

НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛИ И НЕИОНОГЕННЫЕ ПАВ – ПРИЛИПАТЕЛИ И СМАЧИВАТЕЛИ ДЛЯ СОВМЕШНОГО ПРИМЕНЕНИЯ С НОВЫМИ БИОПРЕПАРАТАМИ

Хомяк А.И., Жевнова Н.А., канд. биол. наук, Асатурова А.М., канд. биол. наук

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный научный центр биологической защиты растений»,
Российская Федерация, г. Краснодар*

Аннотация. В работе изучено влияние низкомолекулярных полиэтиленгликолей (ПЭГ) и неионогенных поверхностно-активных веществ (ПАВ) на совместимость, количество жизнеспособных клеток и антифунгальную активность штаммов *Bacillus velezensis* BZR 336g и BZR 517. Исследования проводили на тест-культуре фитопатогена *Fusarium graminearum*. Большинство исследуемых адъювантов не оказывают ингибирующего действия на штаммы и могут быть использованы в составе биологических препаратов. Однако отдельные вещества (ПЭГ-200, Твин-60, Глицерет-26, Глицерет-12) снижали антифунгальную активность, особенно на поздних сроках инкубации. Штамм BZR 517 демонстрировал более высокую и стабильную антифунгальную активность по сравнению с BZR 336g. Наиболее оптимальными для штамма BZR 336g признаны ПЭГ-300, ПЭГ-400 и Лаурет-2, для штамма BZR 517 – ПЭГ-200, ПЭГ-400, Твин-80, Твин-60, что делает их перспективными прилипателями для микробных фунгицидов.

Ключевые слова: биопрепарат, прилипатель, *Bacillus velezensis*, антифунгальная активность, совместимость.

LOW MOLECULAR WEIGHT POLYETHYLENE GLYCOLS AND NON-IONOGENIC SURFACTANTS – ADHESIVES AND WETTING AGENTS FOR COMBINED USE WITH NEW BIOLOGICAL PRODUCTS

Номыак А.И., Zhevnova N.A., PhD in Biology, Asaturova A.M., PhD in Biology

Federal State Budgetary Scientific Institution «Federal Research Center of Biological Plant Protection», Russian Federation, Krasnodar

Abstract. The study investigated the effect of low molecular weight polyethylene glycols (PEG) and nonionic surfactants (surfactants) on the compatibility, number of viable cells, and antifungal activity of *Bacillus velezensis* strains BZR 336g and BZR 517. The studies were conducted on a test culture of the phytopathogen *Fusarium graminearum*. Most of the adjuvants studied do not have an inhibitory effect on the strains and can be used in biological preparations. However, certain substances (PEG-200, Tween-60, Glycereth-26, Glycereth-12) reduced antifungal activity, especially in the later stages of incubation. The BZR 517 strain demonstrated higher and more stable antifungal activity compared to BZR 336g. PEG-300, PEG-400, and Laureth-2 were found to be the most optimal for strain BZR 336g, while PEG-200, PEG-400, Tween-80, and Tween-60 were found to be the most optimal for strain BZR 517, making them promising adhesives for microbial fungicides.

Keywords: biological product, adhesive, *Bacillus velezensis*, antifungal activity, compatibility.

На современном рынке представлено множество решений и продуктов для обеспечения качества применения, снижения потерь и повышения эффек-

тивности биопрепаратов для защиты растений. Микроорганизмы обладают сильной гидрофобностью и образуют крупные частицы в растворах, что затрудняет использование биопрепаратов [1]. Ассортимент адьювантов, доступных на рынке, обширен и включает в себя, в основном, минеральные и/или растительные масла, силиконы, поверхностно-активные вещества, эмульгаторы, органические смолы, ЭДТА и эфирные масла и т.д. [2]. Вспомогательные вещества, такие как масла, могут быть альтернативой для лучшего проникновения в листья, в то время как поверхностно-активные вещества уменьшают испарение, а выбор форсунки помогает получать более подходящий размер капель [3].

Поскольку активными ингредиентами микробных биопрепаратов являются микроорганизмы, следует учитывать влияние адьювантов на их выживаемость и биологическую активность. Поэтому, цель исследований - подбор низкомолекулярных полиэтиленгликолей и неионогенных ПАВ в качестве прилипателей, совместимых с жидкими культурами (ЖК) штаммов *B. velezensis* BZR 336g и *B. velezensis* BZR 517, перспективных для разработки биологических препаратов.

Объектами исследований служили штаммы *Bacillus velezensis* BZR 336g и *B. velezensis* BZR 517 биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» (<https://fncbzs.ru/brk-i-unu/unique-installation-1/>). В качестве фитопатогена использована тест-культура гриба *Fusarium graminearum* Schwabe BZR F-4. В качестве прилипателей были протестированы низкомолекулярные полиэтиленгликоли (ПЭГи): ПЭГ-200, ПЭГ-300, ПЭГ-400, и неионогенные поверхностно-активные вещества (ПАВы): Твин-60, Твин-80, лаурет-2, глицерет-12, глицерет-26, ПЭГ-36 касторовое масло (КМ). Стандарт – штаммы BZR 336g и BZR 517 в форме жидкой культуры (ЖК) без добавления прилипателей.

Исследования проводили на базе лаборатории микробиологической защиты растений ФГБНУ ФНЦБЗР с использованием материально-технической базы УНУ «Технологическая линия для получения микробиологических средств защиты растений нового поколения» (<https://fncbzs.ru/brk-i-unu/unique-installation-2/>).

Совместимость штаммов BZR 336g и BZR 517 с исследуемыми веществами определяли модифицированным методом диффузии в агар [4]. ЖК штаммов BZR 336g и BZR 517 получали методом периодического культивирования в конических колбах (350 мл) с объемом питательной среды 100 мл и предварительным внесением посевной (маточной) культуры (2.0 % от объема питательной среды). Инкубацию осуществляли в термостатированных системах культивации клеток New Brunswick Scientific Excella E25 (США) в течение 48 ч. при 180 об./мин [5].

Для определения влияния исследуемых веществ на количество колониеобразующих единиц (КОЕ) и антифунгальную активность, их смешивали с ЖК штаммов BZR 336g и BZR 517 смешивали в соотношении, рекомендованном производителем.

КОЕ определяли методом последовательных разведений Коха [6]. Исследование антифунгальной активности проводили методом двойных (встречных) культур [5]. Антифунгальную активность определяли по формуле [7]:

$$И = (1 - (A / B)) \times 100$$

где, И – ингибирование роста мицелия патогена, %;

А – рост гриба в варианте, мм;

В – рост гриба в контроле, мм.

Повторность во всех опытах трехкратная. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием многогранового теста Дункана многофакторного дисперсионного анализа в среде программы STATISTICA 13.2.

В результате проведенных обнаружено в большинстве случаев отсутствие ингибирующего действия со стороны исследуемых низкомолекулярных полиэтиленгликолей и неионогенных ПАВ, что говорит о возможности их совместного применения и использования в дальнейшей работе. Отмечено незначительное ингибирование штамма BZR 517 в смеси с Глицерет-12 и BZR 336g в смеси с Твин 60, более выраженное чистом виде и менее выраженное в 50 % концентрации. Также отмечена зона ингибирования при использовании в 50 % концентрации Твин-80 в отношении обоих штаммов (рисунок 1).

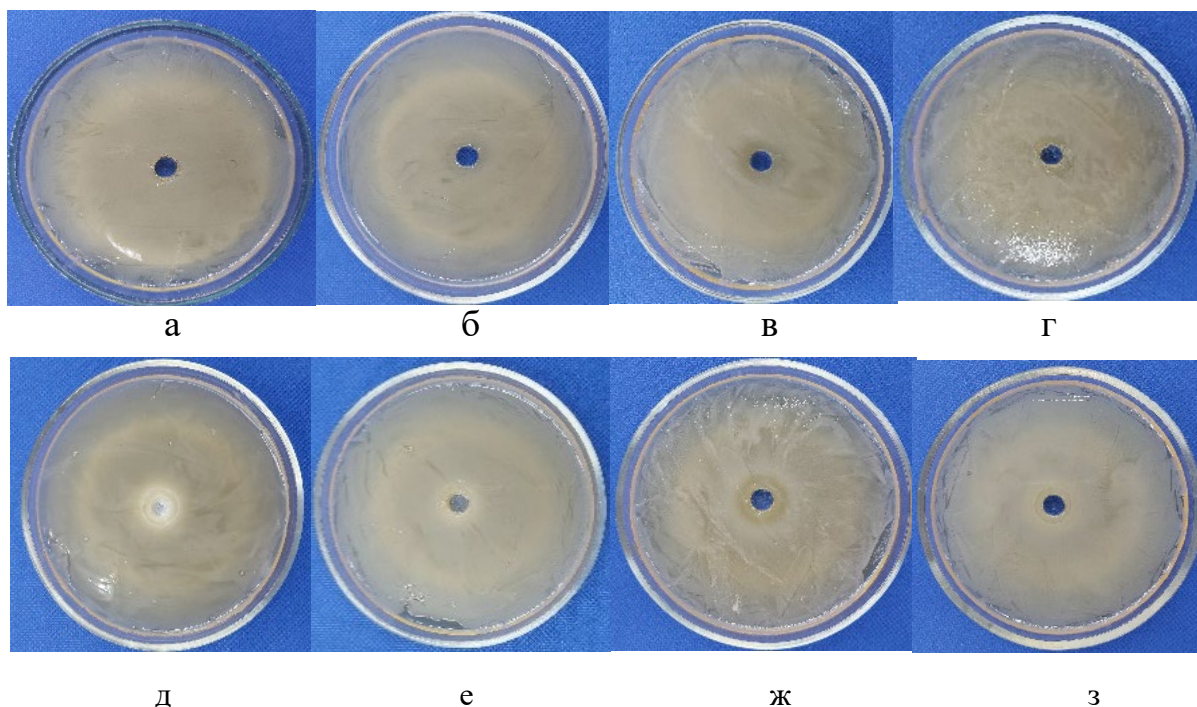


Рисунок 1. Совместное культивирование низкомолекулярных полиэтиленгликолей и неионогенных ПАВ со штаммами BZR 336g и BZR 517:

а - BZR 336 g – контроль; б - BZR 517 – контроль; в - BZR 517 + Глицерет-12; г - BZR 517+ Глицерет-12, 50 %; д- BZR 336g + Твин 60; е - BZR 336g + Твин 60, 50 %; ж - BZR 517 + Твин 80, 50 %; з - BZR 336 g + Твин 80, 50 %

Далее исследуемые вещества были протестированы на предмет влияния на количество колониобразующих единиц (КОЕ) и антифунгальную активность штаммов (рисунок 2-4).

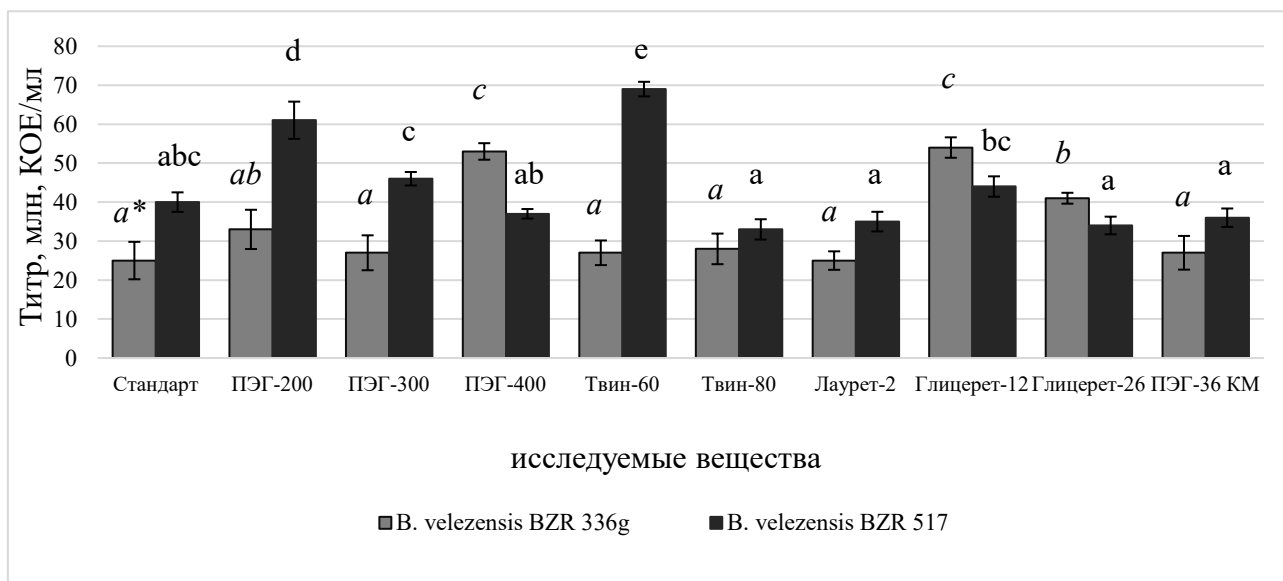


Рисунок 2. Влияние низкомолекулярных полиэтиленгликолей и неионогенных ПАВ на количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в одном мл ЖК штаммов *B. velezensis* BZR 336g и *B. velezensis* BZR 517

* между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами одинаковыми начертаниями, при сравнении в пределах столбцов нет статистически достоверных различий по критерию Дункана при 95%-м уровне вероятности

Отмечено, что для штамма BZR 336g данные, полученные в варианте с применением прилипателей ПЭГ-400, глицерет-12 и глицерет-26, статистически значимо отличались от стандарта без добавления прилипателей. В остальных вариантах не было отмечено статистически значимых различий в сравнении со стандартом без добавления прилипателей. Для штамма BZR 517, титр клеток, статистически достоверно превышающий стандарт, отмечен в вариантах с применением ПЭГ-200 и Твин-60.

Установлено, что исследуемые вещества способны снижать антифунгальную активность штаммов *B. velezensis* BZR 336g и *B. velezensis* BZR 517. Так, на протяжении всего периода инкубации антифунгальная активность в отношении *F. graminearum* BZR F-4 в варианте с применением ПЭГ-200 ниже, чем в стандарте. Кроме того, достоверные снижения антифунгальной активности к двадцатым суткам инкубации отмечены для вариантов с применением Твин-60, Глицерет-26 и ПЭГ-36 КМ. Твин-80, Лаурет-2 и Глицерет-12 показали способность к увеличению антифунгальной активности штамма *B. velezensis* BZR 336g в течение всего периода инкубации. Штамм BZR 517 демонстрировал в целом более высокую и стабильную антифунгальную активность по сравнению с BZR 336g. Наибольшее снижение активности по сравнению с контролем отмечено в варианте Глицерет-12. Снижение активности к 20-м суткам отмечено и в вариантах с ПЭГ-300 и ПЭГ-36 КМ.

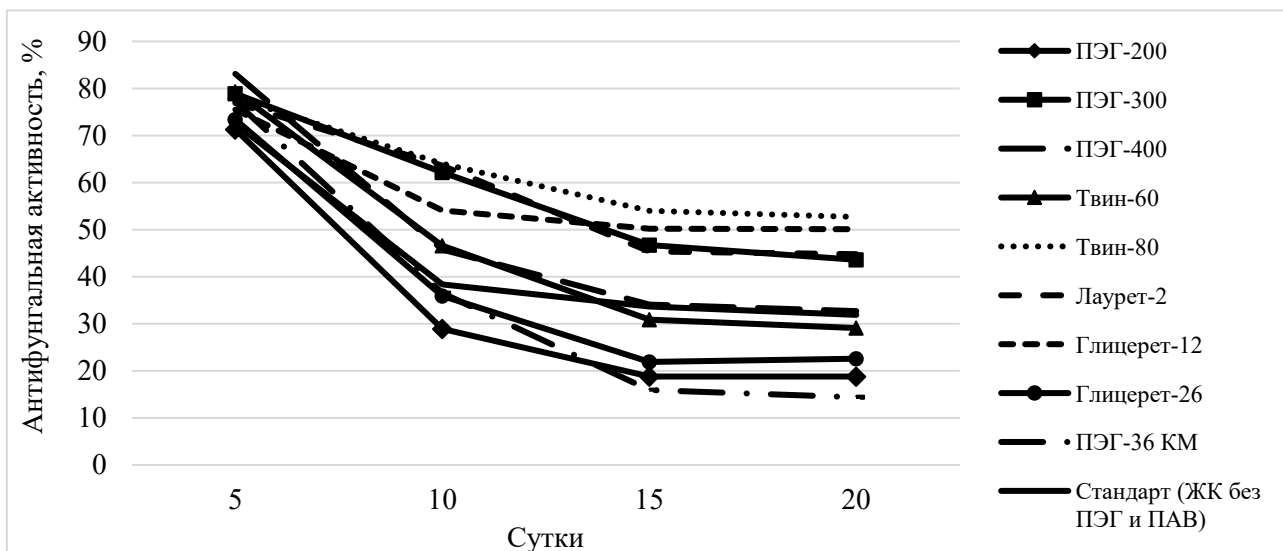


Рисунок 3. Антифунгальная активность штамма *B. velezensis* BZR 336g в смеси с низкомолекулярными ПЭГ и неионогенными ПАВ в отношении *F. graminearum* BZR F-4

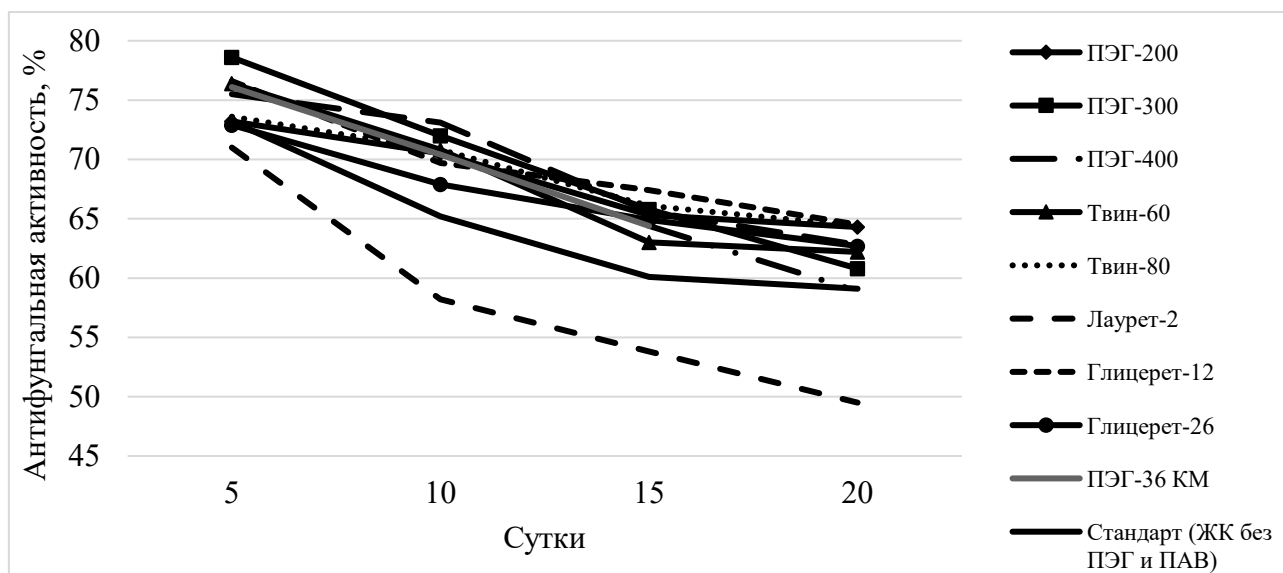


Рисунок 4. Антифунгальная активность штамма *B. velezensis* BZR 517 в смеси с низкомолекулярными ПЭГ и неионогенными ПАВ в отношении *F. graminearum* BZR F-4

Таким образом, подобраны оптимальные прилипатели для совместного применения с биопрепаратами на основе штаммов *B. velezensis* BZR 336g и *B. velezensis* BZR 517.

Исследования выполнены согласно Государственному заданию Министерства науки и высшего образования РФ в рамках НИР по теме № FGRN-2025-0003.

Литература

1. Lin F., Mao Y., Zhao F. Towards sustainable green adjuvants for microbial pesticides: Recent progress, upcoming challenges, and future perspectives // *Microorganisms*. 2023. № 11. P. 364.
2. Овсянникова В.С., Щербакова А.Г. Влияние глубоких эвтектических растворителей и композиций на их основе на пластовую микрофлору и биодеградацию нефти // *Башкирский химический журнал*. 2023. Т.30. №1. С. 57-63. DOI: 10.17122/bcj-2023-1-57-63.
3. Rai S., Acharya-Siwakoti E., Kafle A. Plant-derived saponins: A review of their surfactant properties and applications // *Sci*. 2021. № 3. P. 44.
4. Ваксман З.А. Антагонизм микробов и антибиотические вещества. М.: Гос.изд-во иностр. лит., 1947.
5. Асатурова А.М. Изучение кинетики роста штаммов бактерий-антагонистов возбудителей фузариоза при периодическом культивировании // *Масличные культуры. Научно-технический бюллетень ВНИИМК*. 2008. Вып. 1 (138). С. 79-82.
6. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие. М.: Изд-во Академия, 2005.
7. Montealegre J.R., Reyes R., Perez L.M. Selection of antagonists to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato // *Electronic Journal of Biotechnology*. 2003. № 6(2). P. 116–127.