УДК 633.854.78:632.444.2:632.953.1

DOI 10.25230/2412–608X–2018–1–173–87–93

**ЭЛЕМЕНТЫ ЛАБОРАТОРНОГО
РЕГЛАМЕНТА ПРОИЗВОДСТВА
МИКРОБИОПРЕПАРАТОВ
В ПРЕПАРАТИВНОЙ ФОРМЕ
«СМАЧИВАЮЩИЙСЯ ПОРОШОК»
НА ОСНОВЕ
БАКТЕРИЙ-АНТАГОНИСТОВ
ИЗ РОДА *PSEUDOMONAS*
ПРИ ПОВЕРХНОСТНОМ
КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА ЖИДКОЙ
ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ**

Л.В. Маслиенко,

доктор биологических наук

А.Х. Воронкова,

младший научный сотрудник

ФГБНУ ВНИИМК

Россия, 350038, г. Краснодар, ул. им. Филатова, д. 17

Тел.: (861) 275-85-19

E-mail: biometod@vniimk.ru

Для цитирования: Маслиенко Л.В., Воронкова А.Х. Элементы лабораторного регламента производства микробиопрепаратов в препаративной форме «смачивающийся порошок» на основе бактерий-антагонистов из рода *Pseudomonas* при поверхностном культивировании на жидкой питательной среде // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2018. – Вып. 1 (173). – С. 87–93.

Ключевые слова: микробиопрепараты, штамм-продуцент, Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens*, препаративная форма, поверхностное культивирование, смачивающийся порошок.

Разработаны элементы лабораторного регламента производства микробиопрепаратов в препаративной форме «смачивающийся порошок» (СП) при поверхностном культивировании на жидкой питательной среде перспективного бактериально-штамма-продуцента Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* из коллекции лаборатории биометода. Определён оптимальный срок поверхностного культивирования на жидкой питательной среде Кинга В – пять суток. Оптимальный объём посевной культуры по отношению к объёму питатель-

ной среды составил 2,0 %. Опытные образцы микробиопрепарата в препаративной форме СП, полученные при поверхностном культивировании штамма Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* на жидкой питательной среде, образовывали в воде стойкую суспензию, имели исходный титр 10^{8-9} КОЕ/г и влажность 6,0–6,8 %. При хранении СП микробиопрепарата в пакетах с доступом воздуха и в банках с плотно закрытой крышкой, независимо от способа отделения биомассы, в условиях постоянной низкой температуры (-18°C) титр в течение двенадцати месяцев не снизился. При переменной температуре в помещении лаборатории ($+24\dots+26^{\circ}\text{C}$), независимо от упаковки и способа отделения биомассы, титр за двенадцать месяцев хранения снизился на четыре порядка (10^5 КОЕ/г), а при постоянной высокой температуре ($+30^{\circ}\text{C}$) – на пять-шесть порядков (10^{4-3} КОЕ/г). Для сохранения опытных образцов СП микробиопрепарата на основе бактерий из рода *Pseudomonas* в пакетах с доступом воздуха при температуре $+24\dots+26^{\circ}\text{C}$ в течение двенадцати месяцев с незначительным снижением титра в пределах порядка необходимо добавление одного из стабилизаторов: тиомочевины, гидрохинона, аскорбиновой кислоты или гумата натрия.

UDC 633.854.78:632.444.2:632.953.1

Elements of the laboratory regimen for production of microbiopreparation in form of ‘wetable powder’ based on bacteria-antagonists of a genus *Pseudomonas* on surface cultivation on liquid nutrient medium.

Maslienko L.V., doctor of biology

Voronkova A.Kh., junior researcher

All-Russia Research Institute of Oil Crops

17, Filatova str., Krasnodar, Russia 350038

Tel.: (861) 275-85-19

E-mail: biometod@yandex.ru

Key words: microbiopreparations, strain-producer, Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens*, preparation form, surface cultivation, wettable powder.

There were developed the elements of the laboratory regimen for production of microbiopreparation in the form of ‘wetable powder’ on surface cultivation on liquid nutrient mediums of perspective bacteria strain-producer Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* from a collection of the laboratory of biometods. Period of 5 days was determined as optimal for surface cultivation on a liquid nutrient medium of King B. Optimal ratio between volumes of culture and nutrient medium was 2.0%. Test samples of microbiopreparation in the form of ‘wetable powder’ obtained on surface cultivation of the strain Sgrc-1

Pseudomonas fluorescens on a liquid nutrient medium formed a stable suspension in water and had an initial titer 10^{8-9} CFU/g and a moisture content of 6.0-6.8 %. When storing a 'wetable powder' microbiopreparation in packages with air access and in jars with a tightly closed lid, regardless of the method of biomass separation, under conditions of permanent low temperature (-18°C), the titer have not decreased within twelve months. When storing under variable temperature in the laboratory room ($+24...+26^{\circ}\text{C}$), regardless of the packaging and method of biomass separation, during the twelve months of storage, the titer decreased by four orders of magnitude (10^5 CFU/g), and under permanent high temperature ($+30^{\circ}\text{C}$) - by five to six orders of magnitude (10^{4-3} CFU/g). To preserve test samples of a 'wetable powder' microbiopreparation based on bacteria of a genus *Pseudomonas* in packages with air access, under a temperature of $+24...+26^{\circ}\text{C}$, during twelve months with an insignificant decrease of titer within the order of magnitude, it is necessary to add one of the antiaging agents: thiourea, hydroquinone, ascorbic acid or sodium humate.

Введение. Для нашей страны немаловажным является возможность импортозамещения дорогостоящих, опасных химических пестицидов экологически безопасными микробиопрепаратами, которые зачастую не уступают, а даже превосходят по эффективности химические фунгициды. Это особенно актуально в условиях повышенного интереса к получению экологически-безопасного продовольствия, сохранению здоровья людей и снижению загрязнения среды и сельскохозяйственной продукции пестицидами. Одной из проблем получения промышленных форм микробиопрепаратов является вопрос сохранения жизнеспособности и активности штаммов-продуцентов в процессе хранения.

В лаборатории биометода ФГБНУ ВНИИМК многие годы ведутся исследования по разработке микробиологических средств защиты масличных и других сельскохозяйственных культур от болезней. Создана уникальная коллекция штаммов грибов и бактерий-продуцентов микробиопрепаратов – биофунгицидов. Разрабатываются технологии производст-

ва разных препаративных форм микробиопрепаратов и технологии их применения [1].

Ранее в лаборатории биометода были разработаны препаративные формы микробиопрепаратов: жидкая культура, паста и порошок на основе твёрдых носителей – питательных сред (семянки, лузга, отходы от очистки семян подсолнечника) и перлита. Но жидкие культуры и пасты, особенно на основе грибных штаммов-продуцентов выдерживали хранение не более 10 суток и 3-х месяцев соответственно, даже в холодильнике, а порошки плохо смачивались в воде и забивали отверстия распылителей [2]. В отличие от грибных, жидкие культуры на основе бактериальных штаммов-продуцентов, особенно из рода *Bacillus*, могут сохраняться без добавления стабилизаторов в течение 6-и месяцев, что позволяет хранить препараты в течение сезона [3]. Но такой срок хранения жидких культур лишает возможности производить микробиопрепараты в период межсезонья.

Распространённым способом подготовки микробной биомассы к хранению является высушивание [4]. Применяемые способы высушивания микробной массы на распылительной и лиофильной сушилке довольно дорогостоящие, и, несмотря на добавление ПАВ и протекторов, воздействие стрессовых факторов на микроорганизмы (резкие перепады низких и высоких температур) снижает их выживаемость. Так, при высушивании на лиофильной сушке бактерий рода *Pseudomonas* выживаемость микроорганизмов составляет не более 16 % [5]. При конвекционной сушке биоматериал смешивается с наполнителями и протекторами и сушится током воздуха в более мягких условиях, при максимально возможной для микроорганизма температуре.

Поэтому в последние годы нами решается задача по увеличению срока хранения биопрепаратов без снижения титра в препаративной форме «смачивающийся порошок» (СП), при конвекционной суш-

ке током воздуха. Ранее нами проведены исследования по отработке элементов лабораторного регламента производства микробиопрепаратов в препаративной форме СП при поверхностном культивировании на жидких питательных средах перспективных грибных штаммов-продуцентов из рода *Penicillium* и бактерий из рода *Bacillus* [6; 7].

В данной работе приведены результаты исследований по разработке элементов лабораторного регламента производства микробиопрепарата в препаративной форме СП при поверхностном культивировании перспективного бактериального штамма-продуцента из коллекции лаборатории биометода Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* на жидкой питательной среде.

Материалы и методы. Штамм-продуцент выращивали поверхностно на жидкой питательной среде Кинга В [8] в трёхлитровых стеклянных баллонах, закрытых марлевыми крышками с крафт бумагой и повернутых набок, с объёмом питательной среды 500 мл при оптимальной температуре 25 °С. Выраченную биомассу бактерии отделяли двумя способами: с предварительным охлаждением при температуре +2 °С, с последующим сливом надосадочной жидкости и центрифугированием на Centrifuge MPW-340, в течение 5 мин с оборотом двигателя 4000 об./мин. Затем к биомассе добавляли прилипатель, растекатель и наполнитель в определённом процентном соотношении. Всё перемешивали, распределяли тонким слоем на гладкой поверхности, высушивали под вытяжкой при температуре 28–30 °С и размалывали на мельнице с охлаждением. Влажность образцов определяли стандартным методом высушивания до постоянной массы (ГОСТ 5180-2015) [9]. Для установления оптимальных сроков поверхностного культивирования штамм-продуцент выращивали в течение 5, 10, 15

и 20 суток. Для определения оптимального объёма посевной культуры к 500 мл питательной среды добавляли 2 и 4 % глубинной культуры антагониста, которую предварительно выращивали на жидкой среде, на качалке (195 об./мин) в течение 36 час. Сроки хранения опытных образцов в препаративной форме СП определяли в зависимости от упаковки, температуры и стабилизаторов. Опытные образцы хранили при постоянных (+30 и -18 °С) и переменной (+24...+26 °С) температурах в двух упаковках: пластмассовых банках, с плотно закрытой крышкой объёмом 100 мл и бумажных пакетах, с доступом воздуха, при этом обе упаковки заполняли СП на 30 % от объёма. Определяли сырую массу, порошка и титр. При хранении СП в бумажных пакетах в условиях переменной температуры (+24...+26 °С) испытывали стабилизаторы: резорцин (0,1 %), тиомочевину (0,05 %), аскорбиновую кислоту (0,05 %), бензоат натрия (0,1 %), сульфат меди (0,05 %), гумат натрия (0,5 %), гидрохинон (0,1 %), уголь активированный (0,5 %) и двуокись титана (1,0 %). Через 3, 6, 9 и 12 месяцев хранения микробиопрепарата определяли титр микробиологическим способом [10].

Результаты и обсуждение. Лабораторные образцы микробиопрепарата в препаративной форме СП, полученные при поверхностном культивировании штамма Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* на жидкой питательной среде, образовывали в воде стойкую суспензию, исходный титр 10^{8-9} КОЕ/г.

Установлен оптимальный срок поверхностного культивирования на жидкой питательной среде Кинга В и объём посевной суспензии бактериального штамма-продуцента Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* при отделении биомассы бактерии методами слива (табл. 1) и центрифугирования (табл. 2).

Таблица 1

Влияние срока поверхностного культивирования на жидкой питательной среде и объёма посевной суспензии бактериального штамма-продуцента микробиопрепарата Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* на массу смачивающегося порошка и титр опытных образцов микробиопрепарата (при отделении биомассы методом слива)

г. Краснодар, ВНИИМК, 2017 г.

Вариант	Объём посевной суспензии, %	Срок культивирования, сутки							
		5		10		15		20	
		масса СП*, г	титр, КОЕ/г	масса СП*, г	титр, КОЕ/г	масса СП*, г	титр, КОЕ/г	масса СП*, г	титр, КОЕ/г
Sgrc-1	2,0	16,78	$1,6 \times 10^9$	14,42	$1,2 \times 10^9$	16,62	$1,9 \times 10^9$	14,45	$1,4 \times 10^9$
	4,0	17,47	$1,8 \times 10^9$	16,17	$1,5 \times 10^9$	18,80	$1,1 \times 10^9$	16,51	$1,8 \times 10^9$

Примечание: * СП – микробиопрепарат в препаративной форме «смачивающийся порошок»

Таблица 2

Влияние срока поверхностного культивирования на жидкой питательной среде бактериального штамма-продуцента микробиопрепарата Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* на массу смачивающегося порошка и титр опытных образцов микробиопрепарата (при отделении биомассы методом центрифугирования)

г. Краснодар, ВНИИМК, 2017 г.

Вариант	Объём посевной суспензии, %	Срок культивирования, сутки							
		5		10		15		20	
		масса СП*, г	титр, КОЕ/г	масса СП*, г	титр, КОЕ/г	масса СП*, г	титр, КОЕ/г	масса СП*, г	титр, КОЕ/г
Sgrc-1	2,0	3,87	$7,4 \times 10^8$	2,33	$5,2 \times 10^8$	2,64	$3,9 \times 10^8$	2,49	$1,0 \times 10^8$

Примечание: * СП – микробиопрепарат в препаративной форме «смачивающийся порошок»

Установлено, что при всех сроках поверхностного культивирования Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* на жидкой питательной среде при отделении биомассы бактерии методом слива получен СП с влажностью 6,8 %, с примерно одинаковой массой, с незначительным превышением этого показателя при большем объёме посевной суспензии. Так, при объёме посевной суспензии 2,0 % с 500 мл

питательной среды получено 14,42–16,78 г СП против 16,17–18,80 г при добавлении 4,0 % посевной суспензии. Титр СП не зависел от сроков культивирования и объёма посевной суспензии штамма-продуцента и был одного порядка во всех вариантах ($1,1\text{--}1,8 \times 10^9$ КОЕ/г).

При отделении биомассы бактерии методом центрифугирования получен СП с влажностью 6,0 %, а максимальная масса установлена через пять суток поверхностного культивирования на жидкой питательной среде. При объёме посевной суспензии 2 % вес смачивающегося порошка в этом варианте составил 3,87 г против 2,33; 2,64 и 2,49 г с 500 мл питательной среды при сроке выращивания 10, 15 и 20 суток. Титр СП при всех сроках культивирования штамма-продуцента был одного порядка ($1,0\text{--}7,4 \times 10^8$ КОЕ/г).

Таким образом, при обоих способах отделения биомассы оптимальный срок поверхностного культивирования бактериального штамма Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* на жидкой среде Кинга В составил пять суток, оптимальный объём посевной суспензии – 2,0 % к объёму питательной среды. При этом масса СП значительно больше при отделении биомассы методом слива (14,42–18,80 г против 2,33–3,87 г), при более высоком, в пределах порядка, титре ($1,0\text{--}7,4 \times 10^8\text{--}1,1\text{--}1,8 \times 10^9$ КОЕ/г). Более высокая масса СП в этом варианте связана с большим весом сырой бактериальной массы и, соответственно, с большим количеством наполнителя. Более высокий титр СП объясним бережным способом отделения бактерии от культуральной жидкости, что предотвращает гибель бактериальных клеток. Тогда как при жёстком отделении биомассы бактерии на центрифуге происходит гибель части клеток псевдомонады.

Установлены сроки хранения опытных образцов микробиопрепарата на основе бактериального штамма-продуцента микробиопрепарата Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* в препаративной форме СП в зависимости от герметичности упаковки и температуры хранения (табл. 3, 4).

Таблица 3

Влияние температуры и упаковки на титр опытных образцов микробиопрепарата в препаративной форме «смачивающийся порошок» на основе бактериального штамма-продуцента Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* в процессе хранения (отделение биомассы методом слива)

г. Краснодар, ВНИИМК, 2017 г.

Срок хранения, месяцев	Титр, КОЕ/г					
	+24...+26 °С		+30 °С		-18 °С	
	пакет	банка	пакет	банка	пакет	банка
3	$5,3 \times 10^8$	$3,9 \times 10^8$	$3,3 \times 10^5$	$4,0 \times 10^4$	$1,2 \times 10^9$	$1,7 \times 10^9$
6	$5,8 \times 10^7$	$3,2 \times 10^7$	$4,6 \times 10^3$	$2,1 \times 10^3$	$1,3 \times 10^9$	$3,2 \times 10^9$
9	$2,2 \times 10^5$	$2,8 \times 10^5$	$1,8 \times 10^3$	$1,9 \times 10^3$	$1,8 \times 10^9$	$2,9 \times 10^9$
12	$1,5 \times 10^5$	$2,7 \times 10^5$	$1,5 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$	$2,4 \times 10^9$	$2,7 \times 10^9$

Таблица 4

Влияние температуры и упаковки на титр опытных образцов микробиопрепарата в препаративной форме «смачивающийся порошок» на основе бактериального штамма-продуцента Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* в процессе хранения (отделение биомассы методом центрифугирования)

г. Краснодар, ВНИИМК, 2017 г.

Срок хранения, месяцев	Титр, КОЕ/г					
	+24...+26 °С		+30 °С		-18 °С	
	пакет	банка	пакет	банка	пакет	банка
3	$2,0 \times 10^8$	$3,3 \times 10^8$	$1,2 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$	$6,5 \times 10^8$	$6,0 \times 10^8$
6	$5,1 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$	$4,4 \times 10^5$	$3,1 \times 10^5$	$6,6 \times 10^8$	$8,5 \times 10^8$
9	$3,3 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$3,9 \times 10^4$	$3,7 \times 10^4$	$8,9 \times 10^8$	$9,7 \times 10^8$
12	$3,0 \times 10^5$	$2,8 \times 10^5$	$3,4 \times 10^4$	$2,7 \times 10^4$	$8,7 \times 10^8$	$9,9 \times 10^8$

Установлено, что при обоих способах отделения биомассы при хранении опытных образцов СП микробиопрепарата на основе штамма Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* в пакетах и банках при постоянной низкой температуре (-18 °С) в течение двенадцати месяцев титр сохранялся на первоначальном уровне ($8,7\text{--}9,9 \times 10^8$ – $2,4\text{--}2,7 \times 10^9$ КОЕ/г). При переменной температуре (+24 – +26 °С) при обоих способах отделения биомассы через шесть месяцев титр снизился на два порядка как в банке, так и в пакете, а через двенадцать месяцев ещё на два порядка и составил $3,2\text{--}5,8 \times 10^7$ – $1,5\text{--}3,0 \times 10^5$ КОЕ/г соответственно.

Особенно следует отметить, что при постоянной высокой температуре (+30 °С) исходный титр уже через три месяца снизился на четыре и три порядка при отделении биомассы методами слива и центрифугирования ($3,3\text{--}4,0 \times 10^5$ и $1,2\text{--}1,4 \times 10^6$ КОЕ/г). Через двенадцать месяцев титр снизился до 10^3 КОЕ/г при способе отделения биомассы методом слива и до 10^4 КОЕ/г – методом центрифугирования.

Таким образом, при хранении микробиопрепарата на основе штамма Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* в препаративной форме СП в пакетах и банках в условиях постоянно низкой температуры (-18 °С), независимо от способа отделения биомассы, титр в течение двенадцати месяцев не снизился. При переменной температуре в помещении лаборатории (+24...+26 °С) за шесть месяцев хранения СП, при обоих способах отделения биомассы, титр снизился на два порядка как в банке, так и в пакете (10^7 КОЕ/г), а через двенадцать месяцев хранения – на четыре порядка (10^5 КОЕ/г). При постоянно высокой температуре (+30 °С) за двенадцать месяцев хранения титр СП снизился на пять-шесть порядков (10^{3-4} КОЕ/г).

Определяли влияние стабилизаторов на сроки хранения опытных образцов микробиопрепарата на основе бактериального штамма-продуцента Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* в препаративной форме СП в бумажных пакетах при переменной температуре (табл. 5, 6).

В контроле без добавок титр микробиопрепарата на основе штамма Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* при хранении в бумажном пакете в условиях переменной температуры от +24 до +26 °С в течение двенадцати месяцев снизился с 10^9 до 10^5 КОЕ/г. При добавлении тиомочевина, гидрохинона, гумата натрия и аскорбиновой кислоты титр снизился в пределах порядка ($1,1\text{--}2,6 \times 10^8$ КОЕ/г). В остальных вариантах титр снизился до $10^6\text{--}10^7$ КОЕ/г, а в варианте с активированным углём – до уровня контроля (10^5 КОЕ/г).

Таблица 5

Влияние стабилизаторов на титр опытных образцов микробиопрепарата на основе бактериального штамма-продуцента Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* в препаративной форме СП при хранении в бумажных пакетах в условиях переменной температуры (отделение биомассы методом слива)

г. Краснодар, ВНИИМК, 2017 г.

Вариант	Титр, КОЕ/г, через, месяцев			
	3	6	9	12
Контроль	$5,3 \times 10^8$	$5,8 \times 10^7$	$2,2 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$
Резорцин, 0,1 %	$4,9 \times 10^7$	$5,1 \times 10^7$	$5,1 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$
Тиомочевина, 0,05 %	$5,5 \times 10^7$	$1,9 \times 10^8$	$8,9 \times 10^7$	$1,1 \times 10^8$
Аскорбиновая кислота, 0,05 %	$5,0 \times 10^7$	$5,5 \times 10^7$	$5,1 \times 10^7$	$5,4 \times 10^7$
Бензоат натрия, 0,1 %	$2,4 \times 10^7$	$3,1 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$
Сульфат меди, 0,005 %	$3,0 \times 10^7$	$3,8 \times 10^7$	$1,1 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$
Гидрохинон, 0,1 %	$6,3 \times 10^8$	$6,0 \times 10^8$	$5,7 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$
Гумат натрия, 0,5 %	$6,2 \times 10^8$	$6,1 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8$	$2,2 \times 10^8$
Меласса, 0,3 %	$2,0 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$	$4,6 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$
Двуокись титана, 1,0 %	$1,3 \times 10^7$	$2,8 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$
Уголь активированный, 0,5 %	$1,8 \times 10^6$	$5,1 \times 10^5$	$4,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$

Таблица 6

Влияние стабилизаторов на титр опытных образцов микробиопрепарата на основе бактериального штамма-продуцента Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* в препаративной форме СП, при хранении в бумажных пакетах в условиях переменной температуры (отделение биомассы методом центрифугирования)

г. Краснодар, ВНИИМК, 2017 г.

Вариант	Титр, КОЕ/г, через, месяцев			
	3	6	9	12
Контроль	$2,0 \times 10^8$	$5,1 \times 10^7$	$3,3 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$
Резорцин, 0,1 %	$4,0 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$3,5 \times 10^7$	$3,8 \times 10^7$
Тиомочевина, 0,05 %	$6,0 \times 10^7$	$1,6 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8$
Аскорбиновая кислота, 0,05 %	$2,2 \times 10^8$	$1,6 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8$	$1,4 \times 10^8$
Бензоат натрия, 0,1 %	$5,7 \times 10^7$	$4,2 \times 10^6$	$5,4 \times 10^6$	$5,4 \times 10^6$
Сульфат меди, 0,005 %	$6,3 \times 10^6$	$4,4 \times 10^6$	$2,4 \times 10^6$	$5,4 \times 10^6$
Гидрохинон, 0,1 %	$3,6 \times 10^8$	$3,7 \times 10^8$	$2,6 \times 10^8$	$1,4 \times 10^8$
Гумат натрия, 0,5 %	$4,0 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$2,3 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$
Меласса, 0,3 %	$1,5 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$	$0,9 \times 10^7$	$8,4 \times 10^6$
Двуокись титана, 1,0 %	$5,5 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$
Уголь активированный, 0,5 %	$3,8 \times 10^7$	$1,1 \times 10^6$	$5,3 \times 10^5$	$2,4 \times 10^5$

Таким образом, установлено, что для сохранения опытных образцов СП микробиопрепарата на основе бактерий из рода *Pseudomonas* с незначительным снижением титра в пределах порядка в течение двенадцати месяцев необходимо добавление одного из стабилизаторов: тиомочевины, гидрохинона, аскорбиновой кислоты или гумата натрия.

Выводы. 1. Опытные образцы микробиопрепарата в препаративной форме СП, полученные при поверхностном культивировании штамма Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* на жидкой питательной среде, образовывали в воде стойкую суспензию, имели исходный титр 10^{8-9} КОЕ/г и влажность 6,0–6,8 %.

2. Оптимальный срок поверхностного культивирования бактериального штамма Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* на жидкой среде Кинга В составил пять суток, а объём посевной суспензии – 2,0 % к объёму питательной среды.

3. При хранении опытных образцов микробиопрепарата на основе штамма Sgrc-1 *Pseudomonas fluorescens* в препаративной форме СП при постоянной низкой температуре (-18°C) в течение двенадцати месяцев титр, независимо от способа отделения биомассы и упаковки, сохранялся на первоначальном уровне.

4. При переменной температуре ($+24...+26^\circ\text{C}$), независимо от упаковки и способа отделения биомассы, титр опытных образцов СП за двенадцать месяцев хранения снизился на четыре порядка (10^5 КОЕ/г), а при постоянно высокой температуре – на пять-шесть порядков (10^{4-3} КОЕ/г).

5. Для сохранения опытных образцов СП микробиопрепарата на основе бактерий из рода *Pseudomonas* в пакетах с доступом воздуха при температуре $+24...+26^\circ\text{C}$ в течение двенадцати месяцев с незначительным снижением титра в пределах порядка необходимо добавление одного из стабилизаторов – тиомочевины, гидрохинона, аскорбиновой кислоты или гумата натрия.

Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ и администрации Краснодарского края, грант № 16-48-230293.

Список литературы

1. Маслиенко Л.В. Обоснование и разработка микробиологического метода борьбы с болезнями подсолнечника: дис. ... докт. биол. наук: защищена 03.06.05, утв. 07.10.05. – Краснодар, 2005. – 377 с.
2. Маслиенко Л.В. Лаборатория биологических средств защиты растений (вчера, сегодня, завтра) // В кн.: История научных исследований во ВНИИМК за 90 лет. – Краснодар, 2003. – С. 273–281.
3. Асатурова А.М. Перспективные штаммы бактерий-продуценты микробиопрепаратов для снижения вредоносности фузариоза на подсолнечнике: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 06.01.11 / Анжела Михайловна Асатурова. – СПб, 2009. – 22 с.
4. Берестецкий А.О., Сокогнова С.В. Получение и хранение биопестицидов на основе микромицетов // Микология и фитопатология. – 2009. – Т. 43. – Вып. 6 – С. 473–489.
5. Петриков К.В., Власова Е.П., Ветрова А.А. [и др.]. Получение сухой формы биопрепарата для очистки от нефтяных загрязнений и изучение его свойств при долговременном хранении // Известия Тульского государственного университета. Естественные науки. – 2010. – Вып. 1. – С. 186–195.
6. Маслиенко Л.В., Воронкова А.Х. Элементы лабораторного регламента производства микробиопрепаратов на основе грибных штаммов-продуцентов в препаративной форме «смачивающийся порошок» // Масличные культуры: Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2016. – Вып. 4 (168). – С. 100–107.
7. Маслиенко Л.В., Воронкова А.Х. Элементы лабораторного регламента производства микробиопрепарата в препаративной форме «смачивающийся порошок» на основе бактерий-антагонистов из рода *Bacillus* // Масличные культуры: Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – Краснодар, 2017. – Вып. 3 (171) С. 93–96.
8. King E. O., Ward M. K., Raney D. E Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein // J. Lab. Clin. Med. – 1954. – Vol. 44. – P. 301–307.
9. ГОСТ 5180-2015 Грунты. Методы лабораторного определения физических характеристик.
10. Нетрусов Ф.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.

References

1. Maslienko L.V. Obosnovanie i razrabotka mikrobiologicheskogo metoda bor'by s boleznyami podsolnechnika: dis. ... dokt. biol. nauk: zashchishchena 03.06.05, utv. 07.10.05. – Krasnodar, 2005. – 377 s.
2. Maslienko L.V. Laboratoriya biologicheskikh sredstv zashchity rasteniy (vchera, segodnya, zavtra) // V kn.: Istoriya nauchnykh issledovaniy vo VNIIMKe za 90 let. – Krasnodar, 2003. – S. 273–281.
3. Asaturova A.M. Perspektivnye shtammy bakteriy-produtsenty mikrobiopreparatov dlya snizheniya vredonosnosti fuzarioza na podsolnechnike: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk: 06.01.11 / Anzhela Mikhaylovna Asaturova. – SPb, 2009. – 22 s.
4. Berestetskiy A.O., Sokornova S.V. Poluchenie i khranenie biopestitsidov na osnove mikromitsetov // Mikologiya i fitopatologiya. – 2009. – T. 43. – Vyp. 6 – S. 473–489.
5. Petrikov K.V., Vlasova E.P., Vetrova A.A. [i dr.]. Poluchenie sukhoy formy biopreparata dlya ochistki ot neftyanykh zagryazneniy i izuchenie ego svoystv pri dolgovremennom khranении // Izvestiya Tul'skogo gosudarstvennogo universiteta. Estestvennye nauki. – 2010. – Vyp. 1. – S. 186–195.
6. Maslienko L.V., Voronkova A.Kh. Elementy laboratornogo reglamenta proizvodstva mikrobiopreparatov na osnove gribnykh shtammov-produtsentov v preparativnoy forme «smachivayushchiysya poroshok» // Maslichnye kul'tury: Nauch.-tekh. byul. VNIIMK. – 2016. – Vyp. 4 (168). – S. 100–107.
7. Maslienko L.V., Voronkova A.Kh. Elementy laboratornogo reglamenta proizvodstva mikrobiopreparata v preparativnoy forme «smachivayushchiysya poroshok» na osnove bakteriy-antagonistov iz roda *Bacillus* // Maslichnye kul'tury: Nauch.-tekh. byul. VNIIMK. – Krasnodar, 2017. – Vyp. 3 (171) S. 93–96.
8. King E. O., Ward M. K., Raney D. E Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein // J. Lab. Clin. Med. – 1954. – Vol. 44. – P. 301–307.
9. GOST 5180-2015 Grunty. Metody laboratornogo opredeleniya fizicheskikh kharakteristik.
10. Netrusov F.I., Egorova M.A., Zakharchuk L.M. Praktikum po mikrobiologii. – M.: Izdatel'skiy tsentr «Akademiya», 2005. – 608 s.