

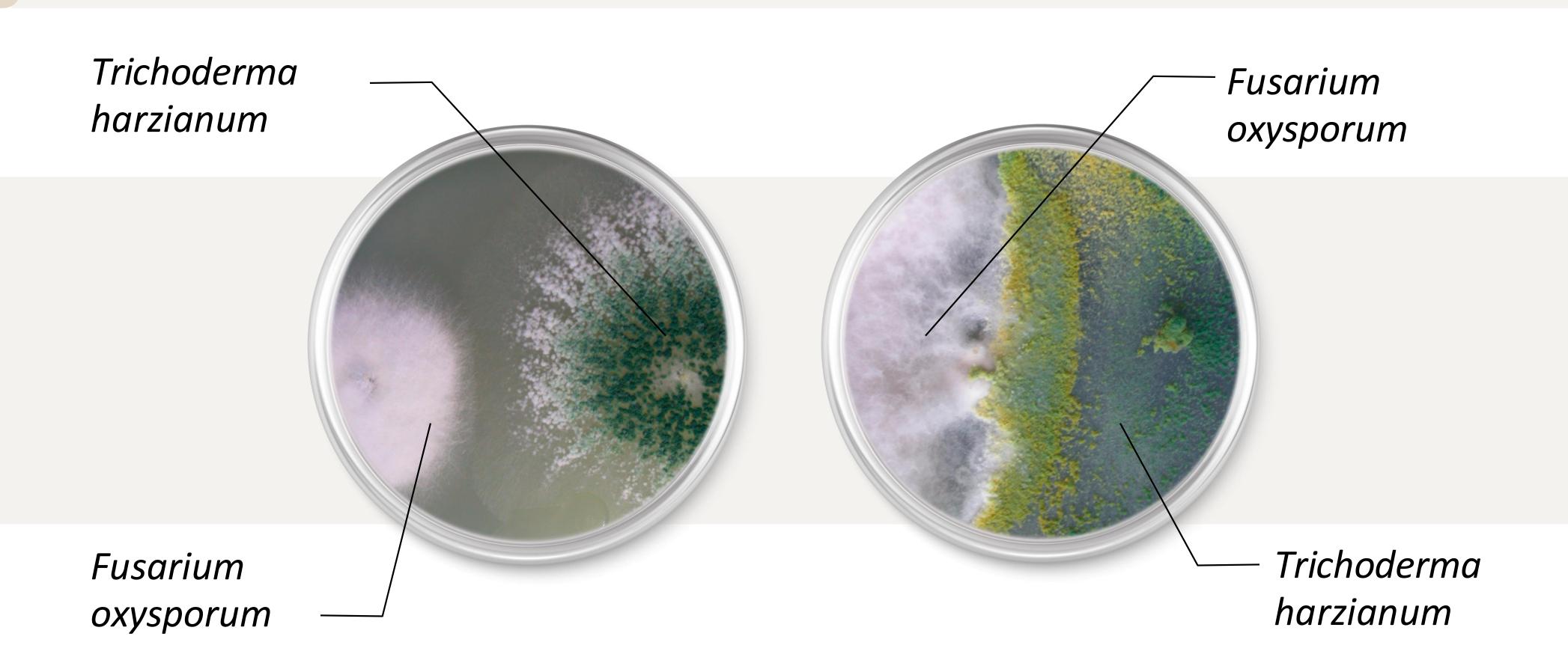
## ТИТРЫ и ЭФФЕКТИВНОСТЬ ШТАММОВ— ОСНОВА ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

## ПРАКТИЧЕСКИЙ РАСЧЕТ

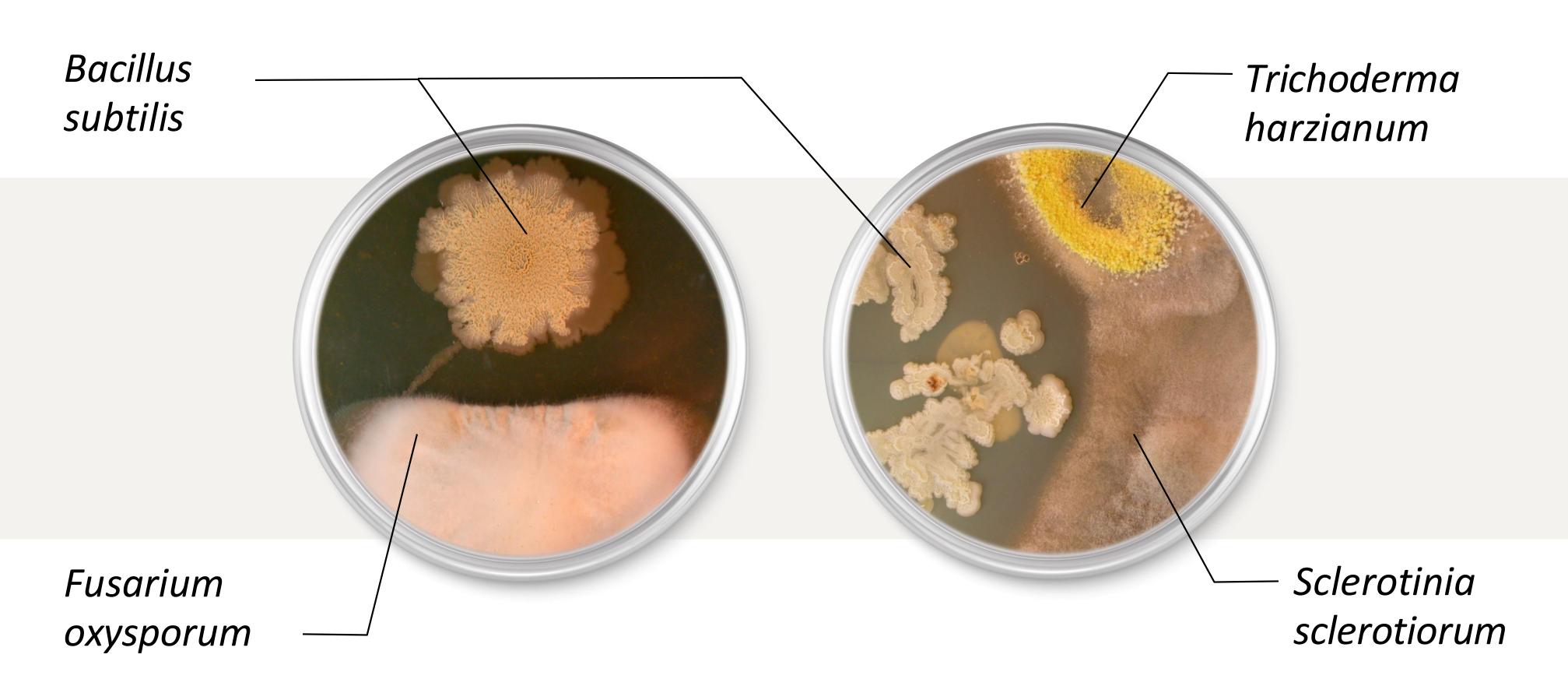
### Морозов Денис Олегович

Генеральный директор ООО «АгроБиоТехнология»

## Гриб *Trichoderma harzianum*, штамм ВИЗР 18, эффективно подавляет тест-культуры фитопатогенов возбудителей фузариозных корневых гнилей и увядания



Микробы-антагонисты Bacillus subtilis и Trichoderma harzianum эффективно подавляют возбудителей гнилей и увядания растений (фузарием и склеротинией)



### Биофунгициды



### АгроБиоТехнология

биологические средства защиты растений



Бактерии *Bacillus subtilis*, штамм B-10 ВИЗР

(титр не менее  $5 \times 10^{10} \text{ KOE/г}$ )

Бактерии *Bacillus subtilis*, штамм M-22 ВИЗР

(титр не менее  $5 \times 10^{10}$ ) КОЕ/г)

Грибы рода *Trichoderma*harzianum, штамм 18 ВИЗР

(титр не менее 5х10<sup>9</sup>

Общий титр не менее  $10.5 \times 10^{10} \text{ KOE/r} = 1.05 \times 10^{11} \text{ KOE/r}$ 



Бактерии *Bacillus subtilis*, штамм B-10 ВИЗР

(титр не менее  $10^{11}$  КОЕ/г)

Бактерии *Bacillus subtilis*, штамм M-22 ВИЗР

(титр не менее  $10^{11}$  КОЕ/г)

Общий титр не менее 2 x 10<sup>11</sup> КОЕ/г



Бактерии *Bacillus subtilis*, штамм B-10 ВИЗР (титр не менее 10<sup>11</sup> КОЕ/г)



Бактерии *Bacillus subtilis*, штамм M-22 ВИЗР (титр не менее 10<sup>11</sup> КОЕ/г)



Грибы рода *Trichoderma*harzianum, штамм ВИЗР 18

(титр не менее 10<sup>10</sup> КОЕ/г)

### Преимущества современных эффективных биопрепаратов

- Высокая активность штаммов против вредных объектов
- Высокий титр (концентрация) живых клеток в препаратах
- **Безопасность** гарантирована токсикологической оценкой штаммов и препаратов
- Удобство применения препаратов (опрыскивание, капельный полив)
- **Длительный срок годности препаратов:** от 1 до 3-х лет
- Условия хранения сухих препаратов: от -30 до + 30 град. С

### Титр (концентрация) клеток

- Титр клеток в биопрепаратах устанавливается методом подсчёта клеток под микроскопом в камере Горяева
- Титр жизнеспособных клеток определяется методом посева суспензии клеток после соответствующего разведения на агаризованные среды
- Титр живых клеток в препарате измеряется КОЕ/мл или КОЕ/грамм и показывает количество микробных клеток (бактерий или грибов) в единице объема или веса.
- КОЕ величина колониеобразующая единица.

# Защитный микробиологический фон растений от фитопатогенов на основе биологических фунгицидов

### Биофунгициды

Обработка по листу

≥ 20 клеток/мм<sup>2</sup>

**≥10**<sup>12</sup> KOE/га

Облиственность (площадь листьев)

1 га теплицы:

- Огурец 3,2-3,3 га
- Томат 2,9 -2,8 га

3 га листьев =  $3 \times 10^{10}$  мм<sup>2</sup> листьев

**Внесение биофунгицида с питательным раствором** в минераловатный субстрат с титром

**≥10<sup>5</sup> KOE/мл** 

На 1 га теплицы идет 50 000 литров раствора = 5 х10<sup>7</sup> мл раствора

Твердюков А.П. Биологический метод борьбы с вредителями и болезнями в защищённом грунте:

(Справочник) / А. П. Твердюков, П. В. Никонов, Н. П. Ющенко. - Москва : Колос, 1993. - 157 с.

Рудаков В.О. Применение биопрепаратов в комплексе с профилактическими мероприятиями - адекватная альтернатива химическому методу

защиты растений // Защита расте- ний в тепличном хозяйстве. Приложение N3/2007

### Рассчитываем суммарное количество раствора в матах на одном гектаре (мл/га)

5000 матов/га Х 10 л раствора в каждом мате

= 50 000  $\pi/\Gamma$ а



Переводим литры в миллилитры (в одном литре 1000 мл).

**50 000 л/га**  $\times$  1000 мл/л =

 $50\ 000\ 000\ мл/га =$ **5 x10<sup>7</sup> мл/га** 

### Формула расчета титра клеток препарата в рабочей жидкости

Титр клеток препарата в рабочей жидкости = в мате (КОЕ/мл)

Гектарная доза препарата (суммарный титр клеток ДВ препарата, который вносится на 1 га), КОЕ/га

**Общий объем рабочей жидкости в матах** на 1 га мл/га

Гектарная доза препарата = титр клеток в препарате х норму внесения препарата на один га

## Расчет требуемого титра клеток грибов Trichoderma harzianum (препарат Трихоцин для салатных линий) в рабочей жидкости

Трихоцин, СП *Trichoderma harzianum*, штамм Г 30 ВИЗР, (титр не менее  $10^{10}$  КОЕ/г), норма расхода для салатных линий 30 г/500 м<sup>2</sup> или 600 г/га

$$600 \text{ г/га} \times 10^{10} \text{ КОЕ/г}$$
 =  $1,2 \times 10^{5} \text{ КОЕ/мл}$   $5 \times 10^{7} \text{ мл/га}$ 



### Титр живых клеток Алирин-Б

Алирин-Б,СП - 60 г, *Bacillus subtillis*, штамм В-10 ВИЗР (титр не менее  $10^{11}$  КОЕ/г)  $100\ 000\ 000\ 000\ x\ 60 = 60000000000000 = 6\ x10^{12}$ 

#### Внесение по листу:

 $60 \, \text{г/га} \, \text{x} \, 10^{11} \, \text{KOE/г} = 6 \, \text{x} \, 10^{12} \, \text{KOE/гa}$ 

#### Внесение в маты:

6 x 10<sup>12</sup> КОЕ/га

5 x 10<sup>7</sup> мл/га

 $= 1,2 \times 10^5 \, KOE/MЛ$ 



### Титр живых клеток Микозар

#### Микозар, СП

Bacillus subtilis, штамм B-10 BИЗР, (титр не менее  $5x10^{10}$  KOE/г) + Bacillus subtilis, штамм M-22 ВИЗР, (титр не менее  $5x10^{10}$  KOE/г) + Trichoderma harzianum, штамм 18-ВИЗР, (титр не менее  $5x10^{9}$  KOE/г)  $5x10^{10}$  KOE/г +  $5x10^{10}$  KOE/г +  $0,5x10^{10}$  KOE/г =  $10,5x10^{10}$  KOE/г

#### Внесение по листу:

200г/гах 10,5х  $10^{10}$ КОЕ/га = 2х  $10^{13}$  КОЕ/га

#### Внесение в маты:

 $\frac{200 \times 10,5 \times 10^{10} \text{ KOE/га}}{5 \times 10^{7} \text{мл/га}} = 4 \times 10^{5} \text{KOE/мл}$ 



## Ориентиры необходимых титров клеток и норм расхода в биофунгицидах

жидкие препаративные формы

титр клеток 10<sup>9</sup>–10<sup>10</sup> КОЕ/мл

нормы применения от 1 до 10 л/га

сухие препаративные формы

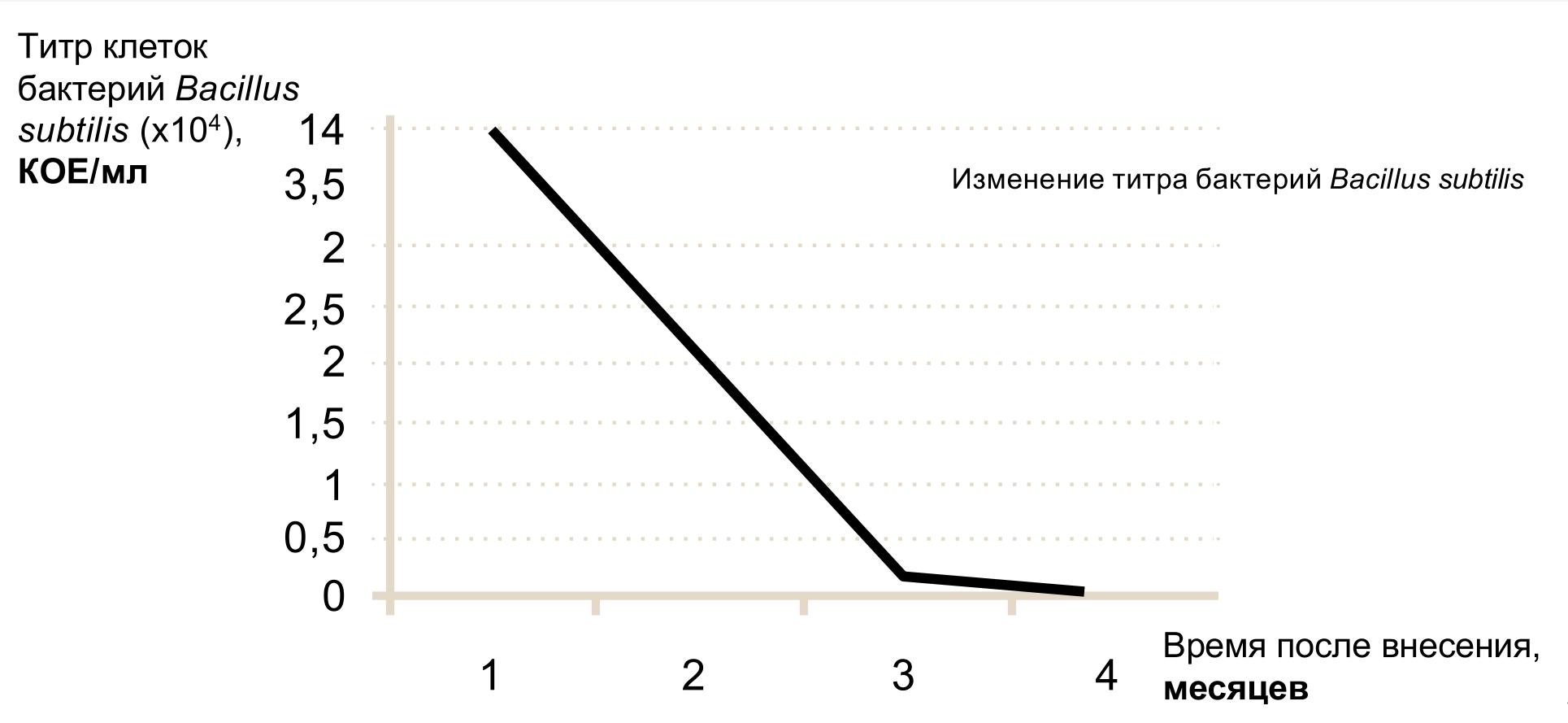
титр клеток 10<sup>10</sup>–10<sup>11</sup> КОЕ/г

нормы применения от 60 до 200 г/га

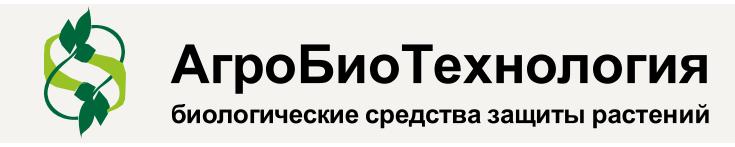
# Изменение титра (концентрации) клеток гриба *Trichoderma harzianum* в минеральном субстрате во время вегетации



## Изменение титра клеток бактерий Bacillus subtilis в минеральном субстрате в период вегетации



### Биоинсектициды



- **Эндобактерин, Ж** смесь трех штаммов *Bacillus thuringiensis*, титр не менее 10° КОЕ/мл + 10° КОЕ/мл + 10° КОЕ/мл, общий титр 3 х10° КОЕ/мл
- **Эндобактерин, СП** смесь трех штаммов *Bacillus thuringiensis*, титр не менее 5х10<sup>10</sup> КОЕ/г+5х10<sup>10</sup> КОЕ/г+ 5х10<sup>10</sup> КОЕ/г, **общий титр 1,5 х10<sup>11</sup> КОЕ/г**,
- **Боверин, Ж** *Beaveria bassiana*, титр не менее **10**<sup>9</sup> **КОЕ/мл**;
- **Вертициллин, Ж** *Akanthomyces muscarius*, титр не менее **10**° **КОЕ/мл**;
- Ловчий, СП Beauveria bassiana, Cordyceps farinosa, Akanthomyces muscarius, Metarhizium anisopliae, титр не менее 1,5 x10°КОЕ/г + 1,5 x10°КОЕ/г+1,5 x10°КОЕ, общий титр 6x10°КОЕ/г.

### Действующие вещества биоинсектицидов

### Ловчий, СП - конидиальные споры энтомопатогенных грибов

Конидиальные споры, вырастая в воздушной среде, имеют толстую защитную оболочку. Конидиальные споры дольше хранятся, лучше выживают на листьях и в почве и более эффективно поражают насекомых. Хранятся более 6 месяцев.

## Боверин, Ж и Вертициллин, Ж – <del>бластоспоры</del> энтомопатогенных грибов

Выращивают в глубинной среде. У бластоспор нежная тонкая оболочка. Расход бластоспор в 10 раз выше, чем у конидиальных спор, Бластоспор надо давать в избытке, т.к. они быстро гибнут. В растворе бластоспоры хранятся не более 2 недель, в сухом порошке до 2-3 месяцев. Требуется высокая влажность и оптимальные температуры

# Защитный микробиологический фон растений против насекомых вредителй на основе биологических инсектицидов

### Биоинсектициды

 $\geq 10^{12}\, {
m KOE/гa}$   $\geq 10^{13}\, {
m KOE/ra}$   $\leq 10^{13}\, {
m KOE/ra}$ 

20 конидиальных спор/мм<sup>2</sup> 200 бластоспор/мм<sup>2</sup>

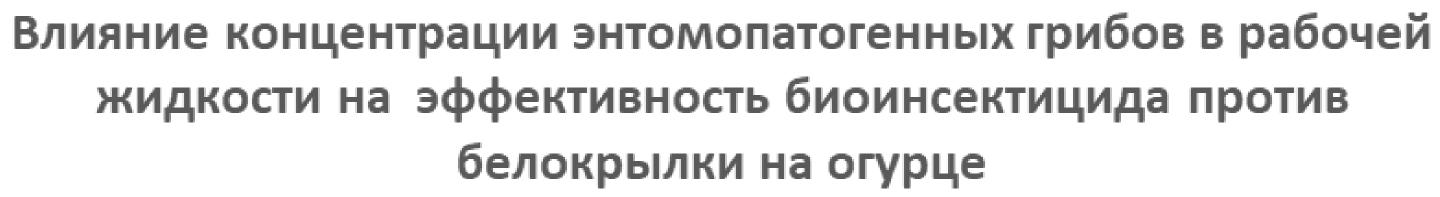
# Результаты обзора международных биоинсектицидов на основе энтомопатогенных грибов

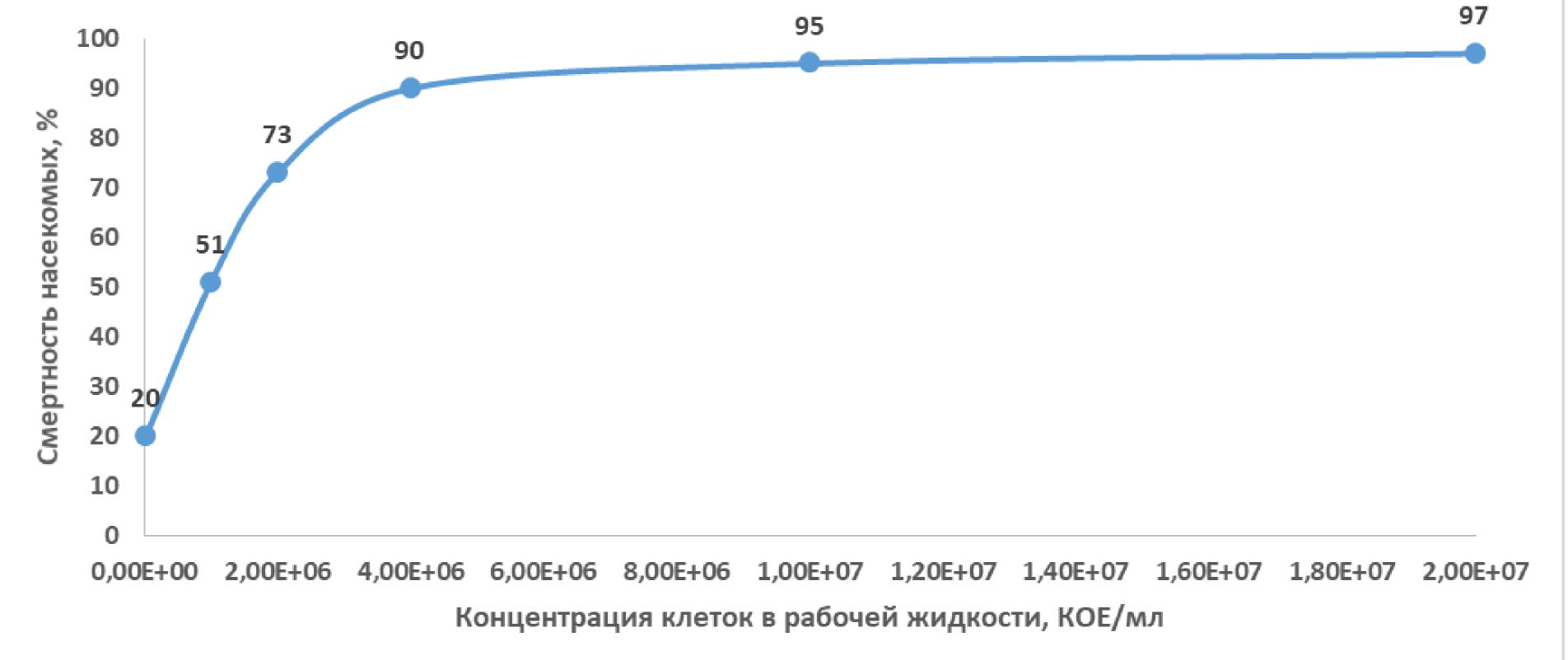
| Вредный<br>объект     | <b>Энтомопато- генные грибы</b> в биологических инсектицидах | Гектарная доза конидиальных спор энтомопатогенных грибов, КОЕ/га | Титр конидиальных спор<br>энтомопатогенных грибов в<br>1000 л рабочей жидкости,<br>КОЕ/мл |
|-----------------------|--|--|---|
| Белокрылки,<br>тли    | Beauveria<br>bassiana  | 2 x 10 <sup>12</sup>   | 2 x 10 <sup>6</sup>   |
| Белокрылки,<br>трипсы | Metarhizium<br>anisopliae                                    | 2 x 10 <sup>12</sup>   | 2 x 10 <sup>6</sup>   |

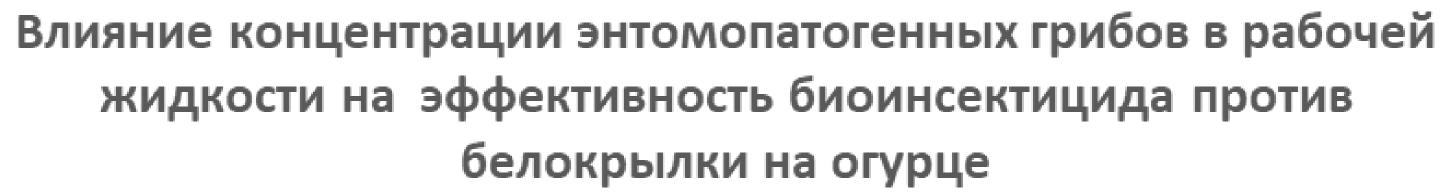
Мировые исследования по «Доза-эффект» показали, что для биологических инсектицидов на основе:

- конидиальных спор энтомопатогенных грибов гектарная доза должна быть более 10<sup>12</sup> КОЕ/га, титр рабочей жидкости должен быть от 10<sup>6</sup> КОЕ/мл при расходе 1000 л/га
- **бластоспор** энтомопатогенных грибов гектарная доза должна быть более **10**<sup>13</sup> **КОЕ/га**, титр рабочей жидкости должны быть **от 10**<sup>7</sup> **КОЕ/мл** при расходе 1000 л/га

Это подтверждается характеристиками препаратов, зарегистрированных в США, Канаде, Европе и Мексике.









## Расчеты на соответствие титров конидиоспор энтомопатогенных грибов Ловчий, СП нормам внесения

Beauveria bassiana, Cordyceps farinosa, Akanthomyces muscarius, Metarhizium anisopliae, (титр не менее 1,5 x10<sup>8</sup> КОЕ/г +1,5 x10<sup>8</sup> КОЕ/г + 1,5 x10<sup>8</sup> КОЕ/г)

#### Расчет общего титра Ловчий, СП:

 $1,5 \times 10^{8}$  KOE/ $\Gamma + 1,5 \times 10^{8}$  KOE/ $\Gamma + 1,5 \times 10^{8}$  KOE/ $\Gamma + 1,5 \times 10^{8}$  KOE/ $\Gamma = 6 \times 10^{8}$  KOE/ $\Gamma = 10^{8}$  KOE/ $\Gamma$ 

#### Внесение Ловчий, СП по листу:

3000-6000  $\Gamma/\Gamma = 1.8 - 3.6 \times 10^{12} \text{ KOE}/\Gamma = 1.8 - 3.6 \times 10^{12} \text{ KOE}/\Gamma = 1.8 \times 10^{12}$ 

### Превышает норму 10<sup>12</sup> КОЕ/га

## Расчеты на соответствие титров энтомопатогенных бактерий Эндобактерин, Ж и СП нормам внесения

**Эндобактерин, Ж.** В состав входят 3 штамма *Bacillus thuringiensis* разных серотипов, титр не менее  $10^9$  КОЕ/мл+  $10^9$  КОЕ/мл +  $10^9$  КОЕ/мл =  $3 \times 10^9$  КОЕ/мл

Внесение Эндобактерин, Ж по листу:

10 000-20 000 мл/га  $\times 3 \times 10^9$  КОЕ/мл =**3-6 \times 10^{13} КОЕ/га** 

**Эндобактерин, СП.** В состав входят 3 штамма *Bacillus thuringiensis* разных серотипов, титр не менее  $10^{10}$  КОЕ/г +  $10^{10}$  КОЕ/г +  $10^{10}$  КОЕ/г =  $3x10^{10}$  КОЕ/г

Внесение Эндобактерин, СП по листу:

500 - 1000 г/га x  $3 \times 10^{10}$  KOE/г = **1,5 - 3 x 10^{13} KOE/га** 

# Расчёт на соответствие титра энтомопатогенных грибов в бластоспорах Боверин, Ж в минеральном субстрате

**Боверин, Ж,** Beaveria bassiana, титр 2х10<sup>9</sup> КОЕ/мл. Норма применения 10 – 20 литров/га

**10 литров/га** = 10 000 мл/га

Титр препарата в мате:

$$\frac{10^4 \, \text{мл/л} \times 2 \text{x} 10^9 \, \text{KOE/га}}{5 \, \text{x} 10^7 \, \text{мл/га}} = 4 \, \text{x} 10^5 \, \text{KOE/мл}$$

Боверин, СП, Beaveria bassiana, титр 10<sup>10</sup> КОЕ/г. Норма применения 1 кг/га

Титр препарата в мате: 
$$\frac{10^3 \, \Gamma/\kappa \Gamma \times 10^{10} \, \text{KOE/га}}{5 \times 10^7 \, \text{мл/га}} = 2 \times 10^5 \, \text{KOE/мл}$$

## Ориентиры по титрам биоинсектицидов и нормам расхода

| сухие<br>препаративные<br>формы  | титр 108-109 КОЕ/г<br>нормы применения<br>от 1 до 10 кг/га               | конидиальные споры |
|----------------------------------|--|--------------------|
| жидкие<br>препаративные<br>формы | титр <b>10° КОЕ/мл</b> нормы применения от <b>10л/га</b>                 | бластоспоры        |
| сухие<br>препаративные<br>формы  | титр <b>10</b> 6 <b>КОЕ/г</b><br>нормы применения<br><b>от 100 кг/га</b> | бластоспоры        |

## ДЕНИС ОЛЕГОВИЧ МОРОЗОВ

### ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ДИРЕКТОР ООО «АгроБиоТехнология»

Тел.: +7 (495) 781-15-26

Моб.: +7 (916) 364-14-73

Email: director@bioprotection.ru

www.bioprotection.ru



bioprotection.ru