

**COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF *NOCARDIA VACCINII* IMV B-7405 SURFACE ACTIVE SUBSTANCES AND PHYTOLAVIN PREPARATION AS AGENTS FROM BACTHERIOSIS**

Kh. Berehova, I. Sydor, L. Nykytiuk, T. Pirog

National University of Food Technologies

**Key words:**

*Nocardia vaccinii* IMB B-7405  
*Phytolavin*  
*Surface-active substances*  
*Phytopathogenic bacteria*  
*Antimicrobial action*  
*Technical glycerol*

**Article history:**

Received 13.03.2018  
Received in revised form 28.03.2018  
Accepted 20.04.2018

**Corresponding author:**

Kh. Berehova  
**E-mail:**  
npnuht@ukr.net

**ABSTRACT**

In the article antimicrobial action of *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 surfactants on phytopathogenic bacteria *Pseudomonas*, *Pectobacterium* and *Xanthomonas* genera was studied and also cost of cultivation media for the culture liquid obtaining by *Streptomyces griseus* 420 (producer of streptomycin antibiotics — components of Phytolavin preparation) and *N.vaccinii* IMB B-7405, required for the treatment of rape crops to control number of phytopathogens was compared.

It was established that the minimum inhibitory concentrations of *N.vaccinii* IMB B-7405 surfactants on studied phytopathogenic bacteria *Pseudomonas*, *Pectobacterium* i *Xanthomonas* were 19—80 µg/ml, which are comparable to those of the known microbial surfactants.

Theoretical calculations have shown that costs of cultivation medium for obtaining *N.vaccinii* IMB B-7405 culture liquid, necessary for double processing of rape crops with an area 865.2 thousand hectares, is 5 438 UAH, while for obtaining Phytolavin preparation — 9 816 UAH. Using cheap industrial waste for biosynthesis *N.vaccinii* IMB B-7405 surfactants (a mixture of technical glycerol — waste from biodiesel and molasses — from sugar production) and possibility of their using as a culture liquid significantly reduces the cost of these preparations.

The ability of *N.vaccinii* IMB B-7405 surfactants to exhibit high antimicrobial activity (MIC 19—80 µg/ml) in relation to phytopathogenic bacteria makes it possible to consider them as promising preparations for use in crop production.

DOI: 10.24263/2225-2924-2018-24-2-5

**ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *NOCARDIA VACCINII* ІМВ B-7405 І ПРЕПАРАТУ ФІТОЛАВІН ЯК ЗАСОБІВ ВІД БАКТЕРІОЗІВ**

Х.А. Берегова, І.В. Сидор, Л.В. Никитюк, Т.П. Пирог

Національний університет харчових технологій

У статті досліджено антимікробну активність поверхнево-активних речовин (ПАР) *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 щодо фітопатогенних бактерій

родів *Pseudomonas*, *Pectobacterium* і *Xanthomonas* і порівняно вартість поживних середовищ для отримання культуральної рідини *Streptomyces griseus* 420 (продуцента стрептотрицинових антибіотиків — складових відомого препарату Фітолавін) та *N. vacciniі* ІМВ В-7405, необхідної для обробки посівів ріпаку з метою контролю чисельності фітопатогенів.

Встановлено, що мінімальні інгібуючі концентрації ПАР *N. vacciniі* ІМВ В-7405 щодо досліджуваних фітопатогенних бактерій *Pseudomonas*, *Pectobacterium* і *Xanthomonas* становили 19—80 мкг/мл, що є порівняним із встановленими для відомих у світі мікробних ПАР.

Теоретичні розрахунки показали, що витрати на приготування поживного середовища для отримання постферментаційної культуральної рідини *N. vacciniі* ІМВ В-7405, необхідної для двократної обробки посівів ріпаку площею 865,2 тис. га, становлять 5 438 грн, у той час як для одержання препарату Фітолавін — 9 816 грн. Використання дешевих промислових відходів для одержання ПАР *N. vacciniі* ІМВ В-7405 (суміші технічного гліцерину — відходу виробництва біодизелю та меляси — від цукрового виробництва) і можливість застосування їх у вигляді культуральної рідини суттєво знижує собівартість таких препаратів.

Здатність ПАР *N. vacciniі* ІМВ В-7405 проявляти високу антимікробну активність (МІК 19—80 мкг/мл) щодо фітопатогенних бактерій дає змогу розглядати їх як перспективні препарати для застосування у рослинництві.

**Ключові слова:** *Nocardia vacciniі* ІМВ В-7405, Фітолавін, поверхнево-активні речовини, фітопатогенні бактерії, антимікробна дія, технічний гліцерин.

**Постановка проблеми.** Гострою проблемою аграріїв України в останні роки стало поширення маловідомих бактеріозів, які донедавна знищували 2—5% урожаю. Відсоток уражених цими хворобами рослин значно зростає з кожним роком і може сягати до 50% втрат врожаю [1].

До основних стратегічних сільськогосподарських культур України належить ріпак, насіння якого містить 30—50 % олії виняткової калорійності та енерговіддачі, що в поєднанні з урожайністю (1 га посівів дає приблизно 1,1 т олії, що втричі більше, ніж соя, та вдвічі, ніж соняшник) вивело ріпак у лідери як сировину для одержання біодизелю. Передбачається, що частка біопалива у загальному виробництві рідкого палива у країнах ЄС до 2020 р. становитиме 20% [2]. Важливість ріпаку як енергетичної культури позначилася на площах, відведених під нього у світі. Так, у 1990 р. вони становили 18 235, а у 1994 збільшилися до 22 453 тис. га. Станом на 2014 р. тільки в Україні площі озимого ріпаку займали 865,2 тис. га. У травні—червні 2017 р. ціна на ріпак становила 5 300 грн/т [1].

Відомо, що бактеріоз коренів озимого ріпаку (збудники — бактерії родів *Xanthomonas* або *Pseudomonas*) є причиною зниження врожаю на 40—50%. Масштабне одержання біодизелю з ріпакової олії в Україні можливе за умови залучення інвестицій у будівництво переробних потужностей, необхідних для утилізації гліцеринової фракції — відходів виробництва цього виду біопали-

ва, а також формування гарантованого сировинного забезпечення, що передбачає досягнення стабільності врожаю та збільшення площі посіву ріпаку.

Однією з причин несвоєчасного виявлення бактеріозів є схожість симптоматики цих хвороб з нестачею поживних елементів [3]. Для боротьби з бактеріозами сільськогосподарських культур використовують агротехнічні, фізико-механічні і хімічні методи. Останні, хоча й ефективні, проте негативно впливають на довкілля і спричиняють виникнення резистентних форм бактерій. Розповсюдженню бактеріальних хвороб сільськогосподарських культур певною мірою сприяє застосування фунгіцидів і пестицидів (протруйників, інсектофунгіцидів, гербіцидів), які не діють на фітопатогенні бактерії та є екологічно небезпечними.

Враховуючи щорічні втрати врожаю в Україні через бактеріози, а також необхідність використання недорогих та екологічно безпечних препаратів, які будуть ефективними щодо фітопатогенних бактерій, актуальною є розробка нових методів біологічного контролю бактеріозів сільськогосподарських культур.

Особливу увагу науковців як антимікробні агенти привертають поверхнево-активні речовини (ПАР) мікробного походження завдяки нетоксичності, стабільності у широкому діапазоні рН та температур порівняно із синтетичними аналогами [4]. Виробництво мікробних ПАР у світі стримується високою вартістю біосинтезу, виділення та очищення цільового продукту [5]. Тому актуальними є дослідження, спрямовані на здешевлення процесу одержання мікробних ПАР.

Раніше на кафедрі біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій із забруднених нафтою зразків ґрунту було виділено нафтоокислювальні бактерії, ідентифіковані як *Nocardia vaccinii* К-8. Штам К-8 було депоновано у Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного Національної академії наук України за номером ІМВ В-7405. Встановлено здатність *N.vaccinii* ІМВ В-7405 до синтезу ПАР на різних субстратах, в тому числі й промислових відходах, розроблено шляхи інтенсифікації синтезу ПАР та досліджено деякі їхні біологічні властивості [6; 7].

**Мета статті** дослідити антимікробну дію ПАР *N.vaccinii* ІМВ В-7405 на фітопатогенні бактерії родів *Pseudomonas*, *Pectobacterium* і *Xanthomonas* і порівняти вартість поживних середовищ для отримання культуральної рідини *Streptomyces griseus* 420 (продуцент стрептотрицинових антибіотиків — складових відомого препарату Фітолавін) та *N. vaccinii* ІМВ В-7405, необхідної для обробки посівів ріпаку з метою контролю чисельності фітопатогенів.

**Матеріали і методи.** *N.vaccinii* ІМВ В-7405 вирощували в рідкому мінеральному середовищі такого складу (г/л):  $\text{NaNO}_3$  — 0,5;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  — 0,1;  $\text{CaCl} \times 2 \text{H}_2\text{O}$  — 0,1;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 0,1;  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  — 0,001, дріжджовий автолізат — 0,5% (об'ємна частка). Як джерело вуглецю використовували суміш промислових відходів (8% технічного гліцерину та 1% меляси). Як посівний матеріал використовували культуру в експоненційній фазі, вирощену на суміші 0,25% технічного гліцерину і 0,25% меляси. Кількість інокуляту ( $10^4$ — $10^5$  кл/мл) становила 10% від об'єму середовища. Культивування *N.vaccinii*

ІМВ В-7405 здійснювали в колбах об'ємом 750 мл із 100 мл середовища на качалці (320 об/хв) при 30°C упродовж 120 год. У дослідженнях використовували поверхнево-активні речовини у вигляді розчину ПАР, екстрагованих з супернатанту сумішшю Фолча (хлороформ і метанол, 2:1) як описано у наших попередніх працях [6; 7].

У дослідженні використовували фітопатогенні бактерії з Української колекції мікроорганізмів: *Pectobacterium carotovorum* УКМ В—1095, *Pseudomonas syringae* pv. *atropaciens* УКМ В—1015, *Pseudomonas syringae* pv. *coronafaciens* —УКМ В-1154, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* УКМ В-1049. Об'єктами дослідження були також фітопатогенні бактерії з колекції відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ *Pseudomonas corrugata* 9070, *Xanthomonas vesicatoria* 7790. Штами фітопатогенних бактерій були люб'язно надані співробітниками відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ.

Визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) здійснювали методом двократних серійних розведень у м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) як описано у [8]. У стерильних умовах у 10 пробірок вносили по 1 мл середовища, у першу додавали 1 мл розчину ПАР (препарат 2) певної концентрації, після чого перемішували, відбирали 1 мл і переносили у наступну пробірку. Аналогічно проводили розведення для інших дев'яти пробірок. З останньої пробірки відбирали 1 мл. Кінцевий об'єм у кожній пробірці становив 1 мл (МПБ і розчин ПАР), а концентрація ПАР у кожній наступній пробірці знижувалася у 2 рази. Як контроль використовували 1 мл МПБ без додавання розчину ПАР. Далі у кожному з пробірок вносили по 0,1 мл суспензії тест-культур ( $10^5$ — $10^6$  КУО/см<sup>3</sup>) та перемішували. Пробірки інкубували впродовж 24 год при 28—30°C.

Результати оцінювали візуально за помутнінням середовища: (+) — пробірки, в яких спостерігали помутніння (ріст тест-культури), (–) — помутніння не було (ріст відсутній). Мінімальну інгібуючу концентрацію розчину ПАР визначали як концентрацію ПАР в першій пробірці, де ріст був відсутній.

З метою оцінки ефективності застосування ПАР *N.vaccinii* ІМВ В-7405 для контролю чисельності збудників хвороб ріпаку здійснювали порівняння витрат на приготування поживних середовищ для отримання культуральної рідини штаму ІМВ В-7405 і *Streptomyces griseus* 420 (продуцент стрептотрицинових антибіотиків — складових відомого препарату Фітолавін), необхідної для обробки певної площі посівів ріпаку.

Усі досліді проводили в трьох повторях, кількість паралельних визначень в експериментах становило від 3 до 5. Статистичну обробку експериментальних даних проводили, як описано раніше [6; 7]. Відмінності середніх показників вважали достовірними при рівні значущості  $p < 0,05$ .

**Результати і обговорення.** У табл. 1 наведено мінімальні інгібуючі концентрації ПАР *N.vaccinii* ІМВ В-7405 щодо фітопатогенних бактерій родів *Pseudomonas*, *Pectobacterium* і *Xanthomonas*. Які засвідчують дані табл. 1, цим поверхнево-активним речовинам притаманна висока антимікробна активність щодо збудників бактеріозів сільськогосподарських культур [7], завдяки чому

вони є перспективними для застосування у рослинництві з метою контролю чисельності фітопатогенних бактерій. Так, МІК ПАР *N.vaccinii* ІМВ В-7405 щодо представників родів *Pseudomonas*, *Pectobacterium* і *Xanthomonas* становить 19—80 мкг/мл (табл. 1).

Зазначимо, що у літературі є лише окремі праці, в яких автори визначали МІК мікробних ПАР щодо фітопатогенних бактерій. Мінімальна інгібуюча концентрація сурфактину, синтезованого *B. subtilis* 6051, щодо бактерій *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 становила 25 мкг/мл. Значення МІК рамноліпідів щодо *Fusarium solani*, *Penicillium funiculosum*, *Alternaria* становила 16—75 мкг/мл, МІК софороліпідів щодо *Glomerella cingulata* — 50 мкг/мл (цит. за [7]). Рамноліпідам *P. aeruginosa* АТ110, були притаманні фунгіцидні властивості щодо *Aspergillus niger* та *Gliocadium virens* (16 мкг/мл); *Chaetonium globosum*, *Penicillium crysogenum* і *Aureobasidium pullulans* (32 мкг/мл), *Botrytis cinerea* і *Fusarium solani* (18 мкг/мл) (цит. за [7]).

**Таблиця 1. Антимікробна активність ПАР *N.vaccinii* ІМВ В-7405 щодо фітопатогенних бактерій**

Фітопатогенні бактерії	Хвороби сільськогосподарських рослин	МІК, мкг/мл
<i>P. syringae</i> pv. <i>coronafaciens</i> УКМ В-1154	Збудник ореольного (бурого) бактеріозу сільськогосподарських культур	21
<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> УКМ В-1015	Збудник базального бактеріозу зернових	80
<i>P. corrugata</i> 9070	Викликає некроз серцевини стеблин ріпаку, томатів, перцю	38
<i>P. carotovorum</i> УКМ В-1095	Поліфаг, збудник м'якої гнилі соняшнику, слизового бактеріозу капусти та стеблової гнилі кукурудзи та ріпаку	75
<i>X. vesicatoria</i> 7790	Збудник чорної бактеріальної плямистості капусти, томатів і деяких сільськогосподарських технічних культур (ріпак, соняшник, соя, жито)	21
<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i> УКМ В-1049	Збудник чорної гнилі капусти, бактеріального некрозу соняшнику та бактеріального опіку ріпаку	19

На теперішній час у сільському господарстві основна увага приділяється біологічним методам захисту рослин. Упродовж останніх 20 років в Україні використовують різноманітні за біологічною дією препарати з комерційними назвами Планриз БТ, Псевдобактерин-2, Спорофіт (ФітоДоктор), Бактофіт, Бізар, Поліміксобактерин, Фітоцид.

Проте засобів для боротьби саме з бактеріозами сільськогосподарських рослин є не так багато: одним із таких препаратів є Фітолавін, який діє на збудників бактеріозу *Erwinia carotovora*, *P. syringae* pv. *syringae*, *Clavibacter michiganensis*, *Ralstonia solanacearum*, *Agrobacterium tumefaciens*, *X. campestris*, *P. syringae* pv. *Atrofaciens* [9]. Препарат розроблений на основі культуральної рідини *S.griseus* 420, який є продуцентом стрептотрицинових анти-

біотиків. Для отримання препарату штам 420 культивують на вуглеводмісному поживному середовищі з подальшим вакуум-упарюванням культуральної рідини до 10% сухих речовин і висушуванням на розпилювальній сушарці.

Станом на листопад 2014 р. в Україні вироблено 2,2 млн т насіння ріпаку, площі посівів становили 865,2 тис. га (дані Державної служби статистики [10]).

Згідно з Інструкцією використання біопрепарату Фітолавін пропонується двократна обробка (передпосівна обробка насіння та обприскування від початку фази кущення до фази виходу у трубку) з нормою витрат 2 л/т/або га насіння та рослин відповідно.

Отже, для обробки 1 га полів, засіяних ріпаком, необхідно 2 л препарату Фітолавін, з якого готують 0,2% робочий розчин, розбавляючи 2 л Фітолавіну у 1 000 л води [11]. Для обробки 865,2 тис. га необхідно  $865\,200 \cdot 2 = 1\,730\,400$  л робочого розчину Фітолавіну. Для приготування такої кількості робочого розчину потрібно  $1\,730\,400 / 1\,000 = 1\,730,4$  л препарату Фітолавін.

Далі розраховуємо кількість г діючої речовини (антибіотиків) в 1 730,4 л препарату Фітолавін, необхідної для обробки 865,2 тис. га ріпаку. У препараті Фітолавін міститься 32 г/л стрептотрицинових антибіотиків. Отже, для обробки посівів ріпаку необхідно  $1\,730,4 \cdot 32 / 1 = 55\,372,8$  г антибіотиків.

Концентрація антибіотиків стрептотрицинів у культуральній рідині *S. griseus* 420 становить 10 г/л [12]. Отже, для обробки 865 200 га посівів ріпаку потрібно  $55\,372,8 / 10 = 5\,537,28$  л культуральної рідини. Враховуючи, що обробку ріпаку проводять двічі, то необхідна кількість культуральної рідини становитиме  $5\,537,28 \cdot 2 = 11\,074,6$  л. Отже, для двократної обробки 865 200 га посівів ріпаку необхідно одержати 11 100 л культуральної рідини *S. griseus* 420.

Далі розрахуємо необхідну кількість культуральної рідини *N.vaccinii* ІМВ В-7405 для обробки такої самої площі посівів ріпаку. Як засвідчують дані, наведені у табл. 1, для контролю чисельності фітопатогенів ефективною є концентрація ПАР 19—80 мкг/мл (0,019—0,08 г/л). Для розрахунків беремо середнє значення ефективної концентрації ПАР, що становить 0,05 г/л.

Для обробки 1 га полів, засіяних ріпаком, необхідно 2 л розбавленої культуральної рідини (аналогічно препарату Фітолавін) з концентрацією ПАР 0,05 г/л, або 0,1 г ПАР. Для обробки 865 200 га потрібно  $865\,200 \cdot 0,1 = 86\,520$  г ПАР. Концентрація ПАР, синтезованих за умов росту *N.vaccinii* ІМВ В-7405 на суміші технічного гліцерину і меляси, становить 13 г/л ПАР. Отже, для одержання 86 520 г ПАР необхідно  $86\,520 / 13 = 6\,655,4$  л культуральної рідини. Для двократної обробки посівів ріпаку потрібно  $6\,655,4 \cdot 2 = 13\,310,8$  л, або 13 400 л культуральної рідини *N.vaccinii* ІМВ В-740.

Розрахуємо вартість 1 л поживного середовища для культивування штаму *S. griseus* 420 і *N.vaccinii* ІМВ В-7405 (табл. 2). Отже, вартість 1 л поживного середовища для культивування *N.vaccinii* ІМВ В-7405 у 2,2 раза нижча, ніж середовища для вирощування *S. griseus* 420. Витрати на одержання 11 100 л поживного середовища для вирощування *S. griseus* 420 становлять  $11\,100 \times 0,8843 = 9\,816$  грн, а на приготування 13 400 л середовища для вирощування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 –  $13\,400 \cdot 4\,058 = 5\,438$  грн.

Таблиця 2. Склад і вартість поживного середовища для культивування *S.griseus* 420 і *N.vaccinii* ІМВ В-7405

Продуцент	Компоненти поживного середовища	Вміст компонентів, кг/л	Ціна, грн/кг	Вартість компонентів, грн	Загальна вартість 1 л поживного середовища, грн
<i>S. griseus</i> 420	Кукурудзяна мука	0,04	10,42	0,4168	0,8843
	Меяса	0,018	3,2	0,0576	
	Лізін	0,0005	240	0,12	
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,0003	72	0,0216	
	NaCl	0,002	10,4	0,0208	
	MgSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O	0,0005	25	0,0125	
	CaCO <sub>3</sub>	0,005	30	0,15	
	Пропінол	0,001	85	0,085	
<i>N.vaccinii</i> ІМВ В-7405	Технічний гліцерин	0,1008	2	0,2016	0,4058
	Меяса	0,028	3,2	0,0896	
	NaNO <sub>3</sub>	0,001	35	0,035	
	MgSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O	0,0001	25	0,0025	
	CaCl <sub>2</sub> × 2H <sub>2</sub> O	0,0001	55	0,0055	
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,0001	72	0,0072	
	FeSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O	0,00001	40	0,0004	
	Дріжджовий екстракт	0,00025	256	0,064	

**Примітка:** Ціна компонентів поживних середовищ вказана станом на 2016 рік.

Отже, теоретичні розрахунки витрат на приготування поживних середовищ для отримання культуральної рідини штаму *S. griseus* 420 і *N.vaccinii* ІМВ В-7405, необхідної для обробки посівів ріпаку з метою контролю чисельності фітопатогенних бактерій, засвідчили вищу ефективність препаратів ПАР штаму ІМВ В-7405.

### Висновок

Неконтрольоване використання антибіотиків, у тому числі й препарату Фітолавін, у сільському господарстві призводить до виникнення резистентних форм мікроорганізмів. Механізм антимікробної активності поверхнево-активних речовин, на відміну від антибіотиків, унеможливує виникнення стійких до них бактерій. Висока антимікробна активність ПАР *N.vaccinii* ІМВ В-7405 (МІК 19—80 мкг/мл) щодо фітопатогенних бактерій дає змогу розглядати їх як перспективні для застосування у рослинництві.

### Література

1. Чехов С.А. Ринок ріпаку в Україні. Продуктивність агропромислового виробництва. Економічні науки. — 2015. — № 27. — С. 77—83 [Електронний ресурс]. — Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Pav\\_2015\\_27\\_13](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Pav_2015_27_13).
2. Rivas Casado M., Mead A., Burgess P.J., Howard D.C., Butler S.J. Predicting the impacts of bioenergy production on farmland birds. *Sci Total Environ.* 2014, P. 7—19. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.12.080.

3. Гвоздяк П.І. Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби рослин : Монографія / П.І. Гвоздяк, Л.А. Пасічник, Л.М. Яковлева та ін. — Київ : ТОВ «НВП Інтерсервіс», 2011. — 444 с.
4. *Díaz De Rienzo M. A., Banat I. M., Dolman B.* Sophorolipid biosurfactants: possible uses as antibacterial and antibiofilm agent. *N.biotechnol.* 2015, 32 (6), P. 720—726.
5. *Rivas Casado M., Mead A., Burgess P.J., Howard D.C., Butler S.J.* Predicting the impacts of bioenergy production on farmland birds. *Sci. Total. Environ.* 2014, P. 7—19. doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.12.080. Epub 2014 Jan 21. PubMed PMID: 24463022.
6. *Pirog T.P., Konon A.D., Beregovaya K. A., Shulyakova M.A.* Antiadhesive properties of the surfactants of *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017, and *Nocardia vaccinii* IMB B-7405. *Microbiology.* 2014, 83 (6), P. 732—739.
7. *Pirog T.P., Konon A.D., Sofilkanich A.P., Iutinskaia G.A.* Effect of surface-active substances of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017, and *Nocardia vaccinii* K-8 on phytopathogenic bacteria. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2013, 49(4), 360—367. doi:10.1134/S000368381304011X.
8. *Mazzola P. G., Jozala A. F., de L. Novaes L.C.* Minimal inhibitory concentration (mic) determination of disinfectant and/or sterilizing agents. *Brazilian J. Pharm. Sci.* 2009, 45 (2), P. 241—248.
9. Пат. 2144292 Российская Федерация, МПК 7 А 01 N 63/04. Способ получения препарата для борьбы с болезнями растений / Мосин В.А., Дриняев В.А., Кругляк Е.Б., Котова Г.Л., Суставова С.И., Сафонов В.С. Опубл. 20.01.2000.
10. Публікація документів державної служби статистики України [Електронний ресурс]. — Режим доступу : [www.ukrstat.gov.ua](http://www.ukrstat.gov.ua) (дата звернення 12.01.2016). — Назва з екрана.
11. Пат. 2409951 Российская Федерация, МПК 7 А 01 N 63/04. — Средство для защиты растений / Борисова И.П., Будынков Н.И., Кругляк Е.Б., Тибаева В.Н., Тихомирова О.И. Опубл. 20.01.2000.
12. Пат. 2144292 Российская Федерация, МПК 7 А 01 N 63/04. Способ получения препарата для борьбы с болезнями растений / Мосин В.А., Дриняев В.А., Кругляк Е.Б., Котова Г.Л., Суставова С.И., Сафонов В.С. Опубл. 20.01.2000.