин / Методичні рекомендації. – Київ, 2007. – 26 с.
45. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках / Н.С. Егоров. – М.: Высшая школа, 1986. – 448 с.
46. Зимон, А.Д. Адгезия жидкости и смачивание/А.Д. Зимон.– М.: Химия,1974.–413 с.
47. Зосимович В.П., Труханов В.А., Борисенко Т.Т., Свидченко А.И., Юркевич Л.Н., Жигайло М.И., Власюк В.И., Кучерина Е.Н. Выделение исходных форм сахарной свеклы с интенсивным фотосинтезом // Экспериментальная генетика растений. – Киев: Наукова думка, 1982. – С. 97-103.
48. Инструкция по химико-технологическому контролю и учету сахарного производства.- Киев, 1983.
49. Интегрированная защита сахарной свеклы от вредителей, болезней и сорняков. / Сборник научных трудов / ВНИС. Редкол. В.Ф. Зубенко и др. Киев, 1986 - 175с.
50. Инфекционные болезни сахарной свеклы и меры борьбы с ними (Рекомендации). Сост. А.С. Шуканов. Мн.: Ураджай, 1973.
51. Исаева Л. И. Использование биологического и новых методов защиты растений в интегрированных программах / Обзорная информация /. М.: ВНИИТЭИСХ, 1976 - 47с.
52. Кильчевская О.С. Оптимизация технологических параметров глубинного культивирования спорообразующих бактерий – основы биопестицида Бетапротектин / О.С. Кильчевская, И.Н. Ананьева, Н.И. Гирилович, Н.В. Евсегнеева, Э.И. Коломиец // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты. Сб. науч. тр. Т. 2. – Минск, 2009. – С. 223-231.
53. Коломиец Э.И. Эффективность бактерий рода *Bacillus* против кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы / Э.И.Коломиец, А.В.Свиридов, Т.В.Романовская, А.Е.Воронкова, О.В.Молчан, В.В.Просвиряков. Матер. межд. научн. конф. Минск - Раков, 2006.
54. Коломиец, Э.И. Оптимизация технологических параметров глубинного культивирования *Bacillus subtilis* – антагониста фитопатогенной микрофлоры в лабораторном и опытно-промышленном ферментерах / Э.И. Коломиец [и др.] // Матер. межд. науч. конф. – Минск, 2002. – С. 232-233.

55. Коломиец Э.И. Научные и практические основы создания биопрепарата для защиты сахарной свеклы от кагатной гнили / Э.И. Коломиец, О.С. Кильчевская, В.Н. Купцов, Т.В. Романовская, А.В. Свиридов // Инф. бюл. ВПРС МОББ. Т. 38. – С.-Петербург, 2007. – С. 145-147.
56. Коломиец Э.И. Бактерии-антагонисты как агенты биологического контроля кагатной гнили сахарной свеклы / Э.И. Коломиец, О.С. Кильчевская, В.Н. Купцов, Т.В. Романовская, Н.И. Гирилович, А.В. Свиридов // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты. Сб. науч. тр. Т. 1. – Минск, 2007. – С. 170-176.
57. Коломиец Э.И.; Кильчевская О.С.; Романовская Т.В. Разработка препаративной формы биопестицида бетапротектин для защиты сахарной свеклы от кагатной гнили // Биологическая защита растений - основа стабилизации агроэкосистем / Всерос. науч.-исслед. ин-т биол. защиты растений. Краснодар, 2008. - Вып. 5. - С. 250-252.
58. Коломиец Э.И. Оптимизация параметров глубинного культивирования бактерий *Bacillus subtilis* БИМ В-439 Д – основы биопестицида Бетапротектин / Э.И. Коломиец, О.С. Кильчевская, Т.В. Романовская, Н.И. Гирилович // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии. Матер. VI междунар. науч. конф. 2-6 июня 2008 г. Т. 1. – Минск, 2008. – С. 328-330.
59. Коломиец Э.И. Разработка препаративной формы биопестицида Бетапротектин для защиты сахарной свеклы от кагатной гнили. / Э.И. Коломиец, О.С. Кильчевская, Т.В. Романовская // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем. Матер. докл. междунар. науч.-практ. конф. 23-23 сентября 2008 г. Вып. 5. – Краснодар, 2008. – С. 250-252.
60. Колосовская В. Г. Интегрированные системы защиты сельскохозяйственных культур от вредителей, болезней и сорняков. Мн., 2004 - с. 460 - 461.
61. Коляда К.В., Дудук А.А. Растениеводство. Мн: ИВЦ Минфина, 2008. – 480 с.
62. Корниенко А.С. Влияние поражения сахарной свеклы церкоспорозом на урожайность, сахаристость и устойчивость корнеплодов к гниению при хранении их. /Основы повышения са-

харистости и технологических качеств сахарной свеклы. Сборник научных трудов. Киев, 1986.

63. Красочкин В.Т. Свекла. Культурная флора СССР. – Л., 1971. – Т. XIX. – С. 7-266.

64. Красюк Н.А. Современные технологии производства и использования сахарной свеклы. Минск, 2010. - 502 с.

65. Краткий определитель бактерий Берги / под ред. Дж. Холта. М.: Мир, 1980.

66. Кузьмицкий А.В., Бычек П.Н. Устройство к самоходному корнеклубнеуборочному комбайну для обработки корнеплодов жидким консервантом. - Вестник «БГСХА» №1.- 2009.- С. 149-152.

67. Кузьмицкий А.В., Бычек П.Н. Результаты использования оборудования для обработки корнеплодов сахарной свеклы жидким консервантом.-Агропанорама № 5.- 2009.- С. 20-23.

68. Кузьмицкий А.В., Бычек П.Н. Оборудование для протравливания корнеплодов сахарной свеклы на самоходном свеклоуборочном комбайне. Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сб. науч. тр.:Т.1/под ред. В.К. Пестиса.- Гродно: ГГАУ, 2009.-394 с.- С. 43-49.

69. Курдиш И. К., Рой А.А. Перспективы применения бактериальных препаратов комплексного действия в растениеводстве // Микробиология и биотехнология XXI столетия: Материалы междунар. конф. / Нац. акад. наук Беларуси. И-т микробиологии.- Минск, 2002.– С. 239–240.

70. Курдиш И.К. Гранулированные микробные препараты для растениеводства: наука и практика / И.М. Курдиш. – К.: КВЦ, 2001. – 142 с.

71. Курило С.Эксперимент свекловодов Гродненского района и Скидельского сахарного комбината. Выгода – обоюдная // Белорусское сельское хозяйство. 2006. – N 2 (46). – С.63-64.

72. Ладутько С.Н., Бычек П.Н. Стенд для испытания распылителей. Современные технологии сельскохозяйственного производства: материалы XI МНПК, Гродно, 2008 г.- Издательско-полиграфический отдел УО «ГГАУ».- С.72-73.

73. Ладутько С.Н., Бычек П.Н. К определению расхода жидкого фунгицида при обработке корнеплодов сахарной свеклы. Современные технологии сельскохозяйственного производства:

материалы XI МНПК, Гродно, 2008 г.- Издательско-полиграфический отдел УО «ГГАУ».- С.23-24.

74. Ладутько С.Н., Бычек П.Н. Исследование инжекторных распылителей. Современные технологии сельскохозяйственного производства: материалы XI МНПК, Гродно, 2008 г.- Издательско-полиграфический отдел УО «ГГАУ».- С.24-25.

75. Ладутько С.Н., Бычек П.Н. Простейший электрогенератор. Современные технологии сельскохозяйственного производства: материалы XII МНПК, Гродно, 2009 г.- Издательско-полиграфический отдел УО «ГГАУ».- С. 203-204.

76. Липская Н.И. Как повысить сохранность корнеплодов сахарной свеклы? Эффективность применения биофунгицида фитоспорин М в борьбе с гнилями // Сахар, 2008. - N 6. -С. 33-34.

77. Лихацкий, В.И. Чеснок. – Киев: Изд-во УСХА, 1990. – 96 с.

78. Лукьянюк Н.А., Бендузан О.А. Состояние и проблемы защиты сахарной свеклы от болезней / Приемы повышения плодородия почв, эффективности удобрений и средств защиты растений. Часть 3. Материалы международной научно-практической конференции. Горки, 2003. - С. 84-85.

79. Лукьянюк Н.А., Гуляка М.И., Гайтюкевич С.Н., Останин А.В., Турук Е.В., Усович Г.С., Русак А.Н. Рекомендации по снижению гнилей корнеплодов в период вегетации и при хранении сахарной свеклы в кагатах. Несвиж, 2011. – 23 с.

80. Лукьянюк Н.А., Гуляка М.И., Гайтюкевич С.Н., Останин А.В., Турук Е.В., Усович Г.С., Русак А.Н. Рекомендации по снижению гнилей корнеплодов в период вегетации и при хранении сахарной свеклы в кагатах. Несвиж, 2011. – 18 с.

81. МВИ.МН 2508-2006 «Методика количественного определения сахаристости сахарной свеклы на автоматизированной линии «Betalyser».

82. МВИ.МН 2507-2006 «Методика количественного определения содержания альфа-аминного азота в сахарной свекле на автоматизированной линии «Betalyser» Методы общей бактериологии / под ред. Ф.Герхарда. Т.1. М.: Мир, 1983.

83. Методические указания по оценке поражения корнеплодов сахарной свеклы кагатной гнилью при хранении: методические указания / А.В. Свиридов, В.В. Просвиряков.- Гродно, 2009.- 10 с.

84. Методы почвенной микробиологии и биохимии / под ред. Д.Г.Звягинцева. М.: МГУ, 1980.
85. Микроорганизмы – возбудители болезней растений: справочник/ под ред. В.И.Билай. Киев: Наук.думка, 1988.
86. Мутасов А.А. Изучение корневых и кагатной гнилей сахарной свеклы при создании устойчивого исходного селекционного материала. Дисс. канд. биол. наук: 06.01.05. – М.: РГБ., 2003. – 205 с.
87. Нуждина Н.Н., Мутасов А.А. Комплексная оценка гибридов // Сахарная свекла. 2001. №10. – С. 19-21.
88. Нуждина Н.Н., Мутасов А.А. Учет корневых гнилей и классификация селекционного материала сахарной свеклы на устойчивость к почвенным фитопатогенам (Методические указания). Воронеж: «Истоки», 2003. – 24 с.
89. Нурмухамедов А.К. Устойчивость к корнееду и кагатной гнили образцов свеклы и их селекционная ценность // Автореферат дисс. канд. с.-х. наук – СПб., 1995. – 20с.
90. Орехова В.А. Эффективность отбора сахарной свеклы на устойчивость к корнееду и кагатной гнили // Проблемы повышения эффективности производства сахарной свеклы в Алтайском крае. – Киев, 1981. – С.36-40.
91. Патент RU 2126210 C1 6 A01N 63/00, A01F 25/00, C 12 S 3/00. Штамм бактерий для предотвращения грибкового заболевания фруктов или овощей после сбора урожая и получения антибиотиков для ингибирования возбудителей вышеуказанных заболеваний / К. Лейферт, Г. Артур, С. Иптон, Д.Ч. Сайги.. – 1999.– 54 с. Оpubл. 20.02.1999. Бюл. № 5.
92. Патент RU 2126209 C1 6 A01N 63/00. Стабильный при хранении предварительно приготовленный состав для защиты растений от фитопатогенного грибка и способ защиты растений от фитопатогенного грибка / Х. Уильям Г., А. Карен С., Р. Фред К. – 1999. – 24 с. Оpubл. 20.02.99. Бюл. № 5.
93. Патент RU 2286666 C1 A01G 1/00. Способ возделывания картофеля / В.И. Старовойтов [и др.]. – 2006. – 5 с. Оpubл. 10.11.2006. Бюл. № 31.
94. Патент RU 2086128 C1 6 A01N 63/00, C12N 1/20/(C12N 1/20, C12R 1:07). Штамм бактерий *Bacillus subtilis* для получения

препарата против грибных болезней растений / В.Г. Костровский [и др.]. – 1997. – 4 с. Оpubл. 10.08.97.

95. Патент RU 2081167 C1 6 C12N 1/20/(C12N 1/20, C12R 1:125) A01N 63/00. Штамм бактерий *Bacillus subtilis* для получения препарата против фитопатогенных грибов / И.И. Новикова, А.И. Литвиненко, Т.А. Нугманова, Г.В. Калько. – 1997. – 12 с. Оpubл. 10.06.97 Бюл. № 16.

96. Патент 2126209 A1 RU, МКИ А 01 N 63/00. Стабильный при хранении предварительно приготовленный состав для защиты растений от фитопатогенного грибка и способ защиты растений от фитопатогенного грибка / Юнироял Кемикал Компании, Инк. (США) – № 94040730/13; Заявл. 26.01.1993; Оpubл. 20.02.1999, Бюл. № 8 // Изобретения. – 1999. - № 8. – С. 112.

97. Патент. 9509150 A1 RU, МКИ А 01 N 63/00. Препарат для защиты растений от болезней / Н.Н. Галкин, Н.Н. Ураков, В.Е. Лиховидов, А.И. Туров. – № 9509150/13; Заявл. 06.07.95; Оpubл. 06.10.97, Бюл. № 6 // Изобретения. – 1997. - № 6. – С. 45.

98. Пат. RU 9509150 A1 A01N 63/00. Препарат для защиты растений от болезней / Н.Н. Галкина, Н.Н. Ураков, В.Е.Лиховидов, А.И. Туров.–1997. Оpubл. 06.10.97. Бюл.№ 6.

99. Патент RU 2099947 C1 6 A01N 63/00, C12N 1/20// (C12N 1/20, C12R 1:125). Биопрепарат Фитоспорин для защиты растений от болезней / В.В. Смирнов [и др.]. – 1997. – 20 с. Оpubл. 27.12.97. Бюл. № 36.

100. Патент RU 2294618 C1 A01F 25/00, A01N 63/00. Способ подготовки плодов и овощей к хранению / Л.А. Яковлева, Е.В. Великанова, А.С. Торбин, О.И. Квасенков.– 2007. – 3 с. Оpubл. 10.03.2007. Бюл. № 7.

101. Патент ВУ 8396 C1 A01N 63/00, C12N 1/20. Штамм бактерий *Bacillus subtilis*, обладающий антагонистической активностью в отношении фитопатогенов овощных культур / Э.И. Коломиец [и др.]. – 2006.– 7 с. Оpubл. 30.09.2005.

102. Патент RU 2143199 C1 6 A01N 63/00, C12N 1/20//C12N 1/20, C12R 1:38. Композиция и способ борьбы с болезнями растений / Герхардсон Берндт [и др.]. – 1999. – 36 с. Оpubл. 27.12.99. Бюл. № 36.

103. Патент RU 2242125 C2 7 A01N 63/00, C12N 1/20/(C12N 1/20, C12R 1:13) Штамм бактерий *Brevibacillus laterosporus*, об-

ладающий широким спектром фунгицидного действия и биологический препарат для защиты клубней картофеля от грибных заболеваний в период хранения на основе биомассы этого штамма / Р.Р. Азизбекян [и др.]. – 2004. – 12 с. Оpubл. 20.12.2004. Бюл. № 35.

104. Патент 4150 Респ. Беларусь, МПК А 01С 1/06. Приспособление к свеклоуборочному комбайну для протравливания выкапываемых корнеплодов / В.К. Пестис, С.Н. Ладутько, Э.В. Заяц, А.В. Свиридов, П.Н. Бычек. – 2007. – 3с.

105. Патент 4307 Респ. Беларусь, МПК А 01С 1/06. Протравливатель корнеклубнеплодов / В.К. Пестис, С.Н. Ладутько, Э.В. Заяц, А.В. Свиридов, П.Н. Бычек. -2008. Оpubл. Бюл. № 2(61). – С.122.

106. Патент 4868 Респ. Беларусь, МПК А 01D 33/00. Приспособление к свеклоуборочному комбайну для протравливания выкапываемых корнеплодов / В.К. Пестис, С.Н. Ладутько, Э.В. Заяц, А.В. Свиридов, П.Н. Бычек. -2008 . Оpubл. Бюл. № 6(65). – С.159-160.

107. Патент 5444 Респ. Беларусь, МПК А 01D 33/00. Устройство к самоходному корнеклубнеуборочному комбайну для обработки корнеплодов жидким консервантом / П.Н. Бычек, С.Н. Ладутько, Э.В. Заяц, А.В. Кузьмицкий, В.К. Пестис. 2009. - Оpubл. 30.08.09. - Офиц. бюлл №4(64). -С. 171.

108. Патент 5609 Респ. Беларусь, МПК А 01D 33/00. Устройство для объемной обработки жидким препаратом корнеплодов, выкапываемых самоходным корнеклубнеуборочным комбайном / П.Н. Бычек, С.Н. Ладутько, Э.В. Заяц, А.В. Кузьмицкий, В.К. Пестис – 2009. Оpubл. 30.10.09. Офиц. бюлл №4(64). - С. 171-172.

109. Патент 5635 Респ. Беларусь, МПК А 01D 33/00. Устройство к буртоукладочной машине для обработки корнеплодов свеклы жидким консервантом / П.Н. Бычек, С.Н. Ладутько, Э.В. Заяц, А.В. Кузьмицкий, В.К. Пестис. -2009. - Оpubл. 30.10.09. - Офиц. бюлл №5(70). - С. 143.

110. Патент 5744 Респ. Беларусь, МПК А 01С 1/06. Приспособление к буртоукладочной машине для обработки корнеплодов сахарной свеклы аэрозолями / С.Н. Ладутько, Э.В. Заяц, П.Н. Бычек, А.В. Свиридов, В.К. Пестис. – 2009. - Оpubл. 30.10.09. -

Офиц. бюлл №5(70). -С. 143.

111. Патент 6087 Респ. Беларусь, МПК А 01С 1/06. Приспособление к буртоукладочной машине для обработки корнеплодов свеклы жидким препаратом / П.Н. Бычек, Э.В. Заяц, С.Н. Ладутько, А.В. Кузьмицкий, В.В. Просвиряков. – 2010. - Оpubл. 30.04.10. - Офиц. бюлл №2. - С. 157.

112. Патент 6187 Респ. Беларусь, МПК F 24 Н 1/20. Устройство для подогрева раствора / А.В. Кузьмицкий, П.Н. Бычек, Э.В. Заяц, С.Н. Ладутько, А.В. Свиридов. – 2010. - Оpubл. 30.04.10. - Офиц. бюлл №2. - С. 155.

113. Патент 6191 Респ. Беларусь, МПК G 01М 10/00. Стенд для оценки равномерности распределения рабочей жидкости по ширине захвата распылителя / А.В. Кузьмицкий, П.Н. Бычек. - 2010. Оpubл. Бюл. № 2(73). – С. 221.

114. Патент 6281 Респ. Беларусь, МПК В 01L 1/00. Лабораторная установка для экспериментального обоснования скорости воздушного потока в камере протравливания / А.В. Кузьмицкий, П.Н. Бычек- 2010. Оpubл. Бюл. № 3(74). – С. 162.

115. Патент 6571 Респ. Беларусь, МПК А 01D 33/00. Устройство к буртоукладочной машине для обработки корнеплодов свеклы защитным препаратом / П.Н. Бычек, Э.В. Заяц, С.Н. Ладутько, А.В. Кузьмицкий, В.К. Пестис. - 2010. Оpubл. Бюл. № 5(76). – С. 153.

116. Патент 7014 Респ. Беларусь, МПК А 01D 33/00. Устройства для протравливания аэрозолями корнеплодов свеклы, укладываемых в кагат буртоукладочной машиной / Бычек П.Н., Заяц Э.В., Ладутько С.Н., Свиридов А.В., Кузьмицкий А.В. - 2011. Оpubл. Бюл. № 1(78). – С. 160-161.

117. Патент 7309 Респ. Беларусь, МПК А 01 С 1/06. Устройство к буртоукладочной машине для обработки корнеплодов свеклы жидким биологически препаратом / Бычек П.Н., Заяц Э.В., Ладутько С.Н., Свиридов А.В., Пестис В.К. - 2011. Оpubл. Бюл. № 3(80). – С. 163.

118. Патент РБ на изобретение № 14558, МПК А 01F 25/00 от 30.06.2011 Буртоукладочная машина / Ладутько С.Н., Заяц Э.В., Бычек П.Н., Свиридов А.В., Пестис В.К. - 2011. Оpubл. Бюл. № 3(80). – С. 47.

119. Перт С.Д. Общие вопросы питания / С.Д. Перт // Основы культивирования микроорганизмов и клеток / под ред. И.Л. Работновой. – М.: Мир, 1978. Гл. 12. – С. 144-165.
120. Пересыпкин В.Ф. Сельскохозяйственная фитопатология. М.: Агропромиздат, 1989.
121. Пересыпкин В.Ф., Пожар З.А., Сигаревич Д.Д. Болезни технических культур. М.: Агропромиздат, 1987 - с.17 - 23
122. Петров В.А. Интенсивная технология выращивания сахарной свеклы. М., 1987. - 43с.
123. Петров В.А., Борзаковский И.В. Учебная книга свекловода: [Для подготовки рабочих на производстве]: 2-е издание перераб. и доп. М.: Агропромиздат, 1985. - 239с.
124. Пидопличко Н.М. Грибы-паразиты культурных растений. Т.1,Т.2, Т.3, Киев: Наукова думка, 1977.
125. Пожар З.А. Болезни сахарной свеклы / Распространение вредителей и болезней сельскохозяйственных культур в СССР в 1962 г. и прогноз их появления в 1963 г. // под ред. И.Я. Полякова, А.Е. Чумакова. – Л.: ВИЗР, 1963. – С. 218-225.
126. Поляков И.Я., Прогноз развития вредителей и болезней сельскохозяйственных культур (с практикумом)/ И.Я. Поляков, М.П. Персов, В.А. Смирнов. – Л.: Колос. Ленинградское отделение, 1984. – 318 с.
127. Попкова К.В. Общая фитопатология. - М.: Агропромиздат, 1989.
128. Попов Ф.А. Оценка эффективности технологии применения Бетапротектина против кагатной гнили сахарной свеклы / Ф.А. Попов, А.В. Свиридов, В.В. Просвиряков, Э.И. Коломиец, О.С. Кильчевская // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии. Материалы VII Международн. науч. конф. (Минск 31 мая-4 июня 2010 г.) – Минск: «Беларуская навука», 2010. – С. 466-467.
129. Попова И.В. Болезни сахарной свеклы. М.: Россельхозиздат, 1968. - 80с.
130. Попкова К.В. Практикум по сельскохозяйственной фитопатологии. Под редакцией Попковой К.В. - 2-е издание, переработанное и дополненное. М.: Агропромиздат, 1988.
131. Приемка и хранение сахарной свеклы: Технологический регламент. – Минск: ИВЦ Минфина, 2007. – 432 с.

132. Прогноз появления и учета вредителей и болезней сельскохозяйственных культур/ Министерство с.-х. СССР; под ред. В.В. Косова, И.Я. Полякова.- М., 1958.- 631 с.
133. Просвиряков В.В. Распространенность и вредоносность кагатной гнили сахарной свеклы в Республике Беларусь / В.В. Просвиряков // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сб науч. трудов / УО «Гродненский государственный аграрный университет», под ред. В.К. Пестиса.- Гродно, 2007.- Т.1: Агрономия, Экономика.- С.143-149.
134. Просвиряков, В.В. Влияние условий выращивания на сохранность корнеплодов сахарной свеклы / В.В. Просвиряков, Е.И. Дорошкевич, А.В. Свиридов // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сб. науч. тр.: Т.1/ под ред. В.К. Пестиса.- Гродно: ГГАУ, 2008.- С. 161-170.
135. Просвиряков В.В., Дорошкевич Е.И., Свиридов А.В. Влияние условий выращивания на сохранность корнеплодов сахарной свеклы // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы Сборник научных трудов ГГАУ. Т. 1: Агрономия. Экономика. - Гродно: УО “ГГАУ”. 2008. С. 161-170.
136. Просвиряков В.В., Свиридов А.В. Эффективность фунгицидов в защите сахарной свеклы от болезней в период вегетации и при хранении корнеплодов // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы Сборник научных трудов ГГАУ. Т. 1: Агрономия. Экономика. - Гродно: УО “ГГАУ”. 2009. С. 148-157.
137. Пусенкова Л.И. Влияние биофунгицида Фитоспорин-М на сохранность в кагатах корнеплодов сахарной свеклы / Л.И. Пусенкова, А.В. Широков, Р.А. Кудярова // Сахарная свекла. – 2006, № 7. – С. 35-37.
138. Пусенкова Л.И. Биофунгицид Фитоспорин-М для повышения сохранности корнеплодов сахарной свеклы в кагатах / Л.И. Пусенкова, Р.А. Кудярова, П.С. Григорьев // Сахар. – 2007, № 8. – С. 30-32.
139. Растениеводство под ред. Г.С. Посыпанова. М.: Колос, 1997.
140. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика.– Минск: Вышэйшая школа, 1973.–320 с.
141. Румянцев С.Н. Конституциональный иммунитет и его молекулярно-экологические основы. – М.: Наука, 1983. – 209 с.

142. Саблук, В.Т. , Шкідники та хвороби цукрових бураків / В.Т. Саблук, Р.Я. Шендрюк, Н.М. Запольска. – Киев: «Колобіг», 2005 – 448 с.
143. Саблук В.Т.; Запольская Н.Н.; Калатур Е.А. Предупредительные меры против вредителей и болезней сахарной свеклы // Защита и карантин растений. 2009. - N 5. - С. 58-59.
144. Сапронов А.Р. Технология сахарного производства // Сахар. – 2002. - №3. – С.35-39.
145. Сапронов Н.М., Морозов А.Н., Цуканов В.Н. Заготовка и хранение сахарной свеклы: организация, технологические инновации// Сахар. 2007. – N 8. - С 24 – 26.
146. Светов В.Г., Картамышев Н.И., Гончаров Н.Ф., Афонченко Н.В. Агротехника против болезней свёклы // Сахарная свёкла – 1986. - №6 - С.41 – 42.
147. Свиридов А.В., Просвиряков В.В. Видовой состав возбудителей кагатной гнили корнеплодов сахарной свеклы /Сельское хозяйство - Проблемы и перспективы. Сборник научных трудов Т.1 Гродна, 2006. С.332-336.
148. Свиридов А.В. Биопрепарат Бетапротектин для защиты сахарной свеклы от кагатной гнили. / А.В. Свиридов, В.В. Просвиряков, Э.И. Коломиец, О.С. Кильчевская // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем. Матер. докл. междунар. науч.-практ. конф. 23-23 сентября 2008 г. Вып. 5. – Краснодар, 2008. – С. 281-283.
149. Свиридов А.В. Влияние температуры на активность биопрепарата Бетапротектин против кагатной гнили сахарной свеклы / А.В. Свиридов, В.В. Просвиряков, О.С. Кильчевская, Н.И. Гирилович, Э.И. Коломиец // Состояние и перспективы развития свеклосахарного производства в республике Беларусь. Матер. междунар. науч.-произв. конф. 10-11 июля 2008 г. – Несвиж, 2008. – С. 107-113.
150. Свиридов А.В., Заяц Э.В., Кузьмицкий А.В., Бычек П.Н. Эффективность обработки корнеплодов сахарной свеклы биопестицидом «Бетапротектин». - Материалы МНПК «Энергосбережение–важнейшее условие инновационного развития АПК» 23-24 октября 2009 г. БГАТУ, Минск. – Ч.2. - С. 97-99.
151. Свиридов А.В. Эффективность биопрепарата Бетапротектин против кагатной гнили сахарной свеклы. / А.В. Свиридов,

- В.В. Просвиряков, О.С. Кильчевская, Э.И. Коломиец // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты. Сб. науч. тр. Т. 2. – Минск, 2009. – С. 285-294.
152. Свиридов А.В. Биопрепарат для защиты сахарной свеклы от кагатной гнили / А.В. Свиридов, В.В. Просвиряков, О.С. Кильчевская, Н.И. Гирилович, Э.И. Коломиец // Защита растений – достижения и перспективы. Матер. докл. Междунар. симпозиум. 19-22 октября 2009 г. – Информ. Бюллетень ВПРС МОББ. – 2009, № 40. – С. 159-161.
153. Свиридов А.В., Просвиряков В.В., Кильчевская О.С., Коломиец Э.И., Попов Ф.А. Биопестицид Бетапротектин для защиты сахарной свеклы от кагатной гнили // Земляробства і ахова раслін. Навукова-практичны часопіс № 1 (74). 2011. С 45-48.
154. Селиванова Г.А., Стогниенко О.И. Видовой состав корневых гнилей сахарной свеклы//Сахарная свекла. 2007. - №1.- С.24-28.
155. Соколова Е.А., Алексеева К.Л. Влияние церкоспороза на урожайность, качество и продолжительность хранения корнеплодов // Сахарная свекла. 2007. – N. 10. – С.19-24.
156. Сорока С.В. Интегрированная система защиты сельскохозяйственных культур от вредителей, болезней и сорняков (рекомендации). – Мн., 2003.
157. Стогниенко О.И. Комплексная защита сахарной свеклы от болезней // Сахарная свекла. 2009. – N 2. – С.26 – 29.
158. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии / Й. Сэги. М.: Колос, 1983.-296 с.
159. Тарасенко, С.А. Физиология и биохимия растений. Практикум: учеб. пособие / С.А. Тарасенко, Е.И. Дорошкевич. – Гродно: УО «Гродненский государственный аграрный университет», 2004. – 210 с.
160. Татур И.Н., Лукьянюк Н.А., Бендузан О.П. Церкоспороз в посевах сахарной свеклы. // Сейбит. – 2003. - №1. - С. 20.
161. Татур И.С. Возможности развития свекловодства в Республике Беларусь // Сахарная свёкла – 2003. - №10. - С 5-7.
162. Татур И.С. Особенности возделывания сахарной свёклы в Республике Беларусь. // Сейбит – 2002. - №4. - С.4.
163. Татур И.С., Лепетило Н.Н., Лукьянюк Н.А., Курганский В.П., Гуляко М.И., Парейко В.А., Ярошевич А.В. Технология

- возделывания сахарной свеклы / Рекомендации. Несвиж, 2011. - 29 с.
164. Техническое обеспечение процессов обработки биопестицидом «Бетапротектин» корнеплодов сахарной свеклы при уборке и закладке их на хранение: рекомендации / А.В.Свиридов, Э.В. Заяц, С.Н. Ладутько, П.Н. Бычек, В.В. Прохвириков -Гродно: УО «ГГАУ», 2010.- 39 с.
165. Хелемский М.З. Приемка и хранение сахарной свеклы: учеб. пособие. М.: Пищевая промышленность, 1980. - 97с.
166. Хохряков М.К. Определитель болезней сельскохозяйственных культур. Л.: Колос. Ленинградское отделение, 1984.
167. Чернявская Л.И., Хелемский М.З. К вопросу о потерях сахара при хранении свеклы // Сахарная промышленность. – 1996. - № 1. – С. 8-14.
168. Чикилева, А. Е. Оптимизация параметров глубинного культивирования бактерий *Bacillus subtilis* 12А / А.Е. Чикилева, Л.А. Орлова, Л.Д. Михеева // Матер. межд. науч. конф. - Минск, 2004. – С. 123-124.
169. Шевченко В.Н. Кагатная гниль сахарной свеклы // Свекловодство. – Киев:Госсельхозиздат УССР, 1959. – С.523-539.
170. Шевченко В.Е. Справочник агронома-апробатора. Воронеж, 1982. - 255с.
171. Шевченко В.Н., Микробиологический метод отбора сахарной свеклы на устойчивость к кагатной гнили и его применение в селекции/ В.Н. Шевченко.- М.:ВНИТО, 1989.-С. 5.
172. Шендрик Р.Я., Запольская Н.К. Болезни сахарной свёклы в 1999 году. // Сахарная свёкла. - 1999. - №4. - с.20-21.
173. Шикальчик Н.В. Фитосанитарное состояние посевов сахарной свеклы и защита их от болезней. // Ахова раслін. - 1999. - № 4. - с.25.
174. Широков А.В., Кудаярова Р.А. Фунгицидная активность Фитоспорин-М. Агрехимический вестник. – 2007, № 2. – С. 11-12.
175. Широков, А.В. Возбудители кагатных гнилей сахарной свеклы и меры борьбы с ними / А.В. Широков, Р.А. Кудаярова, В.И. Кузнецов // Матер. V Всерос. конгр. по медиц. микологии. Т. IX. – М. – 2007. – С. 120-121.

176. Шпаар Д., Дрегер Д., Захаренко А., Каленская С., Кэстнер Б., Постников А., Роик Н., Татур И., Федоренко В., Шпихер Ю., Шуман П., Щербаков В., Ястер К., Элмер Ф. Сахарная свекла (Выращивание, уборка, хранение) / Под общей редакцией Д.Шпаара. – Мн.: ЧУП «Орех» 2004. – 326 с.
177. Kolomiets E.I., Rapoport A.I., Sviridov A.V., Kilchevskaya O.S., Kuptsov V.N., Romanovskaya T.V. Clamp rot pathogens of sugar beet and new methods of their control // *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych*. – 2010. – P.93-99.
178. Kolomiets E.I., Rapoport A.I., Sviridov A.V., Kilchevskaya O.S., Kuptsov V.N., Romanovskaya T.V. Pit-storage rot pathogens of sugar beet and new methods of their control // II konferencję „Nowe patogeny i choroby roślin”, Skierniewice, Polska. - 2010.- С.20.
179. Asaka O, Shoda M. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off of tomato with *Bacillus subtilis* RB14. *Appl Environ Microbiol* 1996. 62:4081-4085.
180. Besson F., Chevanet C., Michel G., J. Gen Influence of culture medium on the production of iturin A by *Bacillus subtilis*. *Microbiology*. – 1987, № 133. – P. 767-772.
181. Carrol H, Moenne-Loccoz Y, Dowling D.N., O'gara F. Mutational disruption of the biosynthesis genes coding for the antifungal metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol does not influence the ecological fitness of *Pseudomonas fluorescens* F 113 in the rhizosphere of sugar beets. *Appl Environ Microbiol* 1995. 61:3002-3007.
182. Haas D, Defago G. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat Rev Microbiol* 3:307-319.
183. Flor H.H. Current status of gene-for-gene concept // *Ann. Rev. Phytopathology*. – 1971. Vol.9. – P.275-298.
184. Grzelinska A. Mechanism zjawisk adpornosciowych u roślin. *Postery nauk rolniczych*. – 1971. - № 1. – S. 31-39.
185. Karadimos D.A., Tsialtas T., Maslaris N., Papakosta D. Root rot diseases of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) as affected by defoliation intensity / *Зборник Матице српске за природне науке / Proc. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad*, 2006. – N 110. – P.123-127.
186. Kraus J, Loper JE. Characterization of a genomic region required for production of the antibiotics pyoluteorin by the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Appl Environ Microbiol* 1995. 61:849-854.

187. Krebs B, Hoding B, Kubart SM, Workie A, Junge H, Schmiereknecht G, Groach P, Bochow H, Heves V. Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. 1. Activities and characterization of *Bacillus subtilis* strains. *J Plant Dis Prot* 1998. 105: 181-197.
188. Leclere V, Bechet M, Adam A, Guez JS, Wathelet B, Ongena M, Thonart P, Gancel F, Chollet-Imbert M, Jacques P. Mycosubtilin overproduction by *Bacillus subtilis* BBG100 enhances the organism's antagonistic and biocontrol activities. *Appl Environ Microbiol* 2005. 71:4577-4584.
189. Leifert C, Li H, Chidburee S, Hampson S, Workman S, Sigeo D, Epton HA, Harbour A. Antibiotic production and biocontrol activity by *Bacillus subtilis* CL27 and *Bacillus pumilus* CL45. *Appl Microbiol* 1995. 78:97-108.
190. Miller G.L., Blum R., Glennon W.E., Burtor A.L. Dinitrosalicilic acid for determination of sugars. *Anal. Biochem.* – 1959. Vol. 31, № 2. – P. 426-428.
191. Mizumoto S, Hirai M, Shoda M. Enhanced iturin A production by *Bacillus subtilis* and its effect on suppression of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2007. 75:1267-1274.
192. Ongena M, Duby F, Beaudry T, Jadin V, Dommes J, Thonart P. *Bacillus subtilis* M4 decreases plant susceptibility towards fungal pathogens by increasing host resistance associated with differential gene expression. *Appl Microbiol Biotechnol* 2005. 67:692-698.
193. Pat. 4764371 USA, [A61K 39/07](#); [A01N 63/00](#); [A23B 7/00](#). Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis* / Pusey, Paul L.; Warner Robins, Wilson, Charles L.; Shepherstown. - № US1985000797538, 13.11.1985, 16.08.1988.
194. Piszczek J. Occurrence of root rot of sugar beet cultivars / *Journal of Plant Protection Research*. 2004. – Vol.44. – N 4. – P. 342-345.
195. Phae CG, Shoda M, Kubota H. Suppressive effect of *Bacillus subtilis* and its production on phytopathogenic microorganisms. *J Ferment Bioeng*. 1990. 69:1-7.
196. Ryder MH, Yan Z, Terrace TE, Rovira AD, Tang W, Correll RL. Use of *Bacillus* strains isolated in China to suppress take-all and rhizoctonia root rot, and promote seedling growth of glasshouse-grown wheat in Australian soil. *Soil Biol Biochem* 1999. 31: 19-29.

197. Schmidt C.S., Lorenz D., Wolf G.A., Jager J. Biological Control of the Grapevine Dieback Fungus *Eutypa lata* II: Influence of Formulation Additives and Transposon Mutagenesis on the Antagonistic Activity of *Bacillus subtilis* and *Erwinia herbicola*. *J. Phytopathology*. – 2001, № 149. – P. 437-445.
198. Shanahan P., O'sullivan D.J., Simpson P. et al. Isolation of 2,4-Diacetylphloroglucinol from a fluorescent *Pseudomonad* and investigation of physiological parameters influencing its production. *Applied and environmental microbiology*. – 1992, Vol. 58, № 1. – P. 353-358.
199. Shaukat S.S., Siddiqui I.A. The influence of mineral and carbon sources on biological control of charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina* by fluorescent pseudomonas in tomato. *Letters in Applied Microbiology*. – 2003, № 36. – P. 392-398.
200. Stein T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structure, syntheses and specific functions. *Mol Microbiol* 2005. 56:845-857.
201. Szczech M, Shoda M. Biocontrol of *Rhizoctonia damping-off* of tomato by *Bacillus subtilis* combined with *Burkholderia cepacia*. *J Phytopathol* 2004. 152:549-556.
202. Toure Y, Ongena M, Jacques P, Guiro A, Thonart P. Role of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* GA1 in the reduction of grey mould disease caused by *Botrytis cinerea* on apple. *J Appl Microbiol* 2004. 96:1151-1160.
203. Walsh UF, Morrissey JP, O'Gara F. *Pseudomonas* for biocontrol of phytopathogens: from functional genomics to commercial exploitation. *Curr Opin Biotechnol* 2001. 12:289-295.
204. <http://www.firm-august.ru/atlas/b/detail.php?ID=2032>.
205. <http://87.118.113.143/bolezni-texnicheskix-kultur/bolezni-saxarnoj-svekly/rizoktonioz-vozbuditel-bolezni-grib-rhizoctonia-solani-kuhn.html>.