

**MOLECULAR GENETIC DIAGNOSTICS OF PATHOGENS
CAUSING DISEASES OF CUCUMBER AND TOMATO GROWING
IN THE SMALL-SCALE HYDROPONICS**

V. N. KUPTSOV, T. A. PILIPCHUK, A. V. BEREZHNYAYA,
L. Y. TCHEBOTAREV, A. A. MURATOVA, L. N. VALENTOVICH,
A. V. SIDARENKA, M. A. TITOK, E. I. KALAMIYETS

*Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Minsk, Belarus,
kuptsov@hotmail.com*

Analysis of nucleotide sequences of diagnostic loci of fungi discovered the next phytopathogens spreading on cucumber and tomato in the small-scale hydroponics: *Alternaria* (*A. infectoria*, *A. alternata*, *A. tenuissima*), *Fusarium* (*F. oxysporum*, *Fusarium* sp.), *Stagonosporopsis* (*S. cucurbitacearum*), *Botrytis* (*B. cinerea*), *Cladosporium* (*C. cladosporioides*) и *Plectosphaerella* (*Plectosphaerella cucumerinae*).

Поступила в редакцию 15.03.2017

УДК 579.64+632.9

**ОСНОВЫ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ
БИОПЕСТИЦИДА «ЭКОГРИН»**

М. Н. МАНДРИК-ЛИТВИНКОВИЧ¹, Т. Л. НОСОНОВА¹,
В. Н. КУПЦОВ¹, Г. К. ЖУРОМСКИЙ², Е. Г. ШИНКОРЕНКО²,
Э. И. КОЛОМИЕЦ¹

¹*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь,
microbio@mbio.bas-net.by*

²*Гродненский государственный аграрный университет,
Гродно, Беларусь*

Оптимизированы среда и параметры глубинного культивирования бактерий *Pseudomonas brassicacearum* БИМ В-446 с высокой антагонистической активностью к возбудителям болезней овощных культур, выращиваемых в условиях малообъемной гидропоники. Предложен способ физиологической активации посевного материала бактерий, позволяющий сократить время получения препарата на их основе до 24 ч. Биологическая эффективность био-пестицида «Экогрин» против корневых гнилей на огурце и томате защищенного грунта составляет 41,4–44,6%, что обеспечивает прибавку урожая на 6,9–7,6%.

Введение. Малообъемные гидропонные технологии культивирования овощных и зеленных культур благодаря высокой экономической эффективности являются реальной альтернативой грунтовым способам выращивания. Вместе с тем в парниково-тепличных хозяйствах такого типа существует ряд проблем, связанных с болезнями выращиваемых культур, которые служат серьезным препятствием сбору высоких урожаев и значительно снижают качество выпускаемой продукции. На современном этапе развития овощеводства испытывается потребность в разработке и внедрении экологически безопасных ресурсосберегающих технологий, основанных на использовании бактериальных антагонистов для контроля грибных и бактериальных патогенов.

Известно, что для роста биотехнологически значимых штаммов рода *Pseudomonas* в качестве источников углеродного питания используются такие соединения, как сахароза, глюкоза, этанол [1, 2]. Однако применение вышеуказанных соединений в промышленном производстве бактериальных препаратов приводит к существенному удорожанию среды культивирования и, как следствие, всего процесса получения препарата. Поэтому при разработке технологии получения биопрепаратов большое внимание уделяется повышению эффективности их действия и снижению себестоимости. Последнее возможно за счет использования в качестве основы питательной среды отходов промышленности. В качестве элемента направленной регуляции метаболизма для повышения выхода целевых продуктов оправданно использование такого технологического приема, как активация посевного материала стрессовыми воздействиями [3, 4]. Кроме того, для повышения эффективности ферментационного процесса важна оптимизация технологических параметров глубинного культивирования бактерий.

Цель исследования – оптимизация состава питательной среды и параметров глубинного культивирования бактерий *Pseudomonas brassicacearum* БИМ В-446 – основы биопестицида «Экогрин».

Материалы и методы. Основной объект исследования – бактериальный штамм *Pseudomonas brassicacearum* БИМ В-446,

антагонист фитопатогенов сельскохозяйственных культур [5]. В качестве тест-объектов использованы фитопатогенные грибы рода *Fusarium* и бактерии рода *Pseudomonas* из специализированной коллекции фитопатогенов Института микробиологии НАН Беларуси. Тест-объекты выращивали в колбах Эрленмейера на качалке (200 об/мин): фитопатогенные бактерии – в течение 24 ч на среде с бульоном Хотингера при температуре 28 °С, фитопатогенные грибы – 48 ч на картофельно-декстрозной среде при температуре 24 °С.

Культивирование бактерий *P. brassicacearum* БИМ В-446 осуществляли в 250 мл колбах Эрленмейера на качалке (180–200 ± 10 об/мин) при температуре 30 °С в течение 2 сут с использованием в качестве источника углерода глюкозы, сахарозы, мелассы, овсяной, соевой, кукурузной, гороховой муки, картофельной мезги, свекловичного жома, осадка городских сточных вод (ОГСВ). В качестве источников азотного питания был проверен широкий спектр минеральных и органических азотсодержащих соединений. За основу принят минеральный фон среды Мейнелла [6].

Влияние концентрации водородных ионов на рост и антимикробную активность штамма бактерий *P. brassicacearum* БИМ В-446 исследовали в диапазоне рН 4,0–9,0, температуры – в интервале 15–40 °С.

Для физиологической активации посевной материал выдерживали в течение 30 мин при температуре 48 °С. В качестве контроля использовали односуточную бактериальную культуру, выращенную при 30 °С. Подверженную температурной обработке культуру бактерий использовали в качестве посевного материала для инокуляции свежей питательной среды. Учет антагонистической активности культуральной жидкости (КЖ), полученной с использованием нативного и термообработанного посевного материала, проводили в динамике в течение 2 сут и выражали в % к необработанному контролю.

При определении титра бактерий использовали метод предельных разведений [7]. Антагонистическую активность определяли методом лунок [8]. Результаты учитывали после 24–48 ч инкубации по диаметру зон задержки роста бактериальных и грибных тест-культур.

В ходе оптимизации параметров глубинного культивирования бактерий в лабораторном ферментере «АНКУМ-3М» варьировали условия перемешивания (50–200 об/мин) и количество подаваемого воздуха (0,5–2,0 л/л·мин). Для засева ферментера использовали термически обработанный 1-суточный вегетативный посевной материал в количестве 10 об.%.

Выход биомассы устанавливали весовым методом. Основные параметры роста культуры (μ – максимальная удельная скорость роста, γ – время генерации) рассчитывали по общепринятым формулам [9]. Содержание свободных редуцирующих веществ (РВ) оценивали по Миллеру [10]. Для определения общих сахаров проводили предварительный кислотный гидролиз среды [11].

Оценку защитного действия препарата «Экогрин» против корневых гнилей огурца (гибрид Мирабелл F₁) и томата (гибрид Торреро F₁), выращиваемых способом малообъемной гидропоники, проводили в условиях РУП «Гродненская овощная фабрика». Для обработки растений использовали 2%-ный рабочий раствор биопрепарата внесением через автоматическую систему полива в период вегетации с нормой расхода препарата 5 мл под одно растение. Первая обработка растений проводилась профилактически после высадки в теплицу на постоянное место; последующие 4–5 обработок – с интервалом в 2–3 недели при появлении признаков поражения.

Пораженность растений огурца и томата корневыми гнилями, распространенность и развитие болезни, биологическая эффективность от применения препарата рассчитывались в соответствии с методическими рекомендациями [12].

Результаты и обсуждение. Проведены исследования по оптимизации состава питательной среды для глубинного культивирования бактерий *P. brassicacearum* БИМ В-446. В качестве источников углерода протестированы моно-, ди-, полисахариды, отходы промышленного, сельскохозяйственного, свеклосахарного производства в диапазоне концентраций 10–30 г/л.

Установлено, что культура способна утилизировать все испытанные субстраты, однако наиболее высокие показатели ти-

тра КОЕ и антимикробной активности достигаются на средах с мелассой (30 г/л) и ОГСВ (табл. 1).

Учитывая, что состав ОГСВ непостоянен и подвержен значительным колебаниям в зависимости от типа сточных вод, в качестве оптимального углеродсодержащего субстрата для выращивания бактерий *P. brassicacearum* БИМ В-446 выбрана меласса в концентрации 30 г/л. Меласса является отходом свекловичного производства, в ее состав входит не менее 43% сахарозы, 1,1–1,5% азота, однако треть азота находится в форме трудноусвояемого соединения – бетаина [13]. Поэтому дополнительное внесение азотных соединений позволяет оптимизировать среды, приготовленные на нестандартном сырье.

Т а б л и ц а 1. Влияние различных источников углерода на рост и антимикробную активность бактерий *P. brassicacearum* БИМ В-446

Источник углерода, г/л	Концентрация, г/л	Титр КОЕ/мл	Диаметр зон подавления роста тест-объектов, мм	
			I	II
Меласса	20	$2,2 \times 10^9$	23 ± 1,0	24 ± 1,1
Меласса	30	$3,0 \times 10^9$	24 ± 0,7	26 ± 0,8
Сахароза	10	$9,5 \times 10^8$	23 ± 1,0	24 ± 1,0
Глюкоза	10	$9,0 \times 10^8$	21 ± 0,6	20 ± 1,2
Свекловичный жом	20	$7,5 \times 10^8$	23 ± 1,0	16 ± 1,1
Картофельная мезга	20	$1,0 \times 10^9$	19 ± 1,1	22 ± 1,2
Гороховая мука	20	$1,0 \times 10^9$	23 ± 1,1	22 ± 1,2
Ржаная мука	20	$1,8 \times 10^9$	23 ± 1,0	23 ± 1,0
Пшеничная мука	20	$3,0 \times 10^9$	20 ± 1,1	20 ± 1,2
Кукурузная мука	20	$3,0 \times 10^9$	20 ± 1,1	22 ± 1,2
Ячменная мука	20	$2,6 \times 10^9$	24 ± 0,7	18 ± 1,0
ОГСВ	60–80	$2,8 \times 10^9$	24 ± 0,7	24 ± 0,8

Примечание. I – *F. oxysporum* КГ-3, II – *P. syringae* БИМ В-280.

Установлено, что варьирование источников азота не приводит к существенным изменениям антимикробной активности *P. brassicacearum* БИМ В-446 (табл. 2). Вместе с тем более благоприятные условия для продукции антимикробных метаболитов

Т а б л и ц а 2. Влияние различных источников азотного питания на антагонистическую активность бактерий *P. brassicacearum* БИМ В-446

Источник азота	Концентрация, г/л	Диаметр зоны задержки роста тест-культур, мм	
		I	II
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,0	24,0 ± 0,5	25,0 ± 1,5
	1,5	24,5 ± 1,5	24,0 ± 1,0
	2,0	24,5 ± 1,0	23,5 ± 1,0
NH ₄ NO ₃	0,8	22,0 ± 1,0	25,5 ± 0,5
	1,0	22,5 ± 1,5	26,0 ± 1,5
	1,5	21,0 ± 1,0	24,5 ± 0,5
KNO ₃	1,5	23,5 ± 1,0	25,0 ± 1,0
Мочевина	0,45	21,0 ± 0,5	24,5 ± 1,0
Пептон	5	24,0 ± 0,5	27,0 ± 1,5
Кукурузный экстракт (КЭ)	5,0	25,5 ± 0,5	24,5 ± 0,5
Дрожжевой экстракт (ДЭ)	5,0	24,0 ± 1,0	24,5 ± 1,0
(NH ₄) ₂ SO ₄ + КЭ	1,0 + 2,5	25,5 ± 1,0	26,0 ± 0,5
(NH ₄) ₂ SO ₄ + ДЭ	1,0 + 2,5	25,5 ± 0,5	23,0 ± 1,5
(NH ₄) ₂ SO ₄ + мочевина	1,0 + 0,25	24,5 ± 1,2	24,0 ± 0,5

П р и м е ч а н и е. I – *F. oxysporum* КГ-3, II – *P. syringae* БИМ В-280.

культурой достигаются при сочетании в составе питательной среды различных форм азота (NH₄)₂SO₄ + кукурузный экстракт).

Исходя из полученных данных предложен состав питательной среды для выращивания бактерий *P. brassicacearum* БИМ В-446 (г/л): меласса – 30,0; K₂HPO₄ – 7,0; KH₂PO₄ – 3,0; MgSO₄ – 0,1; Na-цитрат – 0,5; (NH₄)₂SO₄ – 1,0; КЭ – 2,5; вода водопроводная – 1 л.

Установлено, что исследуемый штамм *P. brassicacearum* БИМ В-446 способен развиваться в широком диапазоне pH от 5 до 10, причем наиболее благоприятные условия для роста и образования антимикробных метаболитов (титр 3,1 × 10⁹ КОЕ/мл и диаметр зон задержки роста патогенов 25,5 мм) достигаются при исходной активной кислотности среды 6,0–8,0 и температуре 28–30 °С. За пределами указанных значений антагони-

стическая активность и титр КОЕ бактерий *P. brassicacearum* БИМ В-446 снижаются.

С целью направленной регуляции метаболизма и стимулирования физиологической активности бактерий-антагонистов *P. brassicacearum* БИМ В-446 использовали термическую обработку посевного материала, для чего посевной материал бактерий выдерживали в течение 30 мин при 48 °С. Установлено, что после засева питательной среды активированным инокулятом антимикробная активность КЖ увеличивается на 20–23%, причем ее максимум достигается на сутки раньше, чем при использовании необработанного посевного материала (табл. 3). Полученные результаты служат подтверждением целесообразности использования температурной активации посевного материала в технологии получения биопрепарата «Экогрин», поскольку этот прием позволяет существенно повысить эффективность ферментационного процесса.

Оптимизация параметров культивирования в лабораторном ферментере включала изучение влияния режима аэрации и способа перемешивания на удельную скорость роста и выход биомассы, а также антагонистическую активность бактерий. При выборе оптимального режима массообмена различная степень аэрации достигалась посредством изменения количества подаваемого в аппарат воздуха от 0,5 до 1,5 л воздуха/л-среды мин и постоянной скорости вращения мешалки 180 об/мин. Показатели удельной скорости роста и накопления биомассы бактериями *P. brassicacearum* БИМ В-446 при режимах аэрации 1,0 и 1,5 л воздуха/л-среды мин отличались незначительно (рис. 1) и превышали показатели, полученные при режиме аэрации 0,5 л воздуха/л-среды мин.

Так, максимальная удельная скорость роста бактерий при аэрации 1,0 и 1,5 л воздуха/л-среды мин составляет соответственно 0,31–0,34 и 0,31–0,32 ч⁻¹, а максимальный выход биомассы – 3,8–4,0 и 4,0–4,3 г/л. Снижение количества подаваемого воздуха до 0,5 л/л×мин, приводит к снижению μ_{\max} до 0,26 ч⁻¹ и накоплению биомассы до 3,0 г/л (к 48 ч ферментации).

Т а б л и ц а 3. Влияние температурной обработки на титр клежок и антимикробную активность бактерий *P. brassicaevarum* В-446

Способ обработки посевного материала	Титр, КОЕ/мл			Диаметр зоны задержки роста фитопатогена, мм					
	0 ч	24 ч	48 ч	0 ч		24 ч		48 ч	
				I	II	I	II	I	II
Необработанный (контроль)	$5,0 \times 10^8$	$1,2 \times 10^9$	$3,5 \times 10^9$	–	$11 \pm 0,5$	$20 \pm 0,5$	$22 \pm 0,7$	$24 \pm 0,7$	$25 \pm 0,5$
Термически обработанный	$3,8 \times 10^8$	$3,5 \times 10^9$	$3,7 \times 10^9$	–	$12 \pm 0,5$	$24 \pm 1,0$	$27 \pm 0,8$	$25 \pm 1,0$	$27 \pm 0,8$

П р и м е ч а н и е. I – *F. oxysporum* КГ-3, II – *P. syringae* БИМ В-280.

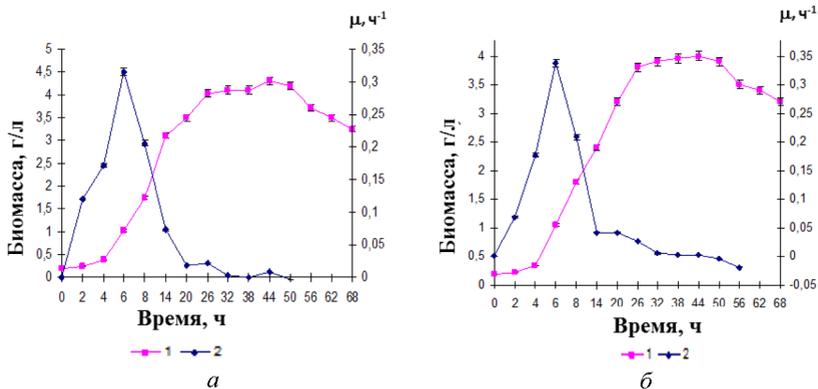


Рис. 1. Влияние интенсивности аэрации (а – 1,0 л/л·мин, б – 1,5 л/л·мин) на выход биомассы (1) и удельную скорость роста (2) *P. brassicacearum* БИМ В-446

Режимы аэрации 1,0 и 1,5 л воздуха/л·среды мин также благоприятны для накопления антимикробных метаболитов бактериями *P. brassicacearum* БИМ В-446. Так, максимальная антимикробная активность, анализируемая по диаметру зон задержки роста патогенов *F. oxysporum* КГ-3 и *P. syringae* БИМ В-280, при двух процессах аэрации достигается к 44–48 ч и составляет 24 и 26 мм соответственно. С учетом отсутствия существенной разницы в контролируемых показателях и в целях повышения экономичности процесса, считаем целесообразным рекомендовать режим аэрации 1 л воздуха/мин в качестве оптимального для глубинного культивирования бактерий.

Исследование влияния интенсивности перемешивания (в диапазоне 50–220 об/мин) на выход биомассы и антагонистическую активность КЖ, показало, что оптимальным является режим 180 об/мин, при использовании которого в ферментационном процессе титр клеток достигает $3,5 \times 10^9$ КОЕ/мл, антимикробная активность превышает показатели других режимов на 10–15%. Повышение (200 об/мин) или снижение (50–150 об/мин) интенсивности перемешивания вызывает замедление ростовых процессов и ведет к снижению синтеза антимикробных метаболитов.

Сравнительная характеристика процесса культивирования бактерий *P. brassicacearum* БИМ В-446 в оптимизированных условиях с использованием нативного и термически обработанного посевного материала показала, что стадии роста культуры в двух вариантах почти не отличаются по продолжительности. Так, лог-фаза составляет 4 ч, фаза экспоненциального роста – 2–4 ч. После 16–18 ч замедленного роста культура достигает максимального количества клеток ($3,0 \times 10^9$ – $3,4 \times 10^9$ КОЕ/мл) и к 24–28 ч ферментации переходит в стационарную фазу развития (рис. 2). При использовании термически обработанного посевного материала максимум антимикробной активности культуры достигается к 24 часам, что на 18–20 ч быстрее, чем в варианте без обработки посевного материала.

Необходимо отметить, что после активации посевного материала рост культуры и накопление биомассы сопровождается активным потреблением питательных веществ: к 24–26 ч роста степень утилизации общих сахаров достигает 85,3–92,0%. Показатель активной кислотности в первые 12 ч ферментации снижается с 7,0 до 6,5, что, возможно, связано с накоплением в культуральной жидкости продуктов с кислой реакцией, а затем медленно возрастает до рН 6,9–7,1 (табл. 4).

Таким образом, для сокращения продолжительности ферментационного процесса и, соответственно, энергозатрат при получении биопестицида «Экогрин» предлагается глубинное

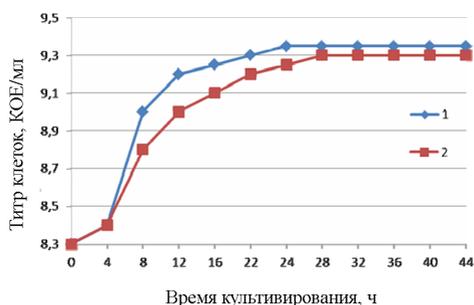


Рис. 2. Динамика роста бактерий *P. brassicacearum* БИМ В-446 при использовании обработанного (тепловой стресс – 1) и необработанного (контроль – 2) посевного материала

Т а б л и ц а 4. Динамика роста и антагонистической активности бактерий после активации посевного материала

Время, ч	рН	Общий сахар, г/л	Свободные РВ, г/л	Титр, КОЕ/мл	Диаметр зон задержки роста фитопатогенов, мм	
					I	II
0	7,2	14,6	1,7	$3,2 \times 10^8$	—	—
6	7,0	12,9	3,2	$5,8 \times 10^8$	$12,0 \pm 0,3$	$14,0 \pm 0,5$
12	6,5	10,9	4,5	$7,2 \times 10^8$	$14,0 \pm 0,5$	$18,0 \pm 0,6$
18	6,9	6,7	1,9	$1,1 \times 10^9$	$20,0 \pm 0,5$	$22,0 \pm 0,3$
24	7,1	3,2	1,3	$3,4 \times 10^9$	$25,0 \pm 0,6$	$26,0 \pm 0,2$

Примечание. I – *F. oxysporum* КГ-3, II – *P. syringae* БИМ В-280.

культивирование бактерий *P. brassicacearum* БИМ В-446 на оптимизированной среде при температуре 28 ± 2 °С, интенсивности аэрации 1,0 л воздуха/л среды-мин, скорости вращения мешалки 180 об/мин, с температурной активацией посевного материала, что в совокупности позволяет получить высокоэффективный продукт за 24 ч (в контроле – 48 ч).

Полученный по разработанной технологии биопестицид «Экогрин» был использован для защиты растений огурца и томата от корневых и прикорневых гнилей в условиях малообъемной гидропоники. Установлено, что использование препарата приводит к снижению распространенности корневых и прикорневых гнилей растений томата относительно варианта без обработки с 37,2 до 20,6%, или в 1,8 раза (табл. 5), при этом доля

Т а б л и ц а 5. Биологическая эффективность биопестицида «Экогрин» против корневых гнилей томата

Вариант опыта	Распространенность болезни, %	Развитие болезни, %	Выпало растений от поражения корневыми гнилями, %	Биологическая эффективность, %
Растения без обработки (контроль)	67,5	37,2	11,3	—
Обработка растений препаратом «Экогрин»	26,3	20,6	3,8	44,6

растений с признаками поражения в опыте составляет 26,3%, в варианте без внесения биопестицида – 67,5%.

К концу вегетации в контроле выпад растений, степень поражения которых соответствовала 4-му баллу шкалы учета (растение желтеет и засыхает), на фоне 5-кратного внесения препарата «Экогрин» снизился в 3 раза и не превысил 3,8%, в то время как в варианте без обработки отмечалась гибель 11,3% растений. Биологическая эффективность от внесения биопестицида «Экогрин», ж. против корневых и прикорневых гнилей томата в итоге достигла 44,6, что позволило получить прибавку урожая в размере 6,9% (табл. 5, 6).

Т а б л и ц а 6. Влияние биопестицида «Экогрин» на урожайность томата

Вариант опыта	Урожайность		
	кг/м ²	сохраненный урожай	
		кг/м ²	%
Растения без обработки (контроль)	42,2	–	–
Обработка растений препаратом «Экогрин»	45,1	2,9	6,9
<i>HCP</i> _{0,05}	1,96	–	–

Четырехкратное внесение биопестицида «Экогрин» в период вегетации путем полива растений через автоматическую систему способствовало снижению развития корневых гнилей на огурце защищенного грунта в 1,7 раза и показало биологическую эффективность на уровне 40,4% (табл. 7).

Т а б л и ц а 7. Биологическая эффективность биопестицида «Экогрин» против корневых гнилей на огурце

Вариант опыта	Распространенность болезни, %	Развитие болезни, %	Биологическая эффективность, %
Растения без обработки (контроль)	80,0	55,0	–
Обработка растений препаратом «Экогрин»	58,8	32,8	40,4
<i>HCP</i> _{0,05}	1,96	–	–

Обработка растений огурца биопестицидом «Экогрин» позволила повысить выход товарной продукции с 17,1 до 18,4 кг/м², сохраненный урожай при этом составил: 1,3 кг/м² (7,6% к контролю) (табл. 8).

Т а б л и ц а 8. Влияние биопестицида «Экогрин» на урожайность огурца

Вариант опыта	Урожайность с 1 м ² , кг	Сохраненный урожай на дату учета			
		кг/м ²		% к контролю	
Вариант без внесения биопестицида (контроль)	17,1	–	–	–	–
Обработка растений препаратом «Экогрин»	18,4	1,0	1,3	6,9	7,6
<i>НСР</i> _{0,05}	1,08	–	–	–	–

Заключение. Оптимальные условия для роста и синтеза антимикробных метаболитов бактериями *P. brassicacearum* БИМ В-446 достигаются при глубинном культивировании их на питательной среде следующего состава (г/л): меласса – 30,0; К₂НРО₄ – 7,0; КН₂РО₄ – 3,0; (NH₄)₂SO₄ – 1,5; MgSO₄ – 0,1; Na-цитрат – 0,5; кукурузный экстракт – 2,5; вода водопроводная – 1 л; рН_{исх.} 7,0–7,2, при интенсивности аэрации 1,0 л воздуха/л среды-мин, температуре 28 ± 2 °С, скорости вращения мешалки – 180 об/мин.

Использование термической обработки посевного материала *P. brassicacearum* БИМ В-446 позволяет получить максимальную антимикробную активность на 24 ч культивирования, что на 20–23% превышает показатели в контроле. Предложенный способ физиологической активации культуры-продуцента *P. brassicacearum* БИМ В-446 с использованием температурной обработки отличается эффективностью и технологичностью, что позволяет применять его в производстве.

Биологическая эффективность биопестицида «Экогрин» против корневых и прикорневых гнилей на огурце и томате защищенного грунта составляет 41,4–44,6%, что обеспечивает прибавку урожая в 6,9–7,6%.

Литература

1. Production of *Pseudomonas fluorescens* P-5 and P-6 for bean damping-off disease / S. P. Ashnaei [et al.] // Int. J. Agri. Biol. – 2008. – Vol. 10, № 5. – P. 573–576.
2. Duffy, B. K. Environmental factors modulating antibiotic and siderophore biosynthesis by *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains / B. K. Duffy, G. Défago // Appl. Environ. Microbiol. – 1999. – Vol. 65, № 6. – P. 2429–2438.
3. Svensater, G. Multiple stress responses in *Streptococcus mutans* and the induction of general and stress-specific proteins / G. Svensater, B. Sjogreen, I. R. Hamilton // Microbiology. – 2000. – Vol. 146. – P. 107–117.
4. Cappello, S. Effects of growth temperature on polystyrene adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 / S. Cappello, P. P. Guglielmino // Braz. J. Microbiol. – 2006. – Vol. 37. – P. 34–38.
5. Мандрик-Литвинкович, М. Н. Бактериальный штамм *Pseudomonas aurantiaca* БИМ В-446 с комплексной фитопротекторной, ростстимулирующей и ферментативной активностью / М. Н. Мандрик-Литвинкович // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. тр. – Минск : Беларус. навука, 2014. – Т. 6. – P. 166–177.
6. Мейнелл, Дж. Экспериментальная микробиология / Дж. Мейнелл, Э. Мейнелл. – М. : Мир, 1967. – 320 с.
7. Методы почвенной микробиологии и биохимии / отв. ред. Д. Г. Звягинцев. – М. : МГУ, 1980. – 224 с.
8. Сэги, Й. Методы почвенной микробиологии / Й. Сэги. – М. : Колос, 1983. – 253 с.
9. Перт, С. Основы культивирования микроорганизмов и клеток / С. Перт. – М. : Мир, 1978. – 331 с.
10. Dinitrosalicylic acid for determination of sugars / G. L. Miller [et al.] // Anal. Biochem. – 1959. – Vol. 31, № 2. – P. 426–428.
11. Емельянова, И. З. Химико-технический контроль гидролизных производств / И. З. Емельянова. – М. : Лесн. пром-ть, 1969. – 367 с.
12. Методические указания по проведению регистрационных испытаний биопрепаратов для защиты растений от вредителей и болезней. – Несвиж : Несвиж. укрупн. тип. им. С. Будного, 2008; Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве. – Несвиж : Несвиж. укрупн. тип. им. С. Будного, 2007; Методика опытного дела в овощеводстве и бахчеводстве / под ред. В. Ф. Белика. – М. : Агропромиздат, 1992.
13. Бурова, Ю. А. Получение бактериальной суспензии *Pseudomonas aureofaciens* 2006 на мелассе и изучение некоторых ее свойств / Ю. А. Бурова, С. А. Ибрагимова, В. В. Ревин // Вестн. ОГУ. – 2012. – Т. 146, № 10. – С. 61–65.

BASES OF MANUFACTOR TECHNOLOGY OF BIOPESTICIDE «ECOGREEN»

*M. N. MANDRIK-LITVINKOVICH¹, T. L. NOSONOVA¹, V. N. KUPTSOV¹,
G. K. ZHUROMSKIJ², E. G. SHINKORENKO², E. I. KALAMIYETS¹*

*¹Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Minsk, Belarus,
microbio@mbio.bas-net.by*

²Grodno State Agrarian University, Grodno, Belarus

Culture medium and parameters of deep cultivation of bacteria *Pseudomonas brassicacearum* БИМ В-446 possessing high antagonistic activity towards vegetable crop pathogens in the small-scale hydroponics were optimized. The method of physiological activation of bacterial inoculums resulting decrease of the time of preparation manufacture in 24 h was proposed. Biological efficiency of biopesticide «Ecogreen» against root rot on cucumber and tomato under greenhouse was 41.4–44.6%, that provides yield increase in 7.6–6.9%.

Поступила в редакцию 28.03.2017

УДК 579.222+577.152.531+601.4+602.6

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ КРИПТОЛАЙФ®-С В РАЦИОНАХ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

*Л. И. САПУНОВА¹, С. А. КУЛИШ¹, И. О. ТАМКОВИЧ¹,
А. Г. ЛОБАНОК¹, Н. А. ШАРЕЙКО², А. В. ЖАЛНЕРОВСКАЯ²,
А. М. СИНЦЕРОВА²*

*¹Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь,
microbio@mbio.bas-net.by, enzyme@mbio.bas-net.by*

*²Витебская государственная ордена «Знак Почета» академия ветеринарной медицины,
Витебск, Беларусь, sharejko@mail.ru*

Определен срок и условия хранения биологически активной кормовой добавки КристоЛайф®-С – не менее 12 мес при температуре ≤ 22–24 °С. Использование кормовой добавки в рационе цыплят-бройлеров повышает среднесуточные приросты их живой массы на 11,2%, сохранность поголовья – на 2–3%. При этом у птицы активизируется белковый, жировой, минеральный обмены,