

Подбор прилипателей для совместного применения с лабораторным образцом биопрепарата в сельском хозяйстве*

А. И. ХОМЯК, Н. А. ЖЕВНОВА, В. В. АЛЛАХВЕРДЯН, А. М. АСАТУРОВА

Федеральный научный центр биологической защиты растений, Краснодар, п/о 39, 350039, Российская Федерация

Резюме. Исследования проводили с целью поиска прилипателей для совместного применения с лабораторным образцом биопрепарата на основе штамма *Bacillus subtilis* BZR 336g. В качестве прилипателей тестировали Адью, Липосам, Хайгер, Сильвет Голд, Панэм, Полидон Бонд. Стандарт – лабораторный образец на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g в форме жидкой культуры без добавок. Совместимость с прилипателями определяли модифицированным методом диффузии в агар. Жидкую культуру получали путем периодического культивирования. Количество колониеобразующих единиц определяли методом Коха. Антифунгальную активность в отношении *Fusarium graminearum* BZR F-4 оценивали методом двойных культур. Анализ на наличие метаболитов осуществляли методом биоавтографии в отношении *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6. Биологическую эффективность определяли на фоне искусственного заражения *F. graminearum* BZR F-21 в условиях климатической камеры на растениях озимой пшеницы сорта Таня. Повторность трехкратная. Большинство прилипателей совместимы со штаммом *B. subtilis* BZR 336g, исключение составляет Панэм, вокруг лунки с которым рост штамма отсутствовал. В варианте с Сильвет Голд титр лабораторного образца биопрепарата находился на уровне $(2,1 \pm 0,12) \times 10^8$ КОЕ/мл, со стандартом – $(1,1 \pm 0,01) \times 10^8$ КОЕ/мл, с другими прилипателями – $(1,0 \pm 0,08) \dots (1,9 \pm 0,08) \times 10^8$ КОЕ/мл. Использование Адью, Липосама и Полидона Бонд ингибировало антифунгальную активность лабораторного образца биопрепарата до 0,0...21,1%, против 61,5% у стандарта. Максимальная биологическая эффективность, относительно контроля с инфекцией, на искусственном инфекционном фоне на уровне 15,3% отмечена в вариантах с Хайгер и Сильвет Голд. Увеличение длины побега при добавлении прилипателей на 35,9...36,8%, по сравнению со стандартом, отмечено в вариантах с Липосамом и Полидоном Бонд. Для применения рекомендованы Сильвет Голд и Хайгер.

Ключевые слова: биопрепарат, прилипатель, *Bacillus subtilis*, антифунгальная активность, хроматография, ростстимуляция, совместимость.

Сведения об авторах: А. И. Хомяк, научный сотрудник (HomyakAI87@mail.ru); Н. А. Жевнова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник; В. В. Аллахвердян, младший научный сотрудник; А. М. Асатунова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник.

Для цитирования: Подбор прилипателей для совместного применения с лабораторным образцом биопрепарата в сельском хозяйстве / А. И. Хомяк, Н. А. Жевнова, В. В. Аллахвердян и др. // Достижения науки и техники АПК. 2023. Т. 37. № 8. С. 53–58. doi: 10.53859/02352451_2023_37_8_53

*работа выполнена при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках проекта НИП-20. 1/22.9 «Оптимизация состава и препаративной формы нового биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g для защиты сельскохозяйственных культур».

Selection of sticking agents for joint use with a laboratory sample of a biological product in agriculture

A. I. Khomyak, N. A. Zhevnova, V. V. Allakhverdyan, A. M. Asaturova

Federal Scientific Center of Biological Plant Protection, Krasnodar, p/o 39, 350039, Russian Federation

Abstract. The research was carried out to search for sticking agents for joint use with a laboratory sample of a biological product based on the *Bacillus subtilis* BZR 336g strain. Adya, Liposam, Haiger, Sylvet Gold, Panem, Polydon Bond were tested as sticking agents. The standard was a laboratory sample based on the *B. subtilis* BZR 336g strain in the form of a liquid culture without additives. Adhesive compatibility was determined by a modified agar diffusion method. Liquid culture was obtained by batch culture. The number of colony-forming units was determined by the Koch method. Antifungal activity against *Fusarium graminearum* BZR F-4 was assessed by double culture method. Analysis for the presence of metabolites was carried out using the bioautography method against *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6. Biological effectiveness was determined against the background of artificial infection with *F. graminearum* BZR F-21 in a climate chamber on winter wheat plants of the Tanya variety. The number of replications was three. Most of the sticking agents were compatible with the *B. subtilis* BZR 336g strain, except for Panem, around which there was no growth of the strain. In the variant with Sylvet Gold, the titre of the laboratory sample of the biological product was at the level of $(2,1 \pm 0,12) \times 10^8$ CFU/ml, with the standard – $(1,1 \pm 0,01) \times 10^8$ CFU/ml, with other adhesives – $(1,0 \pm 0,08) \dots (1,9 \pm 0,08) \times 10^8$ CFU/ml. The use of Adya, Liposam and Polydon Bond inhibited the antifungal activity of the laboratory sample of the biological product to 0.0–21.1%, against 61.5% for the standard. The maximum biological effectiveness, relative to infection control, against an artificial infectious background at the level of 15.3% was observed in the variants with Haiger and Sylvet Gold. An increase in shoot length with the addition of sticking agents by 35.9–36.8%, compared to the standard, was observed in the variants with Liposam and Polydon Bond. Sylvet Gold and Haiger are recommended for use.

Keywords: biological product; sticking agent; *Bacillus subtilis*; antifungal activity; chromatography; growth stimulation; compatibility.

Author Details: A. I. Homyak, research fellow (HomyakAI87@mail.ru); N. A. Zhevnova, Cand. Sc. (Biol.), senior research fellow; V. V. Allakhverdyan, junior research fellow; A. M. Asaturova, Cand. Sc. (Biol.), leading research fellow.

For citation: Khomyak AI, Zhevnova NA, Allakhverdyan VV, et al. [Selection of sticking agents for joint use with a laboratory sample of a biological product in agriculture]. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2023;(37(8)):53–8. Russian. doi: 10.53859/02352451_2023_37_8_53

Потребность сельского хозяйства в средствах защиты растений увеличивается с каждым годом. Современное развитие биотехнологии способствовало появлению нового поколения высокоэффективных multifunctional биопрепаратов, применяемых в различных отраслях сельскохозяйственного производства. Использование для создания таких препаратов природных штаммов микроорганизмов обеспечивает им высокую экологическую безопасность.

Прогресс в производстве и применении биопрепаратов во многом связан с разработкой высокотехнологичных, сохраняющих долгое время их исходные свойства, препаративных форм [1, 2, 3].

Одним из барьеров, препятствующих развитию направления биопрепаратов считают то, что их часто тестируют в лабораторных условиях, а не в севооборотах и баковых смесях, как это принято в сельскохозяйственной практике. При работе с биопрепаратами необходимо

соблюдать осторожность при использовании вспомогательных веществ. Так, некоторые широко используемые прилипатели могут снизить эффективность биопрепаратов [4]. Проработанный протокол испытаний может увеличить эффективность применения биопрепаратов в сельскохозяйственной практике [5].

Агрохимические прилипатели используют для улучшения эффективности препаратов на целевых видах, обычно благодаря улучшению адгезии или увеличению проникновения препарата в растение [6].

Характеристики и состав прилипателей к биопрепаратам зависят от типа среды обитания (листва, почва, вода), патогена (тип, характеристики, механизм и факторы регенерации), реологии материала (вязкость, размер частиц, плотность), экологических характеристик патогенов, способа и нормы применения [7]. Таким образом, важной задачей остается поиск прилипателей, оптимальных для применения совместно с биопрепаратами на основе микроорганизмов-антагонистов.

Цель исследований – подбор прилипателей для совместного применения с лабораторным образцом биопрепарата на основе штамма *Bacillus subtilis* BZR 336g для разработки технологии применения биопрепарата от экономически значимых болезней сельскохозяйственных культур.

Для ее достижения решали следующие задачи: определение совместимости штамма *B. subtilis* BZR 336g с прилипателями, установление влияния прилипателей на количество колониеобразующих единиц и антифунгальную активность лабораторного образца на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g, определение влияния совместного применения прилипателей с лабораторным образцом биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g на рост и развитие растений озимой пшеницы на фоне искусственного заражения *F. graminearum* BZR F-21.

Условия, материалы и методы. Объектом исследования служил штамм *Bacillus subtilis* BZR 336g из Биоресурсной коллекции ФГБНУ «Федеральный научный центр биологической защиты растений» (ФГБНУ ФНЦБЗР) «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» [8]. В работе использованы тест-культуры фитопатогенных грибов *Fusarium graminearum* Schwabe BZR F-21, *F. graminearum* Schwabe BZR F-4, *F. oxysporum* var. *orthoceras* App. et Wr. BZR F-6, семена и растения озимой пшеницы сорта Таня. В качестве прилипателей были протестированы Адью (этоксилат изодецилового спирта), Липосам (композиция биополимеров природного происхождения с прилипающими свойствами), Хайгер (этоксилат изодецилового спирта), Сильвет Голд (трисилоксан алкоксилат), Панэм (ксилаты жирных кислот), Полидон Бонд (композиция органосилоконовых ПАВ и алкоксилатов). Стандарт – лабораторный образец биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g 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» (<http://ckp-rf.ru/registered> No 671367).

Совместимость штамма *B. subtilis* BZR 336g с прилипателями определяли модифицированным методом диффузии в агар (Ваксман З. А. *Антагонизм микробов и антибиотические вещества*. М.: Гос. изд-во иностр. лит., 1947. 391 с.). В центре чашки Петри (ЧП) с твердой пи-

тательной средой (мясо-пептонный агар) делали лунку, в которую вносили 0,1 мл раствора исследуемого прилипателя. На поверхность среды наносили суспензию штамма с помощью стеклянного шпателя перенесенную с чашки Петри. Учеты проводили на седьмые сутки культивирования. О совместимости прилипателей со штаммом *B. subtilis* BZR 336g судили по наличию зон ингибирования, изменению морфологии штамма-продуцента.

Для всех опытов ЖК на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g получали методом периодического культивирования. Инкубацию осуществляли в термостатированных системах культивации клеток New Brunswick Scientific Excella E25 (США) в течение 48 ч при 180 об./мин. Периодическое культивирование осуществляли в конических колбах (350 мл) с объемом питательной среды 100 мл и предварительным внесением посевной (маточной) культуры (2,0 % от объема питательной среды). Маточную культуру получали методом внесения агаризованных блоков с исследуемым штаммом в конические колбы и последующим культивированием [9].

Для определения влияния прилипателей на количество колониеобразующих единиц и антифунгальную активность ЖК штамма *B. subtilis* BZR 336g смешивали с прилипателями в соотношении, рекомендованном производителем.

Количество колониеобразующих единиц определяли методом Коха (Нетрусов А. И. *Практикум по микробиологии: Учеб. пособие*. М.: Изд-во Академия, 2005. 608 с.). Исследование антифунгальной активности проводили методом двойных (встречных) культур (Ваксман З. А., 1947). Смесь лабораторного образца биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g с прилипателем вносили в ЧП по 1,0 мл. Далее в ЧП добавляли по 9 мл охлажденной до +37,0...+40,0 °С агаризованной картофельно-глюкозной среды. На застывшую среду высевали агаровый блок с мицелием *F. graminearum* BZR F-4 на расстоянии 1 см от края ЧП. Культуры инкубировали в течение 20 дней при температуре +28 °С. Контрольные варианты – чистые культуры гриба патогена и бактерии, посеянные отдельно. Учеты проводили на 5-е, 10-е, 15-е и 20-е сутки. Антифунгальную активность определяли по формуле [10]:

$$I = (1 - (A/B)) \times 100, \text{ где} \quad (1)$$

I – ингибирование роста мицелия патогена, %; *A* – рост гриба в варианте, мм; *B* – рост гриба в контроле, мм.

Бактериальные экзометаболиты выделяли путем экстракции этилацетатом (х.ч.) (2:1 v/v) супернатанта, полученного после центрифугирования лабораторного образца биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g на центрифуге 5810R в течение 30 мин., при 10 тыс. об./мин. на орбитальном шейкере Biosan PSU-20i (Латвия) в течение 1 ч. После разделения органической и водной части этилацетат упаривали досуха на ротационном вакуумном испарителе IKA RV10 (Германия) при температуре 40 °С. Сухой остаток растворяли в минимальном количестве этилацетата. Полученный раствор был проанализирован методом восходящей тонкослойной хроматографии (ТСХ) с использованием кизельгелевых ТСХ-пластин (толщина слоя 2 мм) Merck (Германия), подвижная фаза: этилацетат-этанол-вода 40:15:15, высота подъема растворителя 12 см. ТСХ-пластины затем были проанализованы под ультрафиолетовым светом при длине волны 366 нм. Выявление метаболитов с антигрибной активностью проводили методом биоавтографии [11, 12]. Пластины пропитывали жидкой картофельно-глюкозной средой и суспен-

зией пропагул тест-культуры фитопатогенного гриба *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6, а затем помещали во влажную камеру при температуре +28 °С на 48 ч. Наличие зон ингибирования роста тест-гриба свидетельствовало о присутствии антигрибных метаболитов, а их хроматографическая подвижность, вид и размер позволили дать визуальную оценку их активности. В качестве стандартов антигрибных липопептидов использовали коммерческие реактивы фирмы Sigma-Aldrich (США): сурфактин, итурин А и фенгизин.

Биологическую эффективность лабораторного образца биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g с прилипателями определяли на фоне искусственного заражения фузариозной корневой гнилью в условиях климатической камеры. Для этого использовали чистую культуру *F. graminearum* BZR F-21, выращенную на стерильном зерне. Инокулированное зерно сушили и измельчали лабораторной мельницей IKA A 11 basic (Германия) до состояния однородного порошка. В стаканы с 300 г чистого песка вносили по 1 г инокулята и осуществляли посев семян, предварительно обработанных рабочим раствором лабораторного образца биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g в смеси с прилипателями. Растения помещали в климатическую камеру KWWF 720 (Германия) на 12 суток. Учет поражения корневыми гнилями осуществляли согласно шкале (Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве / под ред. В.И. Долженко. СПб: ВИЗР, 2009. 378 с.): 0 – признаки поражения отсутствуют; 1 – на первичных и вторичных корнях – отдельные участки бурого цвета; 2 – основание стебля белёсое или слегка бурое, отдельные корни или значительные участки их бурые; 3 – основание стебля тёмное с перехватом, большая часть корней отмерла; 4 – отсутствие продуктивных стеблей при наличии симптомов по баллу 3.

По результатам балльной оценки пораженных растений определяли развитие и распространенность болезни по следующим формулам (Долженко В. И., 2009):

$$R = \frac{\sum(a \times b) \times 100}{N \times K}, \text{ где} \quad (2)$$

R – развитие болезни, %; a – количество растений с одинаковым баллом поражения (b); $\sum$ – сумма произведений $a \times b$; N – общее число растений в варианте; K – высший балл шкалы учета;

$$P = \frac{n}{N} \times 100, \text{ где} \quad (3)$$

P – распространенность болезни, %; n – число больных растений в варианте; N – общее число растений в варианте.

Биологическую эффективность рассчитывали по формуле Эббота:

$$C = \frac{100 \times (P - p)}{P}, \text{ где} \quad (4)$$

C – биологическая эффективность, %; P – развитие болезни в контроле, %; p – развитие болезни в варианте, %.

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

Результаты и обсуждение. В ходе исследований установлено, что практически со всеми прилипателями не было отмечено зон ингибирования штамма *B. subtilis* BZR 336g, что говорит об их совместимости. Исключение составил препарат Панэм, который существенно подавлял рост штамма *B. subtilis* BZR 336g (рис. 1).

Прилипатели, не оказывающие на штамм *B. subtilis* BZR 336g ингибирующее действие (не угнетающие его

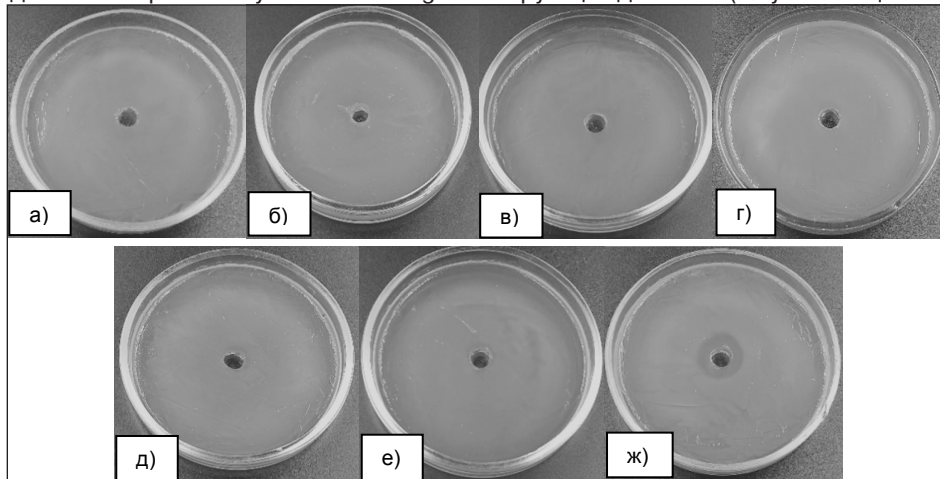


Рис. 1. Совместное культивирование штамма *B. subtilis* BZR 336g с прилипателями: а) контроль, б) Полидон Бонд, в) Хайгер, г) Липосам, д) Сильвет Голд, е) Аджю, ж) Панэм.

рост на агаризованной питательной среде), были включены в план исследования по определению влияния на такие критерии как количество колониеобразующих единиц и антифунгальную активность лабораторного образца биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g.

Отмечено, что данные, полученные в варианте с применением прилипателя Сильвет Голд, статистически значимо отличались от лабораторного образца биопрепарата без добавления прилипателей по критерию колониеобразующих единиц. Так, в лабораторном образце биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g без добавления прилипателей титр отмечен на уровне $1,2 \pm 0,0 \times 10^8$ КОЕ/мл, в то время как применение прилипателя Сильвет Голд обеспечивало титр на уровне $2,1 \pm 0,12 \times 10^8$ КОЕ/мл (рис. 2). В остальных вариантах не было отмечено статистически значимых различий, в сравнении со стандартом без добавления прилипателей.

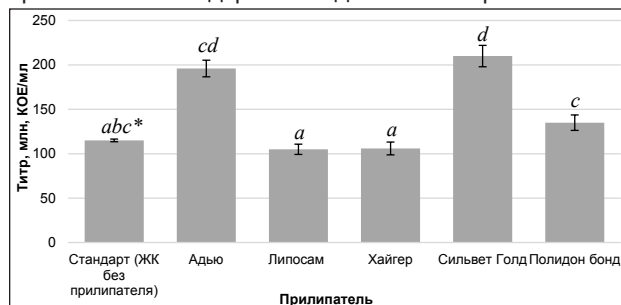


Рис. 2. Влияние прилипателей на количество колониеобразующих единиц в одном мл лабораторного образца биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g (*здесь и на рисунках 5 и 6 между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами, при сравнении в пределах столбцов нет статистически достоверных различий по критерию Дункана при 95 %-м уровне вероятности. Усы – доверительный интервал).

Таблица 1. Антифунгальная активность лабораторного образца биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g в отношении *F. graminearum* BZR F-4 в зависимости от прилипателя, %

Вариант	Антифунгальная активность			
	5-е сутки	10-е сутки	15-е сутки	20-е сутки
Адью	76,3 ^{b*}	40,0 ^c	11,5 ^d	0,0 ^c
Липосам	47,0 ^c	42,8 ^c	29,8 ^c	20,1 ^d
Хайгер	82,1 ^a	79,5 ^a	73,0 ^a	61,3 ^a
Сильвет Голд	76,5 ^b	74,8 ^b	67,7 ^b	61,0 ^a
Полидон Бонд	31,0 ^d	0,6 ^d	0,0 ^e	0,0 ^c
Стандарт (ЖК без прилипателя)	79,3 ^{ab}	78,5 ^a	73,0 ^a	61,5 ^a

* здесь и в табл. 2 между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами, при сравнении в пределах столбцов нет статистически достоверных различий по критерию Дункана при 95 %-ном уровне вероятности. Статистическая значимость рассчитана косвенно по росту мицелия *F. graminearum* BZR F-4.

Прилипатели способны снижать антифунгальную активность лабораторного образца биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g. Так, на пятые сутки инкубирования для прилипателей Липосам и Полидон Бонд отмечено достоверное снижение антифунгальной активности в отношении *F. graminearum* BZR F-4 до уровня 47,0% и 31,0% соответственно. Отмечено, что Липосам ингибировал рост *F. graminearum* BZR F-4 на 41 % меньше, чем стандарт, Полидон Бонд – на 63 % меньше. К десятым суткам инкубирования в варианте с применением прилипателя Полидон Бонд отмечено полное отсутствие антифунгальной активности, по сравнению со стандартом. Данные, полученные с применением прилипателя Хайгер, статистически значимо не отличались от стандарта без добавления прилипателей – 79,5 и 78,5% соответственно (табл. 1).

Эта тенденция сохранялась на 15-е и 20-е сутки учета. Применение Хайгера обеспечивало ингибирование мицелия *F. graminearum* BZR F-4 на уровне стандарта без добавления прилипателя до 73,0 % на 15-е сутки и до 61,3 % на 20-е сутки, в то время как внесение других прилипателей снижало антифунгальную активность лабораторного образца биопрепарата на 7,1...85,7 %, по сравнению со стандартом. Применение прилипателя Адью на пятые сутки инкубирования статистически значимо не отличалось от стандарта – 76,3 %. Но к 10-м суткам антифунгальная активность в варианте с применением Адью начала снижаться и к 20-м суткам было отмечено отсутствие ингибирования мицелия патогена. Вероятно, это вызвано отсутствием соединений фенольной природы, оказывающих на гриб фунгицидное действие. В остальных вариантах хроматографический

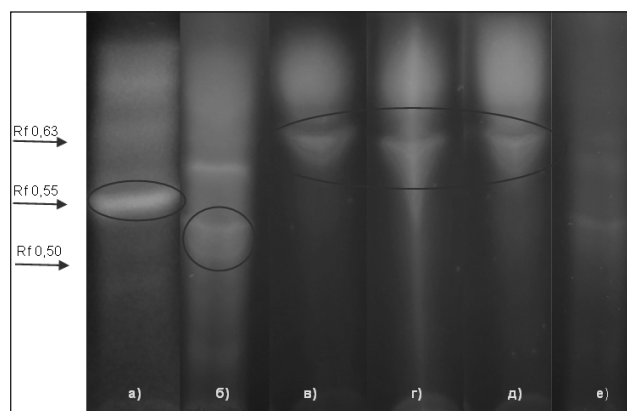


Рис. 3. Хроматограмма метаболитов лабораторного образца биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g с различными прилипателями в составе под ультрафиолетом 366 нм: а) стандарт (ЖК без прилипателя), б) Липосам, в) Хайгер, г) Сильвет Голд, д) Полидон Бонд, е) Адью.

анализ показал присутствие в этилацетатных экстрактах супернатантов соединений фенольной природы (голубое свечение) (Rf 0,55), однако при добавлении различных прилипателей Rf исследуемых соединений менялось (рис. 3).

На биоавтограмме стандарта без добавления прилипателей с тест-культурой гриба *F. oxysporum* var. *orthoceras* BZR F-6 (рис. 4) отмечена зона ингибирования мицелия, соответствующая

стандарту метаболита сурфактиновой природы (Rf 0,65...0,70). Следует отметить, что сурфактин – один из метаболитов бактерий, способных подавлять развитие болезней растений, вызванных фитопатогенными грибами. Его важным свойством считают способность синергетически влиять на биологическую активность метаболитов итуриновой и фенгициновой структур. Можно также отметить незначительную зону ингибирования тест-культуры гриба метаболитами итуриновой (Rf 0,21...0,25) и фенгициновой природы (Rf 0,13...0,15). В вариантах опыта с добавлением прилипателей на пластинах было отмечено полное отсутствие роста гриба, вероятно, из-за компонентов прилипателей.

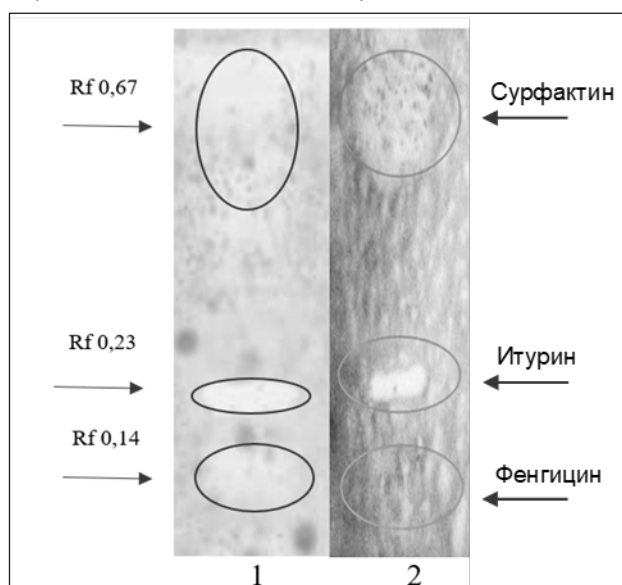


Рис. 4. Биоавтограмма метаболитов лабораторного образца биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g: 1 – *B. subtilis* BZR 336g; 2 – стандарты метаболитов.

Оценка применения лабораторных образцов биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g совместно с прилипателями была осуществлена на фоне искусственного заражения *F. graminearum* BZR F-21 в условиях климатической камеры.

Отмечено, что энергия прорастания при использовании в составе лабораторных образцов биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g прилипателей Полидон Бонд и Липосам была меньше стандарта на 35,2 и 40,4 % соответственно, в то время как применение Адью, Хайгера и Сильвет Голд обеспечивало энергию прорастания на уровне стандарта. Показатели всхожести статистически значимо не отличались от стандарта. Исключение составил только Липосам, обеспечивший

Таблица 2. **Защитный эффект лабораторного образца биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g в составе с различными прилипателями от фузариозной корневой гнили озимой пшеницы (сорт Таня, искусственный инфекционный фон *F. graminearum* BZR F-21, климатическая камера)**

Название	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Развитие болезни, %	Биологическая эффективность, %
Контроль:				
без инфекции	63,3 ^d	100,0 ^c	0	-
с инфекцией	45,0 ^{ab}	62 ^a	61,6	-
Адю	40,0 ^{abc}	51,7 ^{ab}	62,9	-2,1
Липосам	28,3 ^c	43,3 ^b	63,1	-2,4
Хайгер	36,7 ^{abc}	53,3 ^{ab}	52,2	15,2
Сильвет Голд	33,3 ^{abc}	48,3 ^{ab}	53,2	13,5
Полидон Бонд	30,0 ^{bc}	53,3 ^{ab}	63,3	-2,8
Стандарт (ЖК без прилипателя)	46,7 ^a	63,0 ^a	52,1	15,3

всхожесть на 31,2 % ниже, чем в варианте с применением стандарта. В целом отмечено снижение всхожести и энергии прорастания в опытных вариантах, по сравнению с контрольными (табл. 2).

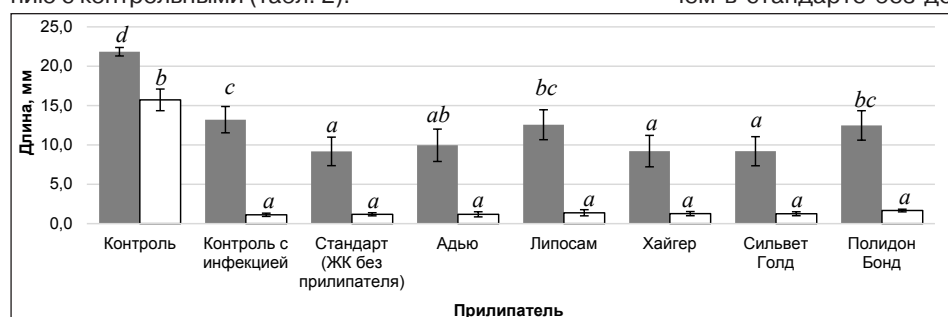


Рис. 5. Влияние лабораторных образцов биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g с различными прилипателями на длину побега и корня растений озимой пшеницы сорт Таня в условиях климатической камеры; ■ – длина побега, □ – длина корня.

Несмотря на низкие показатели всхожести, в некоторых вариантах отмечено существенное для такого инфекционного фона снижение развития болезни. Применение прилипателей Хайгер и Сильвет Голд, обеспечивало подавление развития болезни на 13,5...15,2 %, по сравнению с контролем с инфекцией (см. табл. 2).

Отсутствие защитного действия против корневой гнили фузариозной этиологии отмечено в вариантах с применением в качестве прилипателей Адю, Липосам и Полидон Бонд.

В ходе исследования влияния прилипателей на ростстимулирующую активность лабораторного образца биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g установлено, что для длины побега статистически значимые различия между стандартом и вариантами с добавлением прилипателей отмечены в вариантах с применением Липосама и Полидона Бонд. Их использование обеспечивало прибавку длины побега от 35,9 до 36,8 %, по сравнению со стандартом. Для

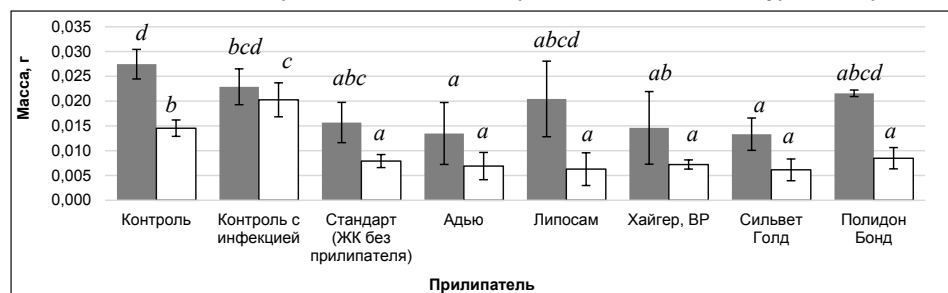


Рис. 6. Влияние лабораторных образцов биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g с различными прилипателями на массу побега и корня растений озимой пшеницы сорт Таня в условиях климатической камеры; ■ – масса побега, □ – масса корня.

длины корня статистически значимых различий между стандартом и вариантами с применением прилипателей отмечено не было. Так, длина корня в варианте с применением стандарта составила 1,2 см, в вариантах с применением прилипателей – от 0,9 до 1,7 см (рис. 5).

Также в ходе исследований не отмечено статистически значимого увеличения массы побегов и корней, по сравнению со стандартом, при применении различных прилипателей. Так, масса побега в вариантах с прилипателями Липосам и Полидон Бонд оказалась на 25 % больше, чем в стандарте без добавления прилипателей. Эта закономерность отмечена и для массы корня (рис. 6).

В ходе исследований отмечено, что в вариантах с применением штамма *B. subtilis* масса побега и корня меньше, чем в контроле с инфекцией. Такой эффект в сочетании низкой биологической эффективностью, вероятно, может быть обусловлен запуском реакций в тканях растения, способствующих развитию

приобретенного иммунитета при воздействии агрессивных патогенов [13, 14]. Результаты требуют дальнейших исследований.

Таким образом, для совместного применения с лабораторным образцом на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g отобраны прилипатели Сильвет Голд и Хайгер.

Выводы. Прилипатель Панэм оказывает ингибирующее действие на штамм *B. subtilis* BZR 336g. Использование прилипателей обеспечивает получение ЖК на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g с титром не менее $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл. Включение в состав ЖК на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g прилипателей Адю, Липосам и Полидон Бонд ингибирует его антифунгальную активность. На фоне искусственного заражения *F. graminearum* BZR F-21 максимальная биологическая эффективность, относительно контроля с инфекцией, на уровне 15,2 % отмечена при использовании прилипателя Хайгер. Вероятно, это обусловлено синтезом штаммом *B. subtilis* BZR 336g липопептидов: сурфактина, итурина и фенгицина. Статистически значимое

увеличение длины побега, по сравнению со стандартом, отмечено в вариантах с применением Липосама и Полидона Бонд – на 35,9 и 36,8 % соответственно. В целом, для совместного применения с лабораторным образцом биопрепарата на основе штамма *B. subtilis* BZR 336g рекомендованы прилипатели Сильвет Голд и Хайгер.

Литература.

1. Азизбекян Р. Р. Биологические препараты для защиты сельскохозяйственных растений (Обзор) // Биотехнология. 2018. Т. 34. № 5. С. 37–47. doi: 10.21519/0234-2758-2018-34-5-37-47.
2. Влияние нового биоконкомпозита на основе грибов рода триходерма на почвенные микроорганизмы и растения разных таксонов / А. А. Калинин, Д. С. Давидюк, Н. А. Боков и др. // Теоретическая и прикладная экология. 2021. № 2. С. 115–121. doi: 10.25750/1995-4301-2021-2-115-121.
3. Агансонова Н. Е. Использование инсектицидов, актиномицетных метаболитов, энтомопатогенных нематод и орияса в защите огурца от западного цветочного тлиса *Frankliniella occidentalis* P. // Агрохимия. 2017. № 8. С. 68–76. doi: 10.7868/S0002188117080087.
4. Reiss A., Jorgensen L. N. Biological control of yellow rust of wheat (*Puccinia striiformis*) with Serenade® ASO (*Bacillus subtilis* strain QST713) // Crop protection. 2017. No. 93. P. 1–8. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219416303222> (дата обращения: 13.09.2023).
5. Marrone P. G. Pesticidal natural products—status and future potential // Pest Management Science. 2019. Vol. 75. No. 9. P. 2325–2340.
6. Evaluating the efficacy of potential fungicide-adjuvant combinations for control of myrtle rust in New Zealand / K. Adusei-Fosu, C. A. Rolando, B. Richardson, et al. // Journal of Plant Diseases and Protection. 2021. Vol. 128. No. 6. P. 1501–1515.
7. Павлюшин В. А., Новикова И. И., Бойкова И. В. Микробиологическая защита растений в технологиях фитосанитарной оптимизации агроэкосистем: теория и практика (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2020. Т. 55. № 3. С. 421–438. doi: 10.15389/agrobiology.2020.3.421rus.
8. Бактерии-антагонисты фитопатогенов из Биоресурсной коллекции «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» ФГБНУ ФНЦБЗР / А. М. Асатурова, Н. А. Жевнова, В. М. Дубяга и др. // Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022622985 от 21.11.2022.
9. 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.
10. 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. Vol. 6. No. 2. P. 116–127.
11. Аллахвердян В. В., Сидорова Т. М., Асатурова А. М. Перспективные штаммы бактерий рода *Bacillus* в защите растений от возбудителей фузариоза и контаминации микотоксинами // Юг России: экология, развитие. 2022. Т. 17. № 2. С. 91–101. doi: 10.18470/1992-1098-2022-2-91-101.
12. Выделение и характеристика антигрибных метаболитов штаммов *Bacillus subtilis* BZR 336g и *Bacillus subtilis* BZR 517 модифицированным методом биоавтографии / Т. М. Сидорова, А. М. Асатурова, А. И. Хомяк и др. // Сельскохозяйственная биология. 2019. Т. 54. С. 178–185. doi: 10.15389/agrobiology.2019.1.178rus.
13. Biological control of *Fusarium graminearum* sensu stricto, causal agent of *Fusarium* head blight of wheat, using formulated antagonists under field conditions in Argentina / J. M. Palazzini, E. Alberione, A. Torres, et al. // Biological control. 2016. Vol. 94. P. 56–61. doi: 10.1016/j.biocontrol.2015.12.009.
14. Кабашникова Л. Ф. Прайминг защитных реакций в растениях при патогенезе: приобретенный иммунитет // Журнал Белорусского государственного университета. Экология. 2020. № 4. С. 19–29.

References

1. Azizbekyan RR. [Biological preparations for the protection of agricultural plants (review)]. *Biotechnologiya*. 2018;34(5):37-47. Russian. doi: 10.21519/0234-2758-2018-34-5-37-47.
2. Kalinin AA, Davidyuk DS, Bokov NA, et al. [Effect of a new biocomposite based on fungi of the genus *Trichoderma* on soil microorganisms and plants of different taxa]. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2021;(2):115-21. Russian. doi: 10.25750/1995-4301-2021-2-115-121.
3. Agansonova NE. [Use of insecticides, actinomycete metabolites, entomopathogenic nematodes and orius in the cucumber protection against the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* P.]. *Agrokhimiya*. 2017;(8):68-76. Russian. doi: 10.7868/S0002188117080087.
4. Reiss A, Jorgensen LN. Biological control of yellow rust of wheat (*Puccinia striiformis*) with Serenade® ASO (*Bacillus subtilis* strain QST713). *Crop protection* [Internet]. 2017 [cited 2023 Sep 13];(93):1-8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0261219416303222>.
5. Marrone PG. Pesticidal natural products—status and future potential. *Pest Management Science*. 2019;75(9):2325-40.
6. Adusei-Fosu K, Rolando CA, Richardson B, et al. Evaluating the efficacy of potential fungicide-adjuvant combinations for control of myrtle rust in New Zealand. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 2021;128(6):1501-15.
7. Pavlyushin VA, Novikova II, Boikova IV. [Microbiological plant protection in technologies for phytosanitary optimization of agroecosystems: theory and practice (review)]. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*. 2020;55(3):421-38. Russian. doi: 10.15389/agrobiology.2020.3.421rus.
8. Asaturova AM, Zhevnova NA, Dubyaga VM, et al. Bakterii-antagonisty fitopatogenov iz Bioresursnoi kollektsii «Gosudarstvennaya kollektsiya entomokarifagov i mikroorganizmov» FGBNU FNTsBZR [Bacteria-antagonists of phytopathogens from the Bioresource collection "State collection of entomocarifages and microorganisms" of the Federal Scientific Center for Biological Plant Protection]. Certificate of state registration of the database No. 2022622985; 2022 Nov 21. Russian.
9. Asaturova AM. [Study of the growth kinetics of bacterial strains antagonistic to *Fusarium* pathogens during periodic cultivation]. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tehnicheskii byulleten' VNIIMK*. 2008;(1):79-82. Russian.
10. Montealegre JR, Reyes R, Perez LM. Selection of antagonists to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2003;6(2):116-27.
11. Allahverdyan VV, Sidorova TM, Asaturova AM. [Promising strains of bacteria of *Bacillus* genus in protecting plants from *Fusarium* pathogens and mycotoxin contamination]. *Yug Rossii: ekologiya, razvitie*. 2022;17(2):91-101. Russian. doi: 10.18470/1992-1098-2022-2-91-101.
12. Sidorova TM, Asaturova AM, Khomyak AI, et al. [Isolation and characterization of antifungal metabolites of strains *Bacillus subtilis* BZR 336g and *Bacillus subtilis* BZR 517 using a modified bioautography method]. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*. 2019;54:178-85. Russian. doi: 10.15389/agrobiology.2019.1.178rus.
13. Palazzini JM, Alberione E, Torres A, et al. Biological control of *Fusarium graminearum* sensu stricto, causal agent of *Fusarium* head blight of wheat, using formulated antagonists under field conditions in Argentina. *Biological control*. 2016;94:56-61. doi: 10.1016/j.biocontrol.2015.12.009.
14. Kabashnikova LF. [Priming of defense reactions in plants during pathogenesis: Acquired immunity]. *Zhurnal Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Ekologiya*. 2020;(4):19-29. Russian.