



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

C12N 1/20 (2024.01); A01N 63/22 (2024.01); C12R 2001/125 (2024.01)

(21)(22) Заявка: 2023134707, 22.12.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
22.12.2023Дата регистрации:  
23.09.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 22.12.2023

(45) Опубликовано: 23.09.2024 Бюл. № 27

Адрес для переписки:

308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, НИУ  
"БелГУ", Токтарева Татьяна Михайловна

(72) Автор(ы):

Ляховченко Никита Сергеевич (RU),  
Никишин Илья Андреевич (RU),  
Чепурина Анна Андреевна (RU),  
Круть Ульяна Александровна (RU),  
Потапова Марина Сергеевна (RU),  
Шайдорова Галина Михайловна (RU),  
Кузубова Елена Валерьевна (RU),  
Радченко Александра Игоревна (RU),  
Селезнев Александр Олегович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Белгородский государственный  
национальный исследовательский  
университет" (НИУ "БелГУ") (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2528058 C1, 10.09.2014.СЕНЧЕНКОВ В.Ю. и др. Оценка  
биотехнологического потенциала двух  
бактериальных штаммов, выделенных из  
отходов птицефабрик города Белгорода;  
Сборник материалов V Международного  
симпозиума, 24-26 мая 2023, Белгород, с. 87-89.  
SENCHEKOV V.YU. et al. Whole-genome  
sequencing and biotechnological potential  
assessment of two (см. прод.)

(54) Композиция с противогрибковой активностью

(57) Реферат:

Композиция с противогрибковой активностью  
относится к области биотехнологии,  
микробиологии и может быть использована в  
сельском хозяйстве. Композиция содержит *Bacillus*  
*subtilis* ВКМ В3701D с титром  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/г и  $0,2$   
М  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Заявленная композиция обладаетповышенной степенью подавления роста на 15,7%  
в отношении грибкового некротрофного патогена  
растений *Alternaria brassicicola* ВКМ F-1864 и на  
14,7% в отношении *Aspergillus unguis* ВКМ F-1754  
по сравнению с чистой культурой *Bacillus subtilis*  
ВКМ В3701D. 3 ил., 3 пр.

(56) (продолжение):

bacterial isolated from poultry farms in Belgorod, Russia; *Microorganisms*, 2023, N 11 2235, p. 1-17. RU 2808722  
C1, 04.12.2023.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*C12N 1/20* (2006.01)  
*A01N 63/22* (2020.01)  
*C12R 1/125* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*C12N 1/20 (2024.01); A01N 63/22 (2024.01); C12R 2001/125 (2024.01)*(21)(22) Application: **2023134707, 22.12.2023**(24) Effective date for property rights:  
**22.12.2023**Registration date:  
**23.09.2024**

Priority:

(22) Date of filing: **22.12.2023**(45) Date of publication: **23.09.2024** Bull. № 27

Mail address:

**308015, g. Belgorod, ul. Pobedy, 85, NIU "BelGU",  
Toktareva Tatyana Mikhajlovna**

(72) Inventor(s):

**Liakhovchenko Nikita Sergeevich (RU),  
Nikishin Ilia Andreevich (RU),  
Chepurina Anna Andreevna (RU),  
Krut Uliana Aleksandrovna (RU),  
Potapova Marina Sergeevna (RU),  
Shaidorova Galina Mikhailovna (RU),  
Kuzubova Elena Valerevna (RU),  
Radchenko Aleksandra Igorevna (RU),  
Seleznev Aleksandr Olegovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe  
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego  
obrazovaniia "Belgorodskii gosudarstvennyi  
natsionalnyi issledovatel'skii universitet" (NIU  
"BelGU") (RU)**(54) **COMPOSITION WITH ANTIFUNGAL ACTIVITY**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: composition with antifungal activity relates to biotechnology, microbiology and can be used in agriculture. Composition contains *Bacillus subtilis* VKM B3701D with titre  $1 \cdot 10^9$  CFU/g and 0.2 M  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .EFFECT: declared composition has a higher degree of growth inhibition by 15,7% in relation to the fungal necrotrophic plant pathogen *Alternaria brassicicola* VKM F-1864 and by 14,7% in relation to *Aspergillus unguis* VKM F-1754 compared to a pure culture of *Bacillus subtilis* VKM B3701D.

1 cl, 3 dwg, 3 ex

Изобретение относится к области биотехнологии, микробиологии и может быть использовано в сельском хозяйстве в качестве основы для фунгицидов биологического происхождения в растениеводстве.

Известны штаммы бактерий рода *Bacillus*, обладающих способностью подавлять 5 рост фитопатогенных грибов и стимулировать формирование урожая сельскохозяйственных культур.

В патенте RU 2808722 (опубл. 04.12.2023) представлено изобретение, описывающее биологический препарат на основе бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* ВКПМ В-13788 для защиты овощных растений от грибных и бактериальных болезней. Указанный 10 штамм характеризуется широким спектром фунгицидной активности и подавляет развитие следующих фитопатогенных грибов: *Alternaria tenuis*, *Aspergillus niger*, *Ascoshita cucumis*, *Fusarium graminearum*, *Microdochium nivale* (*Fusarium nivale*), *Fusarium solani*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phoma solanicola*, *Phomopsis helianthi*, *Botrytis cinerea*, *Magnaporthe grisea*, *Phytophthora infestans*. 15

Биопрепарат для защиты овощных растений от заболеваний, вызываемых фитопатогенными грибами и бактериями, представляет собой смесь культуральной жидкости штамма *Bacillus amyloliquefaciens* ВКПМ В-13788 с титром  $2-4 \cdot 10^9$  КОЕ/мл и 20 целевых добавок, иммобилизованную на мелкодисперсных гранулах диатомита, при этом соотношение по объему смесь: гранулы диатомита составляет 1:5.

Известен патент RU 2528058 (опубл. 10.09.2014), где описан биопрепарат на основе штамма *Bacillus amyloliquefaciens* ВКПМ В-11475, обладающий фунгицидным действием для защиты зерновых растений от заболеваний, вызываемых фитопатогенными грибами. Биологический препарат получают путём смешивания активного начала в виде 25 культуральной жидкости вышеуказанного штамма с титром  $2-3 \cdot 10^9$  КОЕ/мл и носителя в виде мелкодисперсных гранул диатомита в соотношении по объёму 1:3 с последующим высушиванием.

В патенте RU 2808722 и патенте RU 2528058 в качестве носителя для иммобилизации 30 активного фактора *Bacillus amyloliquefaciens* ВКПМ В-13788 и *Bacillus amyloliquefaciens* В-11475 соответственно, выбран мелкодисперсный диатомит, который является натуральной осадочной горной породой, состоящей преимущественно из останков диатомовых водорослей. Химически диатомит более чем на 80% состоит из водного кремнезема.

Из уровня техники неизвестно использование штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D в составе композиции с противогрибковой активностью для использования в качестве 35 фунгицидов биологического происхождения в растениеводстве.

Задача изобретения заключается в разработке композиции на основе *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D с противогрибковой активностью.

Технический результат - решение поставленной задачи за счет предложенной 40 композиции, содержащей *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D с титром  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/г и  $0,2 \text{ M CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , обладающей более высокой противогрибковой активностью по сравнению с чистой культурой.

Штамм *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D для композиции с  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  выделен из 45 отходов птицеводства методом серийных разведений на питательный агар LB следующего состава: пептон - 10; дрожжевой экстракт - 5; NaCl - 10; агар - 20. Культура отобрана по признаку наибольшей дезаминирующей активности, для выявления которой была приготовлена модифицированная питательная среда LB с добавлением 0,1 мл

0,5% р-ра индикатора бромтимолового синего на 1 литр среды [Senchenkov, V.Y.; Lyakhovchenko, N.S.; Nikishin, I.A.; Myagkov, D.A.; Chepurina, A.A.; Polivtseva, V.N.; Abashina, T.N.; Delegan, Y.A.; Nikulicheva, T.B.; Nikulin, I.S.; et al. Whole-Genome Sequencing and Biotechnological Potential Assessment of Two Bacterial Strains Isolated from Poultry Farms in Belgorod, Russia. *Microorganisms* 2023, 11, 2235. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11092235>].

Культуральные и морфологические свойства штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D  
*Bacillus subtilis* ВКМ В3701D представляет собой палочковидные грамположительные неподвижные спорообразующие бактерии. Изолят является факультативным анаэробом.

10 Физиолого-биохимические свойства штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D

Изолят обладает нитратредуктазной, протеолитической и амилазной активностями, способен использовать в качестве ростового субстрата желатин, альбумин, казеин. *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D образует аммиак при культивировании на 3%-ной пептонной среде.

15 Штамм использует D-глюкозу, сахарозу, мальтозу, лактозу, маннит, сорбит, тирозин, фенилаланин, дегидроксифенилаланин, изолейцин и лизин.

В свою очередь, изолят не способен утилизировать фруктозу, гистидин, цистеин, треонин, серин, норлейцин, глютамин и орнитин. Изолят не способен использовать в качестве ростового субстрата бензоат натрия.

20 *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D обладает устойчивостью к антибиотикам, таким как амфотерицин В - 40 мкг, бацитрацин - 0,04 ед, оптохин - 6 и сапонины - 750 мкг, а также к дезоксихолату натрия, - 3 мг, антимикотику кетоконазол - 20 мкг.

Молекулярно-генетическая идентификация штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D.

25 В ходе молекулярно-генетической идентификации изолята были обнаружены генные кластеры вторичных метаболитов, характерные для вида *Bacillus subtilis*. К ним относятся бациллин, субтилизин, бацилизин, сурфактин, бациллибактин, фенгицин, сактипептод, ратипептид. Большинство соединений, которые теоретически способны продуцировать данный штамм, известны своей антимикробной активностью.

30 Неожиданно было обнаружено, что штамм *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D обладает противогрибковой активностью, а в составе композиции с сульфатом кальция формулы  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  противогрибковая активность повышается.

Кроме того, в качестве компонента заявленной композиции возможно использование цитрогипса формулы  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , что позволяет решить проблему утилизации гипсовых отложений, выступающих в качестве отхода производства лимонной кислоты.

35 Способ получения композиции на основе *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D и  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Способ включает в себя подготовку питательных сред, суточных культур и стерильной воды. Подготовленную суточную культуру суспендируют и вносят в питательную среду. После чего, культивируют в течение 48 часов при оптимальных условиях для роста *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D, а именно, 30°C, рН среды 7, 40 перемешивание при 150 об/мин.

Порошок  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  стерилизуют автоклавированием при 115°C в течение 30 минут.

По окончании культивирования, в суспензию *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D вносят стерильный порошок сульфата кальция, в таком количестве, чтобы его концентрация составила 0,2 М в полученной смеси, перемешивают при 150 об/мин в течение 30 минут.

45 Полученную смесь замораживают при минус 40°C в течение 12 часов, после чего лиофильно высушивают в вакууме в течение 17 часов.

В результате получают композицию, содержащую *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D с

титром  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/г и  $0,2 \text{ M CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Изобретение характеризуют следующие фигуры.

Фиг. 1. Схема постановки эксперимента, где: 1) чашка Петри; 2) питательная среда; 3) агаровые диски с исследуемой культурой; 4) диск фильтровальной бумаги, пропитанный суспензией тест-культуры плесневого гриба.

Фиг. 2. График изменения среднего квадратического диаметра плесневого гриба в присутствии бактерий, где:

1 - изолированная культура *Alternaria brassicicola* ВКМ F-1864 в качестве контроля;

2 - культура *Alternaria brassicicola* ВКМ F-1864 в присутствии тест-культуры *Bacillus subtilis* ВКМ В-12;

3 - культура *Alternaria brassicicola* ВКМ F-1864 в присутствии композиции *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D с  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;

4 - культура *Alternaria brassicicola* ВКМ F-1864 в присутствии *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D без  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Фиг. 3. График изменения среднего квадратического диаметра плесневого гриба в присутствии бактерий, где:

1 - изолированная культура *Aspergillus unguis* ВКМ F-1754 в качестве контроля;

2 - культура *Aspergillus unguis* ВКМ F-1754 в присутствии тест-культуры *Bacillus subtilis* ВКМ В-12;

3 - культура *Aspergillus unguis* ВКМ F-1754 в присутствии композиции *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D с  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ;

4 - культура *Aspergillus unguis* ВКМ F-1754 в присутствии *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D без  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Пример 1. Получение композиции, включающей *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D и  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ :

1.1. Методом микробиологического штриха на чашке Петри получают чистую суточную культуру грамположительной бактерии *Bacillus subtilis* ВКМ В-3701D на плотной питательной среде в составе 3% пептон микробиологический, 2% агар-агар микробиологический, а остальное вода.

1.2. При помощи микробиологической петли отбирают 1 см микробиологического штриха выросшей культуры *Bacillus subtilis* ВКМ В-3701D, полученной по п. 1 и смешивают с 4 мл стерильной воды. После чего, смесь вносят в 100 мл жидкой питательной среды, содержащей 3% микробиологического пептона.

1.3. Посев культивируют в течение 48 часов при pH среды 7, температуре  $30^\circ\text{C}$  и с перемешиванием 150 об/мин.

1.4. Одновременно подготавливают сульфат кальция путем стерилизации автоклавированием, при температуре  $121^\circ\text{C}$  в течение 30 минут.

1.5. Получают композицию микроорганизма и  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  путем добавления последнего к 100 мл культуральной жидкости *Bacillus subtilis* ВКМ В-3701D  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  в количестве 27,2 г, чтобы составляет 0,2 моль от полученной смеси.

1.6. Полученную смесь перемешивают при 150 об/мин в течение 30 минут и замораживают при минус  $40^\circ\text{C}$  в течение 12 часов.

1.8. Лиофилизируют смесь в течение 17 часов в вакууме.

В результате получают сыпучий порошок композиции, включающей *Bacillus subtilis* ВКМ В-3701D с титром  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/г и  $0,2 \text{ M CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  в количестве 1 г.

Пример 2. Определение противогрибковой активности полученной по примеру 1

композиции на примере грибкового некротрофного патогена растений *Alternaria brassicicola* ВКМ F-1864, вызывающего болезнь черной точки у широкого круга хозяев, особенно у представителей рода *Brassica*, включая ряд экономически важных культур, таких как капуста, китайская капуста, цветная капуста, масличные семена, брокколи и рапс. Хотя он в основном известен как значительный патоген для растений, он также способствует развитию различных респираторных аллергических состояний, таких как астма и риноконъюнктивит.

1) 0,1 г. композиции, содержащую  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/г бактерий *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D и 0,2 М  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , полученную по примеру 1, вносят в жидкую питательную среду составом пептон - 10 г; дрожжевой экстракт - 5 г; NaCl - 10 г и 1000 мл воды. Посев инкубируют при 30°C в течение 48 часов;

2) аналогичным способом готовят эталонный штамм бактерии *Bacillus subtilis* ВКМ В-12, выступающей в качестве контрольной культуры и чистую культуру *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D без сульфата кальция с титром  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/мл. Посевы инкубируют при 30°C в течение 48 часов;

3) суспензии культур, полученных по пп. 1 и 2 пассируют в стерильные чашки Петри с питательной средой, составом из расчета пептон - 10 г; дрожжевой экстракт - 5 г; NaCl - 10 г; агар - 20 г и 1000 мл воды, сплошным способом - посев «газоном» - и инкубируют при 30°C в течение 5-х суток;

4) после инкубации, стерильным пробочным сверлом вырезают диски из агара с культурой диаметром 10 мм;

5) диски размещают по 8 в чашке Петри, согласно схеме, указанной на фигуре 1.

6) в центре чашки Петри размещают бумажный диск фильтровальной бумаги диаметром 10 мм, смоченной суспензией спор плесневого гриба *Alternaria brassicicola* ВКМ F-1864;

7) Посевы инкубируют при 25°C. В течение 7 суток каждые 24 часа измеряют диаметр колонии гриба;

8) при каждом измерении рассчитывают средний квадратический диаметр плесневого гриба по формуле:

$$S = \sqrt{\frac{\sum V^2}{n}}, \quad (1)$$

Рассчитывают скорость роста среднего квадратического диаметра колонии по формуле:

$$K = \frac{S - S_0}{t - t_0}, \quad (2)$$

где  $K$  - скорость роста колонии,  $S_0$  - средний квадратический диаметр колонии при первом измерении,  $S$  - средний квадратический диаметр колонии при последнем измерении,  $t_0$  - время инкубации на момент первого измерения,  $t$  - время инкубации на момент последнего измерения.

Рассчитывают степень подавления скорости роста среднего квадратического диаметра колонии по формуле:

$$IR = \left( \frac{K_K - K_0}{K_K} \right) \cdot 100\%, \quad (3)$$

где  $K_k$  - скорость роста культуры в контрольном варианте на момент окончания инкубации, а  $K_0$  - скорость роста в опытном варианте.

9) для демонстрации влияния штаммов бактерий при совместном культивировании с грибом строят график изменения среднего квадратического диаметра плесневого гриба в присутствии бактерий и чистой культуры плесневого гриба (фигура 2);

10) согласно формуле 2, скорость роста среднего квадратического диаметра колонии плесневого гриба в контрольном варианте составляет 11,6 мм/сут, тогда как в присутствии тест-культуры *Bacillus subtilis* ВКМ В-12 - 5,3 мм/сут. В присутствии чистой культуры *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D скорость роста среднего квадратического диаметра колонии плесневого гриба составляет 3,5 мм/сут, а для композиции *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D с титром  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/г и 0,2 М  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  - 2,7 мм/сут.

10) Существенной противогрибковой активностью считают такое значение степени подавления роста тест-культуры плесневого гриба, которое превышает 70%. Согласно формуле 3, степень подавления роста *Alternaria brassicicola* ВКМ F-1864 тест-культурой *Bacillus subtilis* ВКМ В-12 составила 54,3%, культурой *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D

-70%, а композиции *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D с титром  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/г и  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  - 76,7%. Следовательно, степень подавления предлагаемой к патентованию композиции *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D с  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  выше, чем у тест-культуры, полученной из Всероссийской коллекции микроорганизмов *Bacillus subtilis* ВКМ В-12 на 22,4%, и на 15,7%, выше, чем у чистой культуры *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D без сульфата кальция. Что доказывает повышение противогрибковой активности при добавлении сульфата кальция.

Пример 3. Определение противогрибковой активности на примере грибкового патогена растений *Aspergillus unguis* ВКМ F-1754. Представители рода *Aspergillus* широко распространены в почве и многие из штаммов являются возбудителями болезней растений. Кроме того, плесневые грибы этого рода способны вызвать заболевания человека и животных - аспергиллезы:

1) штаммы *Bacillus subtilis* ВКМ В-12, *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D и композиции *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D с  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  подготавливают согласно п. 1, 2, 3 примера 2;

2) постановку опыта по оценке противогрибковой активности штаммов в отношении плесневого гриба *Aspergillus unguis* ВКМ F-1754 проводили согласно пунктам 4,5,6 примера 2;

3) затем, с использованием формул 1-3 обрабатывают полученные данные и судят об эффективности штаммов. С использованием формулы 1 рассчитывают средний квадратический диаметр плесневого гриба и строят кривые роста для демонстрации влияния штаммов бактерий при совместном культивировании с грибом (фигура 3);

4) согласно формулам 2 и 3, скорость роста среднего квадратического диаметра колонии плесневого гриба *Aspergillus unguis* ВКМ F-1754 в контрольном варианте составляет 3,42 мм/сут, тогда как в присутствии тест-культуры *Bacillus subtilis* ВКМ В-12 - 1,5 мм/сут. В присутствии чистого штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D - 1,0 мм/сут. В присутствии композиции, содержащей штамм *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D с  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , скорость роста среднего квадратического диаметра колонии плесневого гриба составляет 0,5 мм/сут.

Таким образом, степень подавления роста *Aspergillus unguis* ВКМ F-1754 тест-культурой *Bacillus subtilis* ВКМ В-12 составила 56%, чистой культурой *Bacillus subtilis*

ВКМ В3701D без  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  - 70,7%, в присутствии заявленной композиции *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D с  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  - 85,4%. Следовательно, степень подавления роста *Aspergillus unguis* ВКМ F-1754 предлагаемой к патентованию композиции штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D с  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  выше, чем у тест-культуры, полученной из  
5 Всероссийской коллекции микроорганизмов *Bacillus subtilis* ВКМ В-12 на 29,4%, и чистой культуры *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D на 14,7%.

Таким образом, приведенные примеры подтверждают, что поставленная задача решена и технический результат достигнут.

10

(57) Формула изобретения

Композиция с противогрибковой активностью для использования в качестве фунгицидов биологического происхождения в растениеводстве, содержащая *Bacillus subtilis* ВКМ В3701D с титром  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/г и 0,2 М  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

15

20

25

30

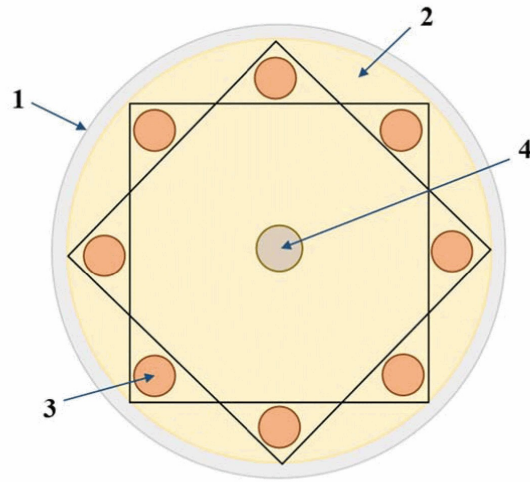
35

40

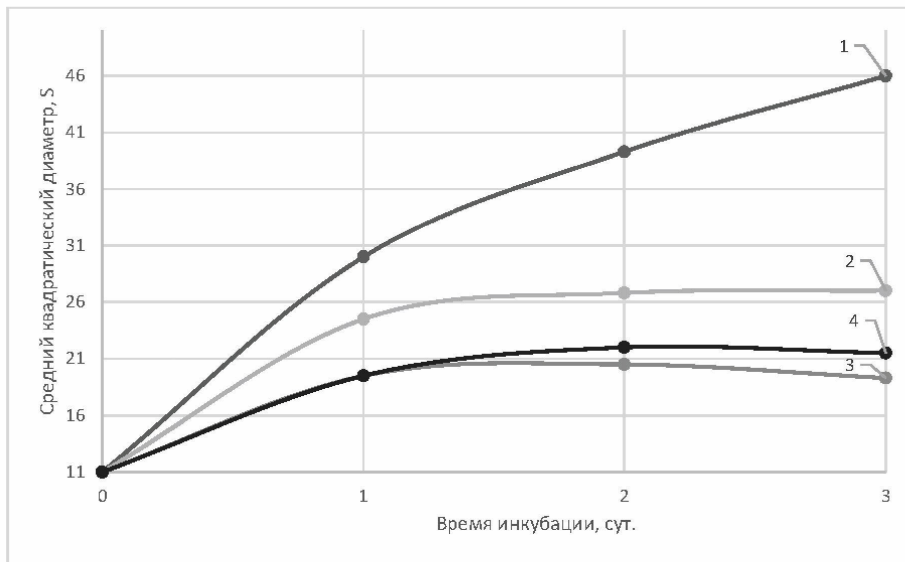
45



1

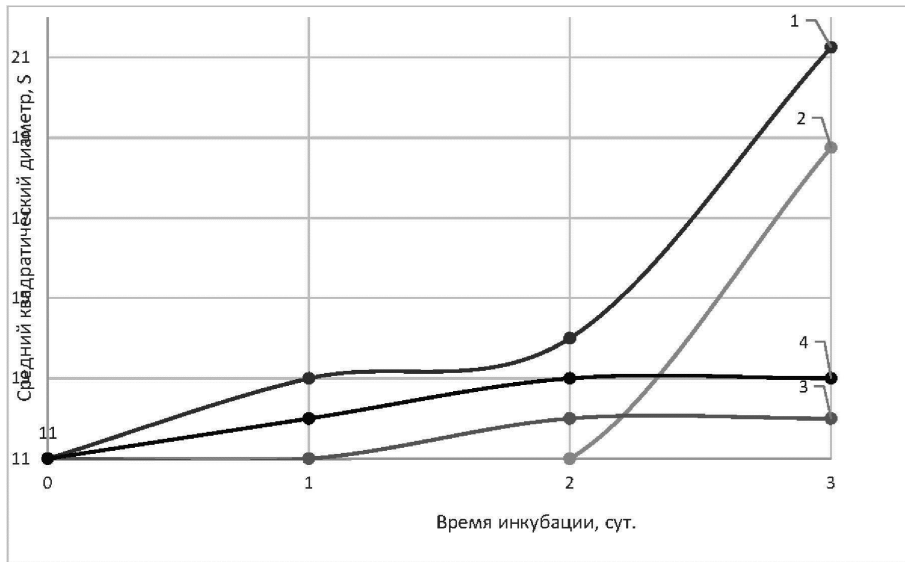


Фиг. 1



Фиг. 2

2



Фиг.3