

of bees. Noteworthy that the most favorable indicators of safety and the vitality of the bees (27–33% higher than in the control group) and improvement of microbiological composition of their intestinal biocenosis were achieved with the use of probiotic preparations based on bacteria *Bacillus subtilis*. The high survival rate of spore-forming probiotic bacteria inas recorded on the media consisting of 50% sugar syrup.

Поступила в редакцию 19.04.2018 г.

УДК 630.443.3

**ОТРАБОТКА УСЛОВИЙ ГЛУБИННОГО
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *PHLEBIOPSIS GIGANTEA*
С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЗАЩИТЫ
СОСНОВЫХ НАСАЖДЕНИЙ ОТ КОРНЕВОЙ ГУБКИ**

*Т. В. РОМАНОВСКАЯ¹, А. А. АРАШКОВА¹,
А. М. ТРИГУБОВИЧ¹, Э. И. КОЛОМИЕЦ¹, Л. В. РОМАНОВА¹,
О. В. МОЛЧАН¹, В. Б. ЗВЯГИНЦЕВ², Г. А. ВОЛЧЕНКОВА²,
А. В. САВИЦКИЙ²*

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

²*Белорусский государственный технологический университет,
Минск, Беларусь,
mycolog@tut.by*

Подобран состав питательной среды и оптимизированы условия глубинного культивирования *Phlebiopsis gigantea* в колбах на качалке и лабораторных ферментерах «АНКУМ-10М», осуществлен контроль оидиогенеза глубинной культуры. Нарботана опытная партия биологического препарата и проведены испытания эффективности его действия в производственных условиях. Установлены оптимальные сроки применения и нормы внесения биологического препарата, обеспечивающие эффективную колонизацию поверхности пней и профилактику корневой губки в сосновых насаждениях.

Введение. В настоящее время в лесозащитной отрасли все большее внимание уделяется биологическому методу борьбы с корневой губкой, основанному на антагонистических и конкурентных взаимоотношениях между агентами биозащиты и возбудителями заболеваний [1]. Проблема создания отечественного биопрепарата для защиты сосновых насаждений от корневой

губки в Беларуси также является актуальной, поскольку площади поражения увеличиваются, а применяемые лесозащитные мероприятия по ограничению вредоносности патогена не могут обеспечить должного снижения интенсивности развития болезни, так как не воздействуют на возбудителя болезни, находящегося в древесине корневых систем и нижней части стволов пораженных деревьев.

Для защиты от корневой гнили еловых и сосновых насаждений во многих странах используют базидиальные грибы рода *Phlebiopsis* [2]. Известны технологии получения биопрепаратов на основе суспензии оидий твердофазной культуры *Phlebiopsis gigantea* [3]. При твердофазном культивировании на сыпучем субстрате концентрация КОЕ гриба достигает 10^7 оидий/г сухого препарата. Для повышения жизнеспособности спор, входящих в состав такой композиции, после ферментации их подвергают сублимационной, вакуумной или распылительной сушке, затем объединяют путем смешивания в жидкости или экстрадирования с одним или несколькими твердыми носителями (глина, отруби, лактоза, целлюлоза, вермикулит, древесные опилки). Жидкую композицию упаковывают в герметичный контейнер. Такой способ позволяет увеличить выживаемость спор *P. gigantea* на 20% при хранении в течение 6 мес. при 25 °С [4].

За рубежом наиболее используемой препаративной формой биопрепаратов на основе *P. gigantea* является жидкий концентрат оидиоспор с целевыми добавками, полученный при выращивании базидиомицета на агаризованной среде [5]. Производитель препарата «PG Suspension» для засева пней в ходе санитарной рубки деревьев рекомендует использовать препарат с концентрацией оидий 10^6 в 1 л рабочего раствора.

Однако производство препаратов на основе выращивания промышленных штаммов грибов поверхностным способом нельзя считать технологичным, поскольку этот способ является длительным и трудоемким [6]. Более продуктивным и совершенным процессом является глубинное культивирование микроорганизмов [7, 8]. Благодаря высокой степени автоматизации аппаратов ферментационный процесс легко управляем, механическое перемешивание и непрерывная аэрация создают благоприятные

условия для доступа питательных веществ и кислорода ко всем клеткам мицелия, обеспечивая одинаково благоприятные условия для роста и накопления продуктов метаболизма.

Выращивание мицелия высших базидиальных грибов в искусственных условиях требует изучения их отношения к основным источникам питания и некоторым другим факторам, регулирующим накопление биомассы или желаемых продуктов метаболизма [9].

К основным факторам питания, влияющим на рост и спорогенез грибов в культуре, относятся источники углерода и азота. Наиболее предпочтительными источниками углеродного питания для грибов являются глюкоза, лактоза и сахароза в концентрации 20–40 г/л. В качестве источников азота используются аммонийные и нитратные соли, а также азот в органической форме. Обязательными компонентами питательных сред являются минеральные соли и ростостимулирующие добавки [7, 8]. При изучении влияния источников углеродного и азотного питания на рост мицелия грибов показано, что разные виды базидиомицетов обладают индивидуальными предпочтениями [9].

Для выращивания грибного мицелия в промышленных условиях более целесообразно использовать дешевые субстраты: богатые сахаром отходы переработки картофеля, кукурузы, молочной сыворотки, а также другие отходы сельскохозяйственного производства и деревообрабатывающей промышленности. Для получения биомассы базидиомицетов используется также меласса – отход свеклосахарного производства [10].

Цель исследования – подбор питательной среды и условий глубинного культивирования штамма *P. gigantea*, отобранного в качестве основы биопрепарата против корневой губки [11], получение опытного образца и оценка эффективности его использования для профилактики возникновения очагов корневой губки в сосновых насаждениях после проведения рубок.

Материалы и методы. Объектом исследования служил базидиальный гриб *Phlebiopsis gigantea*, выделенный из образца древесины соснового пня второй стадии разложения (Мальковичское лесничество ГЛХУ «Ганцевичский лесхоз», тип леса – сосняк мшистый).

Глубинное культивирование грибов осуществляли в колбах Эрленмейера на шейкере-инкубаторе при 110 ± 10 об/мин (7–14 сут) и в лабораторных ферментерах «АНКУМ-10М» емкостью 10 л (4–5 сут) на питательной среде с различными источниками углерода и азота. При отработке условий культивирования базидиомицета в ферментерах интенсивность аэрации варьировали с шагом 0,5 л воздуха/л среды в минуту при скорости вращения мешалки 80 ± 10 об/мин и оптимальной для культуры температуре. Для засева питательной среды использовали суспензию оидиоспор или вегетативный посевной материал.

Количество спор (оидий) в суспензиях и культуральной жидкости грибов контролировали путем подсчета в камере Горяева, а также методом предельных разведений [12]. Количество КОЕ в 1 см^3 вычисляли по формуле:

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

где T – количество КОЕ в 1 см^3 ; 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, см^3 .

Содержание редуцирующих веществ (РВ) определяли с 3,5-динитросалициловой кислотой по методу Миллера и др. [13]. Общее количество сахаров устанавливали после кислотного гидролиза по Бертрану [14].

Полученные результаты подвергали статистической обработке с помощью программы Microsoft Excel. При статистической обработке результатов экспериментов проводили определение средних арифметических и их доверительных интервалов для уровня вероятности 95% [15, 16].

Результаты и обсуждение. В связи с целесообразностью использования дешевых, широко распространенных субстратов при оптимизации состава питательной среды для глубинного культивирования гриба *P. gigantea* в качестве источников углерода наряду с моно-, дисахаридами (глюкоза, сахароза) тестировали отходы сельскохозяйственного, свеклосахарного производства и деревообрабатывающей промышленности (солома, опилки, меласса, свекловичный жом). Влияние источников углерода на

рост культуры оценивали на фоне солевого состава глюкозо-пептонной среды. Твердые субстраты предварительно измельчали и просеивали через сито.

Установлено, что для роста гриба и образования оидиоспор наиболее приемлемыми источниками углерода из числа проверенных субстратов являются свекловичный жом и меласса. Титр КОЕ гриба с их использованием составлял $3,5 \cdot 10^5$ и $7,5 \cdot 10^5$ соответственно, в то время как на глюкозе и сахарозе не превышал $1,5 \cdot 10^5$, а на опилках и соломе – $1,0 \cdot 10^3$ КОЕ / мл. Причем для этих сред было характерно образование крупных пеллет гриба размером 3–7 мм. Отличительной особенностью развития *P. gigantea* на жидкой питательной среде с жомом является преобладание мелких пеллет (1–2 мм) и наличие диффузного (гифального) роста, что является более желательным, так как рост мицелия в форме крупных пеллет лимитирован кислородом и питательными веществами и осуществляется только на их внешней поверхности [17].

Жом и меласса широко используются в кормопроизводстве [18]. Вместе с тем благодаря доступности и низкой стоимости они могут служить субстратами для культивирования микроорганизмов. Так, меласса, содержащая до 50% сахарозы, используется в качестве источника углерода в составе питательной среды для культивирования бактерий родов *Bacillus*, *Pseudomonas* [19–21]. Свекловичный жом, богатый клетчаткой, известен как сырье для получения грибных белковых препаратов [22, 23].

Для определения потребности *P. gigantea* в азоте оценивали влияние органических и минеральных источников азотного питания на рост и оидиогенез культуры при выращивании на гомогенных средах с глюкозой. Контролем служила глюкозо-пептонная среда. В ходе исследований показано, что наиболее приемлемыми источниками азота для образования оидий грибом *P. gigantea* являются кукурузный экстракт и аммоний азотно-кислый (см. таблицу).

При совместном использовании кукурузного экстракта и аммония азотнокислого в составе питательной среды отмечено повышение степени утилизации РВ грибом (более 90%) и более интенсивный оидиогенез культуры (10^6 КОЕ/мл), что соответ-

Влияние различных источников азота на развитие *P. gigantea* при глубинном культивировании в колбах на качалке

Источник азота	Показатель pH на 7/14-е сут	РВ, г/л / % утилизации		Титр оидий, КОЕ/мл (на 14-е сут)
		на 7-е сут	на 14-е сут	
Пептон (контроль)	5,4/5,9	4,3/78,5	3,4/83,0	$1,0 \cdot 10^5$
Кукурузный экстракт	4,3/4,7	4,5/77,5	3,1/78,0	$5,0 \cdot 10^5$
Аммоний азотнокислый (NH_4NO_3)	4,0/3,6	3,9/80,5	3,7/81,5	$3,0 \cdot 10^5$
Мочевина (NH_2) ₂ CO	6,6/6,8	4,0/80,0	4,0/80,0	$1,0 \cdot 10^5$
Аммоний сернокислый (NH_4) ₂ SO ₄	3,6/4,8	3,5/82,5	2,5/87,5	$5,0 \cdot 10^4$
Натрий азотнокислый NaNO ₃	3,8/4,5	2,3/88,5	2,1/89,5	$5,0 \cdot 10^4$
Аммоний виннокислый (NH_4) ₂ C ₄ H ₄ O ₆	4,9/5,4	3,7/81,0	3,4/83,0	$5,0 \cdot 10^4$

Пр и м е ч а н и е. Азот вносили в количестве 0,4 г/л; РВ исх. 20 г/л.

ствуется литературным данным о том, что базидиомицеты лучше растут на средах, содержащих как минеральные, так и органические источники азота [24].

Для уточнения концентрации источников питания при выращивании *P. gigantea* варьировали количество жома (10–20 г/л) и кукурузного экстракта (1–5 г/л). Аммоний азотнокислый во все варианты вносили в количестве 1,0 г/л, мелассу – дополнительно в вариант с минимальным количеством жома. Установлено, что для глубинного культивирования *P. gigantea* целесообразно совместное использование жома и мелассы (по 10,0 г/л) в качестве источников углерода, кукурузного экстракта и аммония азотнокислого (по 1,0 г/л) – в качестве источников азота.

Одним из факторов, регулирующих рост и метаболизм высших базидиомицетов в глубинной культуре, является кислотный показатель питательной среды (pH). Несмотря на то, что большинство грибов растет в широком интервале показателей кислотности, оптимальные значения pH располагаются в более узком диапазоне [25], в связи с чем выявление предпочтительного значения pH является необходимым этапом оптимизации условий выращивания каждой культуры.

Для изучения влияния pH на рост гриба *P. gigantea* в условиях глубинного культивирования кроме основной питательной среды с жомом и мелассой использовали пивное сусло, так как контролировать накопление биомассы на гетерогенной среде затруднительно из-за параллельно происходящего процесса утилизации субстрата, сопровождающегося уменьшением выхода продукта. Значения pH варьировались в диапазоне 3,0–8,0 с шагом 1,0. Установлено, что оптимальные условия для накопления биомассы грибом *P. gigantea* на пивном сусле создаются при исходном значении pH 6,0, для образования оидий – при pH 5,0. На питательной среде с жомом и мелассой максимальное количество оидиоспор образуется при исходном pH 5,0 (рис. 1).

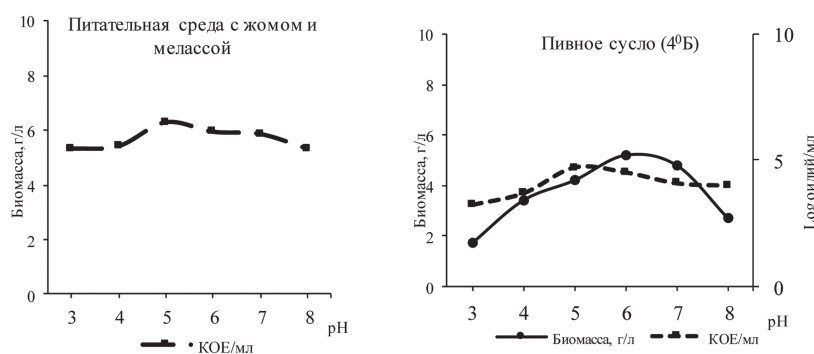


Рис. 1. Влияние pH на рост и оидиогенез *P. gigantea* при глубинном культивировании в колбах на качалке

При отработке условий культивирования базидиомицета в лабораторных ферментерах установлено, что при подаче воздуха в подобранном нами оптимальном количестве на 4-е сут культивирования титр оидий *P. gigantea* достиг 10^6 КОЕ/мл, утилизация углеводных компонентов питательной среды (РВ) составила около 80% (рис. 2). При уменьшении уровня аэрации в 2 раза ростовые показатели культуры и степень утилизации РВ снижаются. Увеличение подачи воздуха в 1,5 раза приводит к усилению пенообразования, что также негативно сказывается на контролируемых показателях.

В подобранных условиях наработана глубинная культура *P. gigantea*, в асептических условиях осуществлена ее фильтрация

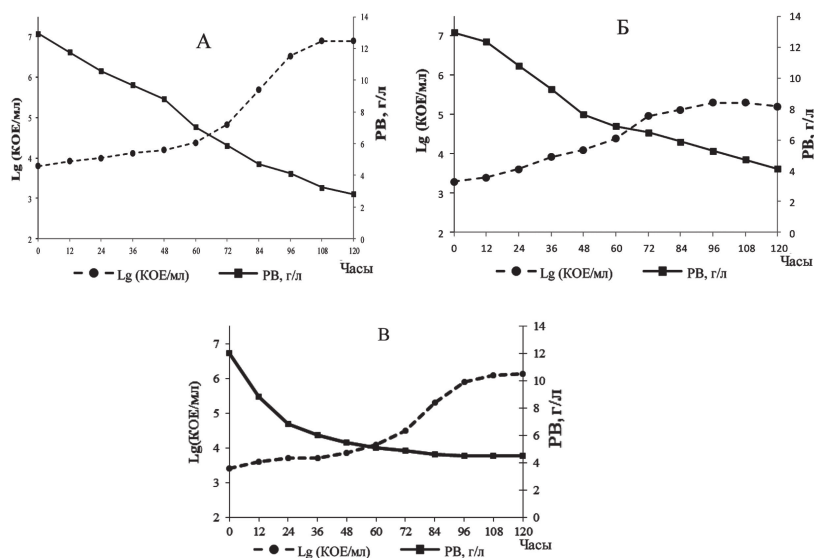


Рис. 2. Динамика потребления углеводных компонентов питательной среды (г/л) и образования оидий (lg КОЕ/мл) при периодическом культивировании *P. gigantea* в ферментере «АНКУМ-10М»: А – оптимальная аэрация; Б – в 2 раза ниже оптимальной; В – в 1,5 раза выше оптимальной

с использованием полиамидной ткани, после чего лабораторная партия препарата передана для оценки эффективности действия в отношении корневой губки на территории ГЛХУ «Бобрыйский лесхоз» в Грибовецком лесничестве (кв. 59, выд. 17) и УО БГТУ «Негорельский учебно-опытный лесхоз» в Центральном лесничестве (кв. 50, выд. 14, 18). Основными задачами испытаний являлись: установление оптимальных сроков применения и нормы внесения биологического препарата, необходимой для эффективной колонизации поверхности пней.

Нормы расхода препарата определяли путем варьирования концентрации рабочего раствора, наносимого на поверхность пней (2–10 млн КОЕ/л). Обработку пней осуществляли в 3-дневный период после проведения рубки ухода за лесом. Расход рабочей жидкости составлял 4,9 л на 1 м² поверхности пней. Через 4 мес. изучали успешность колонизации пней вносимым *P. gigantea*. С этой целью с обработанных пней отбирались спилы толщиной около 1 см ниже поверхности пня на 2–3 см. Спил верхней

части пня удаляли, что позволяло снизить вероятность заселения образца чужеродной микрофлорой. В момент сбора полевого материала спилы упаковывались в отдельные пакеты и нумеровались в соответствии с концентрацией КОЕ, после чего в лабораторных условиях образцы промывали под проточной водой и фасовали по чистым полиэтиленовым пакетам. Инкубация сосновых дисков проводилась при температуре 20 °С в течение 10 дней, до момента появления мицелия гриба. На рис. 3 отображены результаты колонизации поверхности пней грибом *P. gigantea* спустя 4 мес. после обработки биопрепаратом различной концентрации.

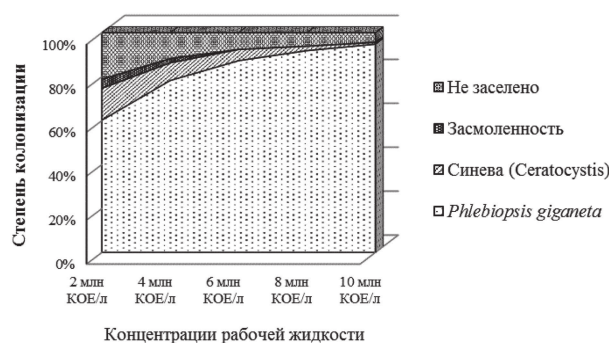


Рис. 3. Колонизация поверхности пней грибом *P. gigantea* в зависимости от концентрации биопрепарата

Площадь заселения поверхности пня, подвергнутого обработке грибом *P. gigantea*, составляла в среднем 84,0%. Грибы, вызывающие синеву, колонизировали 5,7% площади обработанного пня, заселение осуществлено, предположительно, грибами рода *Ceratocystis*. Незаселенная часть древесины представлена в большей степени стойкой к микодеструкции ядровой древесиной, которая составляет 9,1%, и участками с засмолением древесины, площадь которых составила около 1,2%.

Проведенные наблюдения показали, что с увеличением концентрации оидиоспор в рабочем растворе препарата пропорционально увеличивается площадь поверхности пня, колонизированной антагонистом. Так, в результате применения рабочего раствора биопрепарата с концентрацией оидиоспор 2 млн КОЕ/л

в среднем колонизировано 60,6% поверхности пня, а при концентрации 10 млн спор/л – 94,8%. Экономически выгодной концентрацией рабочего раствора, обеспечивающей колонизацию не менее 75% поверхности пня, является 3–6 млн КОЕ/л (т. е. 3–6 тыс. КОЕ/мл). Полученные данные близки к выводам профессора Н. И. Федорова [26], определившим, что достаточной концентрацией для успешного заселения пней грибом *P. gigantea* является 20 тыс. оидий/мл.

Для изучения эффективности обработки биопрепаратом при различных сроках его применения после рубки выдел был разделен на 3 пасаки, каждая из которых обрабатывалась по отдельной схеме: 1-я – в день рубки; 2-я – через 7 дней после рубки; 3-я – через 14 дней после рубки. Обработка пней проводилась ранцевым опрыскивателем со средним расходом 4,9 л на 1 м² поверхности пней. Использовали рабочую жидкость с концентрацией оидиоспор *P. gigantea* 3,5 млн КОЕ на 1 л, которая, по предварительным данным, достаточна для эффективной колонизации поверхности пня. Результаты инокуляции были получены спустя 4 мес. при анализе сосновых спилов. На рис. 4 представлена динамика колонизации поверхности пней базидиомицетом с различными сроками обработки.

Выявлено, что при использовании биопрепарата сразу после проведения рубки антагонист колонизировал наибольшую площадь поверхности пня, доля участия синевы при этом была минимальной. При использовании препарата спустя 7 и 14 дней по-

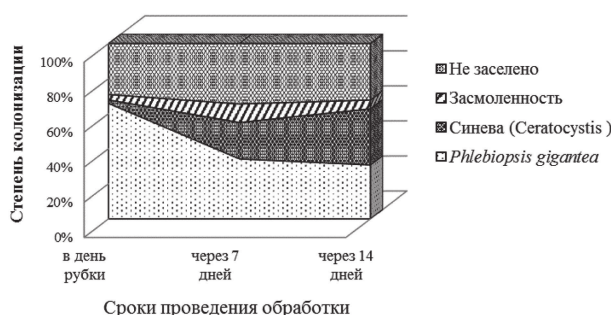


Рис. 4. Динамика колонизации поверхности пней грибом *P. gigantea* в различные сроки обработки биопрепаратом после рубки

сле рубки процент колонизации поверхности пня уменьшался, а площадь занятая древоокрашивающими грибами возрастала.

Следовательно, обработка пней сразу после проведения рубок биологическим препаратом наиболее эффективна, так как позволяет предотвратить первичное заражение свежих пней спорами корневой губки, снизить количество инфекции корневой губки путем колонизации пригодного для нее субстрата грибом-антагонистом, препятствует распространению инфекции корневой губки по корневым системам срубленных деревьев за счет быстрого разложения древесины.

Закключение. Подобран состав питательной среды и условия глубинного культивирования базидиомицета *P. gigantea* в колбах на качалке и ферментере «АНКУМ-10М», обеспечивающие получение биологического препарата для защиты сосновых насаждений от корневой губки. Установлены нормы расхода препарата (концентрация оидиоспор рабочего раствора не менее 3,5 тыс. КОЕ/мл) и сроки его применения (1-я неделя после проведения рубок), гарантирующие эффективную колонизацию поверхности пня. Показано, что обработка пней биологическим препаратом на основе гриба *P. gigantea* способствует предотвращению первичного заражения свежих пней спорами корневой губки, что позволяет использовать биопрепарат для профилактики корневой губки в сосновых насаждениях.

Литература

1. Волченкова, Г. А. Скрининг штаммов *Phlebiopsis gigantea* (Fr.) Jülich по приживаемости на пнях сосны после рубок ухода / Г. А. Волченкова, В. Б. Звягинцев, А. В. Савицкий // Проблемы лесоведения и лесоводства: сб. науч. тр. – 2013. – Вып. 73. – С. 219–222.
2. Hermans, R. Value creation potential of intellectual capital / R. Hermans, I. Kauranen // Biotechnology: Empirical Evidence from Finland. – 2005. – № 35. – P. 171–185.
3. A reactor and method for solid state fermentation: pat. WO2006035104.
4. Method for prolonging the viability of fungal spores in liquid formulations: pat. EP3034600 A1 / Bayer Cropscience Biolog GmbH; Bayer Cropscience Ag; publ. date: 22.06.2016.
5. Biological method to reduce wetwood content in green lumber: pat. US9078848 B2 / Y. Dian- Qing, M. Savard; FPINNOVATIONS, Pointe-Claire, QC; publ. date: 14.07.2015.

6. Способ получения белковой биомассы базидиального гриба *Pleurotus pulmonarius*: пат. RU2588474 C1 / Сибир. гос. технолог. ун-т; дата публ.: 27.06.2016.

7. *Elisashvili, V.* Submerged cultivation of medicinal mushrooms: bioprocesses and products (Review) / *V. Elisashvili* // *Int. J. Med. Mushrooms*. – 2012. – Vol. 14, № 3. – P. 211–239.

8. Nutrient media for a pure culture of fungi of the genus *Pleurotus* obtaining in vitro / *T. V. Ivanova* [et al.] // *Biotechnologia Acta*. – 2016. – Vol. 9, № 2. – P. 82–86.

9. *Бухало, А. С.* Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре / *А. С. Бухало, И. А. Дудка*. – Киев: Наук. думка, 1988. – 144 с.

10. *Капич, А. Н.* Возможность накопления биомассы базидиомицетами на отходах промышленности в глубоинной культуре / *А. Н. Капич, А. С. Бухало, И. В. Стахеев* // *Вес. АН БССР. Сер. бiял.* – 1980. – № 1. – С. 88–92.

11. Скрининг изолятов *Phlebiopsis gigantea*, перспективных для создания биопрепарата против корневой гubки / *Т. В. Романовская* [и др.] // *Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. тр.* – Минск, 2017. – Т. 9. – С. 92–103.

12. *Сэги, Й.* Методы почвенной микробиологии / *Й. Сэги*. – М.: Колос, 1983. – 253 с.

13. Dinitrosalicilic acid for determination of sugars / *G. L. Miller* [et al.] // *Anal. Biochem.* – 1959. – Vol. 31, № 2. – P. 426–428.

14. *Емельянова, И. З.* Химико-технологический контроль гидролизных производств / *И. З. Емельянов*. – М.: Лесная пром-ть, 1969. – 367 с.

15. *Рокицкий, П. Ф.* Биологическая статистика / *П. Ф. Рокицкий*. – Минск: Вышэйш. шк., 1973. – 320 с.

16. *Тюрин, Ю. Н.* Статистический анализ данных на компьютере / *Ю. Н. Тюрин, А. А. Макаров*. – М.: ИНФА-М, 1998. – 544 с.

17. *Стахеев, И. В.* Биотехнология малотоннажного производства микробного протеина / *И. В. Стахеев, Э. И. Коломиец, Н. А. Здор* // *Биотехнология малотоннажного производства микробного протеина*. – Минск: Наука и техника, 1991. – 264 с.

18. Характеристика отходов технических производств [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.geolike.ru. – Дата доступа: 15.03.2017.

19. *Воронкович, Н. В.* Оптимизация состава питательной среды и условий глубоинного культивирования бактерий *Bacillus subtilis* 17 – основа биопрепарата для защиты картофеля от грибных и бактериальных болезней / *Н. В. Воронкович, И. Н. Ананьева, Э. И. Коломиец* // *Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. тр.* – Минск, 2012. – Т. 4. – С. 178–189.

20. Технология получения и применения биопестицида для защиты семенного материала картофеля от реинфекции / *Т. В. Романовская* [и др.] // *Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. тр.* – Минск, 2016. – Т. 8. – С. 235–249.

21. Способ получения биопрепарата для защиты овощных и зеленных культур от болезней в условиях малообъемной гидропоники: пат. BY 17575 /

Э. И. Коломиец, Н. В. Сверчкова, В. Н. Купцов, М. Н. Мандрик-Литвинкович, Н. В. Евсегнеева; дата опубл.: 30.10.2013.

22. *Билай, Т. И.* Биотрансформация пектинсодержащего растительного сырья термофильными грибами / Т. И. Билай // Биоконверсия растительного сырья: тез. докл. Всесоюзн. симп. – Рига, 1982. – Т. 2. – С. 173–174.

23. *Важинская, И. С.* Исследование условий роста *Chaetomium megalocarum* БИМ F-121 и *Basisporium gallarum* БИМ F-137 и синтеза ими белка на свекловичном жоме: автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.07 / И. С. Важинская; АН Беларуси, Ин-т микробиологии. – Минск, 1983. – 21 с.

24. *Разин, А. Н.* Технология получения биологически активной субстанции *Phallus impudicus* и ее применение для конструирования биопрепаратов с противоопухолевыми и антиоксидантными свойствами: дис. ... канд. биол. наук / А. Н. Разин; Моск. гос. акад. ветеринар. медицины и биотехнол. им. К. И. Скрябина. – М., 2011. – 104 с.

25. *Елинов, Н. П.* Основы биотехнологии / Н. П. Елинов. – СПб.: Наука, 1995. – 600 с.

26. *Федоров, Н. И.* Корневые гнили хвойных пород / Н. И. Федоров. – М.: Лесн. пром-сть, 1984. – 160 с.

DEVELOPMENT OF CONDITIONS FOR SUBMERGED CULTIVATION OF *PHLEBIOPSIS GIGANTEA* TO OBTAIN THE PREPARATION FOR PROTECTION OF PINE PLANTATIONS FROM ROOT SPONGE

*T. V. ROMANOVSKAYA¹, A. A. ARASHKOVA¹, A. M. TRIGUBOVICH¹,
E. I. KOLOMIYETS¹, L. V. ROMANOVA¹, O. V. MOLCHAN¹, V. B. ZVYAGINTSEV²,
G. A. VOLCHENKOVA², A. V. SAVITSKIY²*

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

²*Belarusian State Technological University, Minsk, Belarus,
mycolog@tut.by*

The composition of the nutrient medium was determined and the conditions for submerged cultivation of *Phlebiopsis gigantea* in shaking flasks and laboratory fermenters “ANKUM-10M” were tested. The control of the oidiogenesis of submerged culture was carried out. The effectiveness of the experimental batch of biopreparation was tested in the field conditions. Optimal timing and application rates of the biological preparation were established for ensuring the effective colonization of the stump surface and prevention of root sponge in pine plantations.

Поступила в редакцию 04.05.2018 г.