

Научная статья

УДК 579.66:579.017.8:579.264

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-88-98>



Влияние акрилатных гидрогелей на основные параметры культивирования и антагонистическую активность агрономически полезных бактерий

А.В. Крыжко^{*,**✉}, С.В. Дидович^{***}, А.В. Сорокин^{****,*},
М.С. Лавлинская^{****,*}

^{*}Севастопольский государственный университет, г. Севастополь, Российская Федерация

^{**}Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма,

г. Симферополь, Российская Федерация

^{***}Воронежский государственный университет инженерных технологий,

г. Воронеж, Российская Федерация

^{****}Воронежский государственный университет, г. Воронеж, Российская Федерация

Аннотация. Целью работы являлось исследование влияния полимерных акрилатных гидрогелей на рост и развитие агрономически полезной микрофлоры – штаммов азотфиксаторов, фосфатмобилизаторов, энтомопатогенов и антагонистов фитопатогенов. Антибактериальное действие гидрогелей изучали методом лунок в чашках Петри по И. Сэги. Культивирование бактерий проводили в ГРМ-бульоне, определение оптической плотности среды осуществляли при 600 нм с периодичностью 1 ч в течение 48 ч. Исследование биопленкообразования вели на среде LB согласно методу O'Toole, Kolter (1998). В стерильную среду вносили образцы гидрогелей в концентрации 200; 100; 50; 25 и 12,5 мг/мл. Установлено, что штаммы *Paenibacillus polymyxa* П, *Agrobacterium tumefaciens* 204 и энтомопатогены *Bacillus thuringiensis* 0271, *B. thuringiensis* 0371 не проявляют признаков угнетения в зоне взаимодействия как с эталонными, так и с экспериментальными гидрогелями, а рост культур штаммов *Azotobacter vinelandii* 10702, *Bradyrhizobium ottawaense* M-8 и *Rhizobium leguminosarum* K-29 был ингибирован во всех вариантах опыта. Исследованные суспензии гидрогелей ГГ1 и ГГ2 в концентрации 200 мг/мл способствовали уменьшению оптической плотности культур как штамма *B. amyloliquefaciens* 01-1, так и штамма *Lelliottia nimipressurales* 32-3 в среднем на 23,3 и 14,7% к контролю соответственно. Внесение в питательную среду 25–100 мг/мл ГГ2 способствует активному накоплению биомассы культурами *P. polymyxa* П и *A. tumefaciens* 204. Гидрогели способствовали усилению биопленкообразования *B. amyloliquefaciens* 01-1 в концентрации 50–200 мг/мл (ГГ1) и 100–200 мг/мл (ГГ2). Максимальную стимуляцию образования планктонной культуры и биопленки наблюдали при обогащении питательной среды 12,5–100 мг/мл ГГ1 у культуры штамма *P. polymyxa* П, выражавшуюся в увеличении интенсивности прироста бактериальной суспензии в среднем в 8,9 раз к контролю.

Ключевые слова: гидрогель, агрономически полезная микрофлора, штамм, антагонистическая активность

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке программы «Приоритет-2030» Севастопольского государственного университета (стратегический проект № 3, № 121121700318-1).

Для цитирования: Крыжко А.В., Дидович С.В., Сорокин А.В., Лавлинская М.С. Влияние акрилатных гидрогелей на основные параметры культивирования и антагонистическую активность агрономически полезных бактерий // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023. Т. 13. N 1. С. 88–98. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-88-98>.

PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

Effect of acrylate-based hydrogels on basic cultivation parameters and antagonistic activity of soil beneficial bacteria

Anastasiia V. Kryzhko^{*,**✉}, Svetlana V. Didovich^{***}, Andrey V. Sorokin^{****,*},
Maria S. Lavlinskaya^{****,*}

^{*}Sevastopol State University, Sevastopol, Russian Federation

^{**}Research Institute of Agriculture of Crimea, Simferopol, Russian Federation

^{***}Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russian Federation

^{****}Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

Abstract. We study the effect of polymeric acrylate-based hydrogels on the growth and development of soil beneficial microflora, including nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing microorganisms, entomopathogens and phytopathogen

© Крыжко А.В., Дидович С.В., Сорокин А.В., Лавлинская М.С., 2023

antagonists. The antibacterial effect of hydrogels (HG) was studied by the volume displacement method in Petri dishes according to Ye. Sagi. Bacteria were cultured in GRM broth; the optical density of the medium was determined at 600 nm at 1 h intervals for 48 h. The process of biofilm formation was studied in LB medium according to the method of O'Toole and Kolter (1998). HG samples were added to sterile medium at concentrations of 200, 100, 50, 25 and 12.5 mg/ml. The *Paenibacillus polymyxa* P and *Agrobacterium tumefaciens* 204 strains, as well as the *Bacillus thuringiensis* 0271 and *B. thuringiensis* 0371 entomopathogens, showed no signs of inhibition in the interaction zone with both control and experimental HG. At the same time, the culture growth of the *Azotobacter vinelandii* 10702, *Bradyrhizobium ottawaense* M-8 and *Rhizobium leguminosarum* K-29 strains was inhibited in all the experiment variants. The investigated hydrogel suspensions HG1 and HG2 at a concentration of 200 mg/ml contributed to a decrease in the optical density of cultures of both *B. amyloliquefaciens* 01-1 and *Lelliottia nimipressurales* 32-3 by on average 23.3 and 14.7%, respectively, compared to the control. Introduction of HG2 into a nutrient medium in the amount of 25–100 mg/ml promoted active accumulation of biomass by *P. polymyxa* P and *A. tumefaciens* 204. The HG1 and HG2 hydrogels at concentrations of 50–200 mg/ml and 100–200 mg/ml, respectively, enhanced the biofilm formation of *B. amyloliquefaciens* 01-1. The maximum stimulation of plankton culture and biofilm formation was observed when the *P. polymyxa* P strain culture was enriched with 12.5–100 mg/ml of HG1, which increased the intensity of bacterial suspension growth by on average 8.9 times compared to the control.

Keywords: hydrogel, soil beneficial microflora, strain, antagonistic activity

Funding. The research was carried out with the financial support of the «Priority 2030» program of Sevastopol State University (strategic project no. 3, no. 121121700318-1).

For citation: Kryzhko A.V., Didovich S.V., Sorokin A.V., Lavlinskaya M.S. Effect of acrylate-based hydrogels on basic cultivation parameters and antagonistic activity of soil beneficial bacteria. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2023;13(1):88-98. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2023-13-1-88-98>.

ВВЕДЕНИЕ

Эффективность выращивания сельскохозяйственных культур во многом определяется содержанием влаги в почве и наличием удобрений [1]. В настоящее время в агрономии активно применяются суперабсорбирующие полимерные гидрогели для улучшения физико-химических свойств почв, поддержания водного режима [3–5], усиления доступности удобрений [4, 6, 7] благодаря высокой абсорбции и способности аккумулировать огромное количество жидкости (воды, раствора) [8], что позволяет улучшить рост и развитие сельскохозяйственных растений, повысить их продуктивность. Такие суперабсорбенты существенно отличаются от гигроскопичных материалов своей многомерной сетчатой структурой. Они удерживают много воды в своей 3-мерной сети и медленно высвобождают ее вместе с питательными веществами (к примеру, ионами фосфора [9]) для растений в условиях водodefицита [4].

Различают несколько типов гидрогелей: синтетические, натуральные, композитные с определенной степенью набухания (количеством поглощенной воды по отношению к единице массы полимера), проницаемости, диффузии, сырьевого ресурса, механической прочности, эластичности, длительности действия, биodeградации, биосовместимости, экологической безопасности [2].

Высокая способность к адгезии установлена для гидрогелей, состоящих из сополимеризованных наночастиц хитозана и полиакриловой кислоты. В зависимости от модификации синтезированного гидрогеля, наличия в нем ионов меди и полиакрилатов наблюдается в разной степени выраженная антагонистическая активность относительно бактериальных культур *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, дрожжей *Candida albicans* и микромицета *Aspergillus niger* [10]. Устойчивость к акрилатным гидрогелям проявляет *Escherichia coli*, а на культуры *Salmonella typhimurium*, *Salmonella pullorum*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus*

subtilis и *Pseudomonas aeruginosa* гидрогели могут оказывать антибактериальный эффект [11].

Есть сведения о том, что полимерные гидрогели можно использовать в качестве иммобилизатора *Lactobacillus plantarum* для обогащения сока манго пробиотиками и повышения жизнеспособности бактерий в кислой среде при повышенных температурах [12] или для иммобилизации *Saccharomyces bayanus* в процессе получения этанола [13]. В промышленной биотехнологии гидрогели на основе поливинилового спирта в сочетании со спорами *Bacillus coagulans* применяются для получения молочной кислоты [14]. Существуют гидрогели, имеющие выраженные антимикробные свойства [15]. Изучение взаимодействия микроорганизмов и гидрогелей открывает перспективу разработки инновационных технологий очистки сточных вод [7], а в сочетании с соединениями фенотиазина – достижение антибиотического эффекта на патогены человека *S. aureus* и *E. coli* [16]. Используя модифицированные штаммы *Synechococcus elongatus* и *Azotobacter vinelandii*, обладающие выраженными азот- и углеродфиксирующими свойствами, получают биопластиковый полигидроксibuтират [17].

Способность бактерий к адгезии на поверхности гидрогелей и повышенная по сравнению со свободными формами жизнеспособность делает перспективным использование бактериально-гидрогельных композиций в сельском хозяйстве. Особенно важным представляется применение композиций на основе агрономически полезных штаммов азотфиксаторов, фосфатмобилизаторов и антагонистов фитопатогенов.

Перспективным является включение в состав композиции бактерий *Azotobacter vinelandii* [18] или *Bacillus subtilis* в качестве азотфиксатора [19]. Учеными из университета Махатмы Ганди (штат Керала, Индия) разработан полимерный нанокомпозитный гель для капсулирования ризобактерий/бактериальных консорциумов, стимулирующих рост и развитие растений (PGPR) [20]. В таком гидрогелем препарате жизне-

способность микроорганизмов PGPR сохранялась до 60 дней, а бактериализация им существенно улучшала структуру урожая и увеличивала зерновую продуктивность *Vigna unguiculata* L., что, по мнению авторов, позволяет снизить нагрузку применения экологически небезопасных минеральных удобрений при выращивании сельскохозяйственных культур. Таким образом, практическая значимость данного направления неоспорима для регионов с недостаточным влагообеспечением при выращивании сельскохозяйственных культур и экологизации земледелия.

Целью работы являлось исследование влияния полимерных акрилатных гидрогелей на рост и развитие агрономически полезной микрофлоры – штаммов азотфиксаторов, фосфатмобилизаторов, энтомопатогенов и антагонистов фитопатогенов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В исследовании использованы экспериментальные гидрогели, разработанные учеными Воронежского государственного университета инженерных технологий и Воронежского государственного университета. Применяемые в настоящей работе гидрогели представляют собой редкосшитые сополимеры акриловой кислоты, акрилата калия и акриламида [21]. В качестве сшивающего агента использован бифункциональный *N,N*-метилен-бис-акриламид в количестве 0,5% масс. Гидрогели получали осадительной полимеризацией акриламида и акриловой кислоты (1:3 масс.) в присутствии инициатора персульфата калия (1% масс.) в течение 2 ч при температуре 65 °C в водном растворе. По завершении синтеза образовавшийся гель перетирали с раствором гидроксида калия. Мольное соотношение акриловая кислота:гидроксид калия составляло 1:0,7 для образца № 1 (ГГ1), 1:0,5 – для образца № 2 (ГГ2). После этого гидрогели промывали этиловым спиртом и сушили в вакуумном сушильном шкафу до постоянной массы. Внешний вид используемых образцов: ГГ1 – белые кристаллы размером от 1 до 0,5 мм; ГГ2 – кристаллы с желтым оттенком размером от 1 до 0,5 мм.

В качестве контроля использовали два синтетических гидрогеля: ГГNa – полиакрилат натрия порошкообразный (SAP, Германия) и ГГK – полиакриловый суперабсорбент на основе соли калия гранулированный (SAP, Россия). Степень набухания (SR) гидрогелей – 500, pH после набухания – 7,5 (слабощелочная среда).

Антибактериальное действие гидрогелей изучали методом лунок в чашках Петри на элективных агаризованных питательных средах. Набухшие гидрогели вносили в лунки равными дозами по 0,2 мл. Зоны угнетения и стимуляции роста тест-культур оценивали через 48 ч инкубирования при температуре 28 °C [22]. В качестве тест-культур использовали штаммы агрономически полезных микроорганизмов Крымской коллекции¹ разной функциональной направленности: симбиотические азотфиксаторы гороха *Rhizobium leguminosarum* K-29 и сои *Bradyrhizobium ottawaense* M-8, ассоциативный азотфиксатор *Azotobacter vinelandii* 10702, фос-

фатмобилизирующий и стимулирующий рост и развитие растений штамм *Lelliottia nimipressurales* 32-3, антагонисты широкого круга фитопатогенов *Paenibacillus polymyxa* П, *Agrobacterium tumefaciens* 204 и *Bacillus amyloliquefaciens* 01-1, а также энтомопатогенные штаммы *Bacillus thuringiensis* 0371 и *B. thuringiensis* 0271. В контрольном варианте засев микроорганизмов проводили на питательные среды без внесения гидрогелей. На основе данных штаммов в Научно-исследовательском институте сельского хозяйства Крыма разрабатываются микробные препараты земледуобрительного, ростстимулирующего и защитного действия².

Для определения бактериостатической активности проводили культивирование бактерий в ГРМ-бульоне. В стерильную остывшую до 40 °C среду вносили образцы гидрогелей ГГ1 и ГГ2 в концентрации 200; 100; 50; 25 и 12,5 мг/мл. В качестве контроля использовали среду ГРМ-бульона, в которую вместо гидрогеля добавляли эквивалентное количество дистиллированной воды. Для инокуляции питательной среды использовали 24-часовую культуру бактерий, разведенную свежей стерильной питательной средой до оптической плотности (ОП), составившей при длине волны 600 нм 0,01–0,05 опт. ед. Микроорганизмы культивировали в 96-луночном планшете в фотометре SpectroStar NANO (BMG LABTECH, Германия) при температуре 27 °C в режиме постоянного встряхивания. Определение ОП среды проводили при длине волны 600 нм с периодичностью 1 ч в течение 48 ч.

Интенсивность прироста (ИП) бактериальной суспензии определяли при 600 нм по формуле [23, 24]:

$$\text{ИП} = \text{ОП}_{48} : \text{ОП}_0,$$

где ОП_{48} – оптическая плотность суспензии бактерий через 48 ч культивирования; ОП_0 – исходная оптическая плотность. Если показатель был равен 1, прирост отсутствовал, от 1 до 2 – был слабым, больше 2 – значительным.

Определение интенсивности биопленкообразования исследуемых штаммов оценивали методом связывания красителя генцианового фиолетового. В качестве инокулянта использовали 18-часовую культуру бактерий, выращенную на рыбо-пептонном агаре и разведенную питательной средой до ОП, составившей при длине волны 600 нм 0,01–0,05 опт. ед. Тестируемые штаммы инокулировали по 200 мкл в лунку 96-луночного планшета, в качестве контроля использовали стерильный рыбо-пептонный бульон. В стерильную среду вносили образцы контрольных и опытных гидрогелей в концентрации 200; 100; 50; 25 и 12,5 мг/мл. Максимальная концентрация вносимых гидрогелей определялась из такой, при которой образовывался прозрачный раствор, не содержащий комков и глыбок.

Планшеты герметизировали и культивировали при температуре 27 °C в течение 48 ч, затем из лунок удаляли среду с планктонными клетками. Биопленки промывали 1М фосфатно-солевым буфером (PBS, pH = 6,5), окрашивали 5 мин 0,1%-м раствором генциана фиоле-

¹Крымская коллекция микроорганизмов // Научно-технологическая инфраструктура Российской Федерации [Электронный ресурс]. URL: <http://www.ckp-rf.ru/usu/507484/> (08.02.2023).

²Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма [Электронный ресурс]. URL: <https://niishk.site/innovacionnaya-produkciya/mikrobnnye-preparaty/> (08.02.2023).

тового и осторожно промывали водой. Связавшийся с биомассой биопленок краситель растворяли в этаноле и измеряли ОП при длине волны 590 нм [25]. ОП образцов измеряли с помощью фотометра SpectroStar NANO (BMG LABTECH, Германия).

Определение способности к формированию биопленки (ОПк) определяли согласно формуле [26, 27]:

$$\text{ОПк} = \chi_{\text{ср}} \text{ОПк} + 3\text{СПк},$$

где $\chi_{\text{ср}}$ ОПк – среднее арифметическое значение оптической плотности, измеренной для контрольных лунок; СПк – среднеквадратичное (стандартное) отклонение контрольных значений.

Интерпретация оценки степени биопленкообразования следующая: ОП≤ОПк – отсутствует; ОПк<ОП≤2ОПк – низкая; 2ОПк<ОП≤4ОПк – умеренная; ОП>4ОПк – значительная.

Эксперименты проводили в 3-кратной биологической повторности. Статистическую обработку данных осуществляли общепринятым методом с использованием коэффициента Стьюдента [28], в таблице и на рисунках представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки. Теплокарты были построены с применением пакетов heatmap, gplots, RColorBrewer в среде R [29].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При изучении антибактериального действия гидрогелей на культуры штаммов агрономически полезных бактерий установлено, что штаммы *P. polymyxa* П,

A. tumefaciens 204 и энтомопатогены *B. thuringiensis* 0271, *B. thuringiensis* 0371 показали обильный рост культуры без признаков угнетения вокруг лунок, заполненных как контрольными, так и экспериментальными гидрогелями.

Гидрогели контроля ГГК и ГГNa не оказывали достоверного влияния на рост и развитие культур штаммов *B. amyloliquefaciens* 01-1 и *L. nimipressurales* 32-3. Гидрогель ГГ1 способствовал образованию зоны угнетения роста обоих штаммов (10,5 и 3,5 мм соответственно), а ГГ2 угнетал рост *B. amyloliquefaciens* 01-1 в зоне размером 12,3 мм.

Рост культуры штамма *A. vinelandii* 10702 был ингибирован во всех вариантах опыта (рис. 1). Зона угнетения роста была максимальной в варианте с гидрогелем ГГК и составила 5,2 мм. Исследуемые гидрогели ГГ1 и ГГ2 способствовали образованию меньших по размеру зон ингибирования роста, которые через 48 ч составили соответственно 3,5 и 2,5 мм.

В ходе эксперимента наблюдали негативное действие всех изученных полимерных гидрогелей на культуры штаммов *B. ottawaense* М-8 и *R. leguminosarum* К-29. Угнетение роста культуры *R. leguminosarum* К-29 в зоне взаимодействия с гидрогелями составило в среднем 5,1 мм. Ингибирование культуры штамма *B. ottawaense* М-8 было максимальным в вариантах с ГГ1 и ГГ2 (12,0 и 5,0 мм соответственно), размер зоны угнетения при культивировании с ГГК составил 1,5 мм, а ГГNa негативного влияния на развитие *B. ottawaense* М-8 не оказывал (таблица).

Антибактериальное действие полимерных гидрогелей на бактерии агрономически полезных штаммов микроорганизмов
Antibacterial effect of polymer hydrogels on agronomically useful bacteria

Тест-микроорганизм, штамм	Размер зон взаимодействия полимерных гидрогелей и тест-микроорганизмов, мм			
	ГГК	ГГNa	ГГ1	ГГ2
<i>A. tumefaciens</i> 204	0	0	0	0
<i>A. vinelandii</i> 10702	5,2±0,1	4,8±0,2	3,5±0,3	2,5±0,1
<i>B. amyloliquefaciens</i> 01-1	0	0	10,5±0,7	12,3±0,6
<i>B. ottawaense</i> М-8	1,5±0,1	0	12,0±0,7	5,0±0,3
<i>B. thuringiensis</i> 0271	0	0	0	0
<i>B. thuringiensis</i> 0371	0	0	0	0
<i>L. nimipressurales</i> 32-3	0	0	3,5±0,2	0
<i>P. polymyxa</i> П	0	0	0	0
<i>R. leguminosarum</i> К-29	6,7±0,5	3,4±0,2	5,3±0,3	4,8±0,5

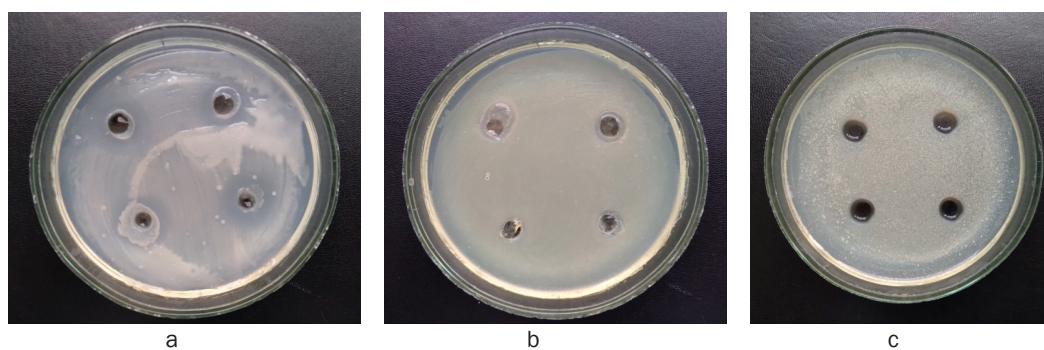


Рис. 1. Подавление роста культуры штамма *Rhizobium leguminosarum* К-29 (а) и штамма *Azotobacter vinelandii* 10702 (б) образцом полимерного гидрогеля ГГ1, отсутствие подавления роста штамма *Azotobacter vinelandii* 10702 в контроле (дистиллированная вода) (с)

Fig. 1. Suppression of *Rhizobium leguminosarum* К-29 (a) and *Azotobacter vinelandii* 10702 (b) culture growth with a sample of polymer hydrogel ГГ1, absence of *Azotobacter vinelandii* strain 10702 growth suppression in the control (distilled water) (c)

Внесение в питательную среду LB экспериментальных гидрогелей ГГ1 и ГГ2 в исследованных концентрациях оказало влияние на накопление биомассы культуры штамма *B. amyloliquefaciens* 01-1, но при этом не влияло на сроки прохождения фаз развития. Культура штамма *B. amyloliquefaciens* 01-1 в присутствии гидрогелей синхронно прошла фазы ускорения роста и экспоненциальную фазу, на 9 ч вошла в фазу замедления роста. В варианте с ГГ1 и ГГ2 в концентрации 12,5 мг/мл ОП культуры была минимальной и составила 0,57 опт. ед., что в среднем на 16,6% меньше, чем в контроле. Во всех остальных вариантах отмечали увеличение ОП культуральной жидкости. Максимально ОП культивируемых штаммов увеличивалась в варианте с обогащением питательной среды гидрогелями в концентрации 200 мг/мл в среднем до 0,74, что на 23,3% меньше, чем в контроле. Через 15 ч культивирования культура штамма *B. amyloliquefaciens* 01-1 достигла стационарной фазы и находилась в ней до конца эксперимента. На 31 ч культивирования во всех опытных вариантах отмечали уменьшение ОП в среднем до 0,41 опт. ед., кроме варианта с добавлением гидрогелей в концентрации 50 мг/мл, ОП составила 0,35 опт. ед., что на 64,4% меньше, чем в контроле.

Динамика развития штамма *L. nimipressurales* 32-3 в среде LB с добавлением полимерных гидрогелей в общих чертах напоминала динамику развития культуры штамма *B. amyloliquefaciens* 01-1. Через 2 ч после инокуляции культура во всех вариантах синхронно завершала фазу ускорения роста и вступала в фазу экспоненциального развития, завершавшуюся на 5 ч. Значительного влияния добавок на ОП культуры штамма *L. nimipressurales* 32-3 не отмечено. Исключение составил вариант с добавлением гидрогелей в концентрации 200 мг/мл, где наблюдали уменьшение накопления биомассы в среднем на 14,7% к контролю. Угнетение роста культуры в этом варианте продолжалось и в стационарную фазу: максимальное снижение ОП культуры

наблюдали на 14 ч, оно составило 0,56 опт. ед., что на 23,3% меньше, чем в контроле. Достоверного влияния гидрогелей в остальных вариантах опыта на ОП культуры штамма *L. nimipressurales* 32-3 в стационарную фазу не отмечали.

Анализ культивирования штамма *P. polymyxa* П в питательной среде LB, обогащенной полимерными гидрогелями ГГ1 и ГГ2, позволил установить, что культура бактерий в фазе ускорения роста во всех вариантах развивалась синхронно в течение 5 ч (рис. 2). Стимулирующее действие ГГ2 в концентрации 25 мг/мл проявилось в фазу экспоненциального развития и выражалось как в длительной (до 23 ч против 11 ч в контроле) протяженности фазы, так и в активном накоплении биомассы. ОП культуры штамма *P. polymyxa* П в этом варианте достигла 0,86 опт. ед., что в 2,6 раз больше, чем в контроле. На 23–25 ч культивирования наблюдали существенное уменьшение биомассы до 0,53 опт. ед., а на 25 ч культура штамма *P. polymyxa* П вошла в стационарную фазу, характеризовавшуюся высокой ОП, составившую в среднем 0,49 опт. ед., что в 3,1 раз больше, чем в контроле. В целом необходимо отметить, что вне зависимости от концентрации и варианта введенного в питательную среду LB гидрогеля наблюдалась стойкая тенденция к увеличению ОП культуры в стационарной фазе. Наиболее активно плотность биомассы увеличивалась в питательной среде, обогащенной ГГ2 в концентрации 12,5–100 мг/мл (до 0,31–0,14 опт. ед. против 0,15 в контроле). Менее активно на ОП влияло добавление в среду ГГ1 в концентрации 12,5–50 мг/мл, что способствовало увеличению биомассы в среднем в 2,35 раз.

Обогащение питательной среды LB полимерными гидрогелями в исследованных концентрациях оказало стимулирующее влияние как на накопление биомассы культуры штамма *A. tumefaciens* 204, так и на сроки прохождения бактериями основных фаз развития (рис. 3). В фазу ускорения роста культура во всех вариантах опыта развивалась синхронно в течение 11 ч. Однако на 15 ч развития в экспоненциальную фазу наблюдали

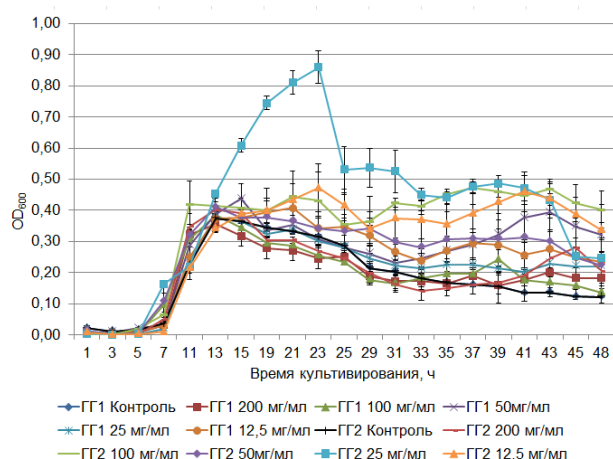


Рис. 2. Накопление биомассы культуры штамма *P. polymyxa* П на питательной среде LB с добавлением полимерных гидрогелей (ГГ1 – образец гидрогеля 1, ГГ2 – образец гидрогеля 2)

Fig. 2. Accumulation of *P. polymyxa* П biomass on LB nutrient medium with polymer hydrogels (ГГ 1 – hydrogel sample 1, ГГ 2 – hydrogel sample 2)

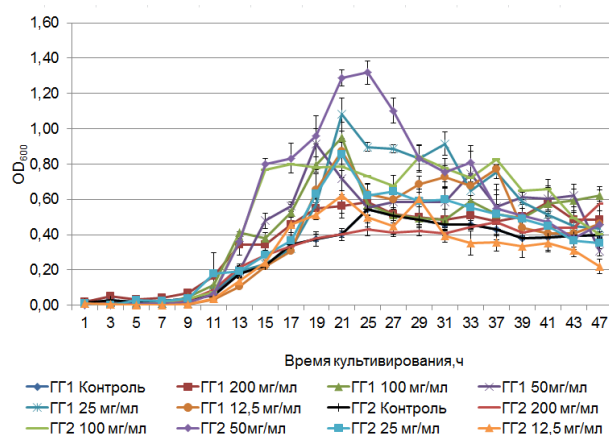


Рис. 3. Накопление биомассы культуры штамма *A. tumefaciens* 204 на питательной среде LB с добавлением акрилатных гидрогелей (ГГ1 – образец гидрогеля 1, ГГ2 – образец гидрогеля 2)

Fig. 3. Accumulation of *A. tumefaciens* 204 biomass on LB nutrient medium with polymer hydrogels (ГГ 1 – hydrogel sample 1, ГГ 2 – hydrogel sample 2)

проявление стимуляции роста биомассы в вариантах с добавлением в питательную среду ГГ2 в концентрации 50–100 мг/мл. ОП культуры составила в среднем 0,78 опт. ед., что в 3,25 раз больше, чем в контроле. В варианте с добавлением ГГ2 в концентрации 50 мг/мл культура проходила экспоненциальную фазу развития за 10 ч, что на 4 ч быстрее, чем в контроле – с 21 по 29 ч (всего 8 ч против 6 ч в контроле), и находилась в фазе замедления роста, накапливая биомассу максимально до 1,32 опт. ед., что в 2,4 раза больше, чем в контроле. Максимальное стимулирующее влияние на рост биомассы культуры штамма *A. tumefaciens* 204 оказал ГГ2 в концентрации 100 мг/мл в стационарную фазу (0,83 опт. ед.), сроки наступления которой соответствовали таковым в контроле. В остальных вариантах опыта отмечено увеличение плотности биомассы культуры в среднем на 47,7% к контролю. Исключение составили только варианты с добавлением в питательную среду гидрогелей ГГ1 и ГГ2 в концентрации 12,5 мг/мл, не оказывавшие достоверного влияния на изменение ОП культуры штамма *A. tumefaciens* 204.

Анализ образования биопленок у микроорганизмов в присутствии полимерных гидрогелей позволил установить, что данный процесс носит штамм-специфичный характер и, по-видимому, зависит от химического состава изучаемого гидрогеля (рис. 4, 5).

При рассмотрении образования планктонной культуры необходимо отметить угнетение роста штамма *B. amyloliquefaciens* 01-1 в контрольных вариантах с добавлением в питательную среду LB ГГК (в среднем в 9,5 раз к контролю) и ГГNa (в 1,5–4 раза к контролю) во всех испытанных концентрациях. В опытном

варианте с ГГ1 и ГГ2 существенного влияния на интенсивность прироста планктонной культуры не наблюдали.

Штамм *P. polymyxa* П способствует формированию планктонной культуры с ОП суспензии на 15,2–57,2% выше, чем в контроле, лишь в контрольных вариантах с добавлением в питательную среду LB ГГК и ГГNa в концентрации 100–200 мг/мл. Исследуемый полимерный гидрогель ГГ1 в концентрации 12,5–100 мг/мл способствовал увеличению интенсивности прироста бактериальной суспензии в среднем в 8,9 раз к контролю. Гидрогель ГГ2 не оказывал существенного влияния на интенсивность прироста *P. polymyxa* П.

Культура штамма *A. tumefaciens* 204 оказалась способной активно образовывать планктонную культуру в присутствии ГГNa во всех изученных концентрациях в среднем в 3,4 раза больше по сравнению с контролем. Добавление в питательную среду эталонного гидрогеля ГГК и изучаемого ГГ1 достоверного влияния на данный показатель не оказывало, а ГГ2, напротив, проявлял тенденцию к угнетению роста в среднем на 17,2% к контролю вне зависимости от концентрации.

Отмечено, что штамм *L. nimipressurales* 32-3 способен образовывать планктонную культуру как при добавлении к питательной среде ГГК, так и ГГNa. Максимальное увеличение роста культуры наблюдали в варианте с добавлением ГГNa, где ОП культуры увеличивалась в 3,5 раза по сравнению с контролем, при добавлении ГГК – максимально в 2 раза. Изученный гидрогель ГГ1 способствовал увеличению интенсивности прироста бактериальной суспензии *L. nimipressurales* 32-3 в 7,39–11,1 раз к контролю в прямой зависимости от концентрации исследуемого вещества в питательной среде. Гидрогель ГГ2, напротив, способствовал угнетению прироста суспензии на 21,5% к контролю в максимальной исследованной концентрации 200 мг/мл, а в концентрациях менее 100 мг/мл существенного влияния на культуру *L. nimipressurales* 32-3 не оказывал.

Исследовано биопленкообразование у культур

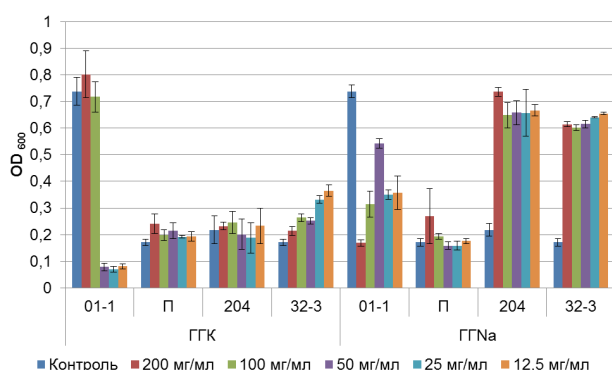


Рис. 4. Образование планктонной культуры штаммов агрономически полезных бактерий на питательной среде LB с добавлением акрилатных гидрогелей (ГГNa – полиакрилат натрия порошкообразный (SAP, Германия) и ГГК – полиакриловый суперабсорбент на основе соли калия гранулированный (SAP, Россия); 32-3 – *L. nimipressurales* 32-3, 204 – *A. tumefaciens* 204, П – *P. polymyxa* П, 01-1 – *B. amyloliquefaciens* 01-1)

Fig. 4. Formation of a planktonic culture of strains of agronomically beneficial bacteria on LB nutrient medium with the addition of acrylate hydrogels (ГГNa is powdered sodium polyacrylate (SAP, Germany) and ГГК is a polyacrylic superabsorbent based on granular potassium salt (SAP, Russia); 32-3 – *L. nimipressurales* 32-3, 204 – *A. tumefaciens* 204, П – *P. polymyxa* П, 01-1 – *B. amyloliquefaciens* 01-1)

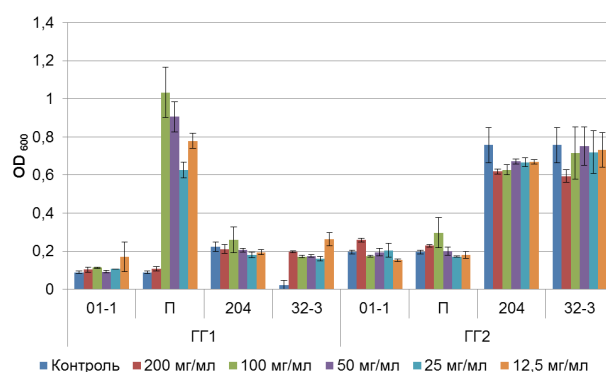


Рис. 5. Образование планктонной культуры штаммов агрономически полезных бактерий на питательной среде LB с добавлением акрилатных гидрогелей (ГГ1 – образец гидрогеля 1, ГГ2 – образец гидрогеля 2)

Fig. 5. Formation of a planktonic culture of strains of agronomically beneficial bacteria on LB nutrient medium with the addition of acrylate hydrogels (ГГ1 – hydrogel sample 1, ГГ2 – hydrogel sample 2)

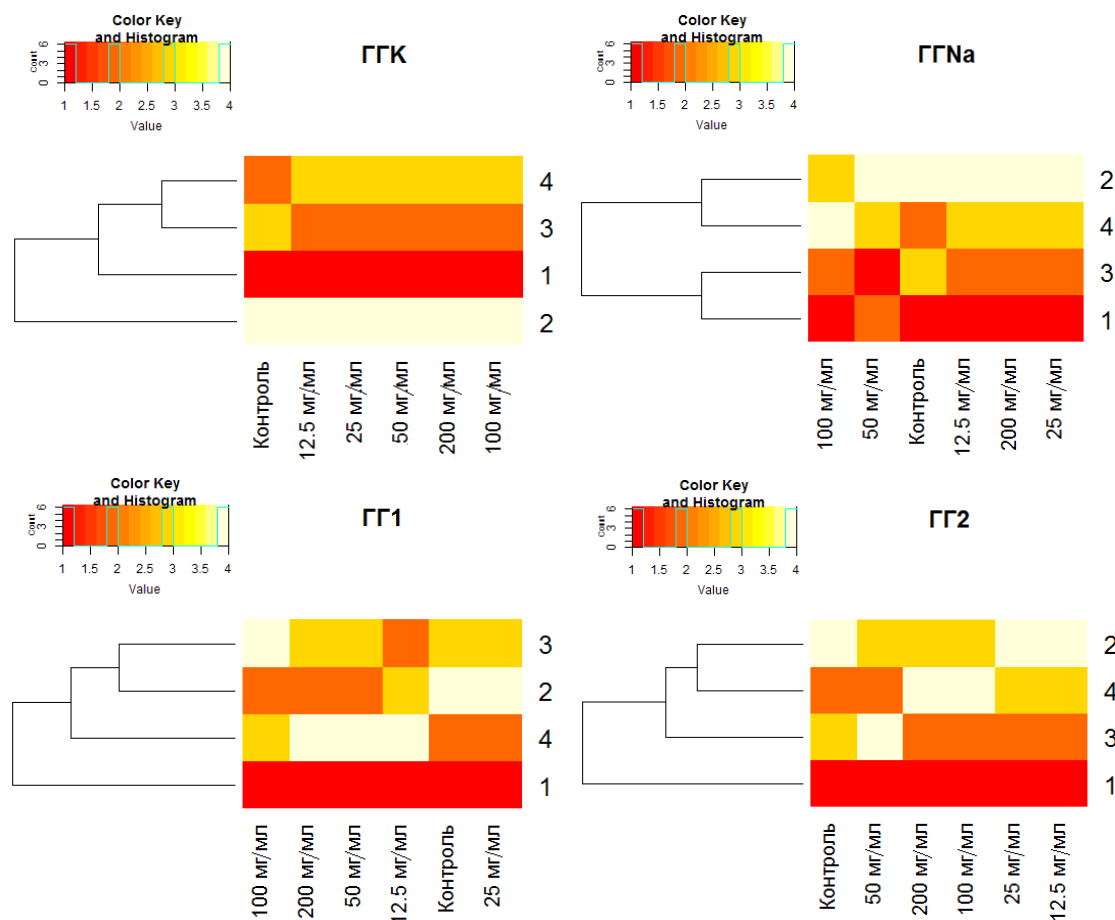


Рис. 6. Степень биопленкообразования штаммов агрономически полезных микроорганизмов в присутствии полимерных гидрогелей (1 – *L. nimipressurales* 32-3, 2 – *A. tumefaciens* 204, 3 – *P. polymyxa* П, 4 – *B. amyloliquefaciens* 01-1)
Fig. 6. Degree of agronomically useful microorganisms strains biofilm formation in the presence of polymer hydrogels (1 – *L. nimipressurales* 32-3, 2 – *A. tumefaciens* 204, 3 – *P. polymyxa* П, 4 – *B. amyloliquefaciens* 01-1)

штаммов агрономически полезных бактерий, полученных на среде LB, обогащенной контрольными (ГГК, ГГNa) и исследуемыми полимерными гидрогелями (ГГ1, ГГ2) (рис. 6). Отмечали максимальное биопленкообразование в культуре штамма *A. tumefaciens* 204 во всех исследованных концентрациях гидрогеля. Минимальное биопленкообразование у эталонных штаммов было отмечено для *L. nimipressurales* 32-3. Рассматривая влияние полимерных гидрогелей на степень биопленкообразования агрономически полезных штаммов, установили, что максимальная стимуляция биопленкообразования была отмечена в варианте с обогащением питательной среды ГГ1 в концентрациях от 12,5 до 25 мг/мл при культивировании штамма *A. tumefaciens* 204. Стимулирующий эффект наблюдали для *B. amyloliquefaciens* 01-1 во всех исследованных концентрациях.

Анализируя полученные для ГГ2 результаты, отметим, что также усиление биопленкообразования наблюдали в варианте с использованием *A. tumefaciens* 204 в концентрациях 12,5 и 25 мг/мл, что соответствовало контролю.

ВЫВОДЫ

Таким образом, в ходе проведенного исследования установлено, что штаммы *P. polymyxa* П,

A. tumefaciens 204 и энтомопатогены *B. thuringiensis* 0271, *B. thuringiensis* 0371 не проявляют признаков угнетения в зоне взаимодействия как с эталонными, так и с экспериментальными гидрогелями, а рост культур штаммов *A. vinelandii* 10702, *B. ottawaense* M-8 и *R. leguminosarum* K-29 был ингибирован во всех вариантах опыта.

Выявлено, что внесение в питательную среду LB экспериментальных гидрогелей ГГ1 и ГГ2 в концентрациях 200; 100; 50; 25 и 12,5 мг/мл способствовало синхронному прохождению фаз развития культур штаммов *B. amyloliquefaciens* 01-1 и *L. nimipressurales* 32-3 во всех вариантах. Однако исследованные суспензии гидрогелей в концентрации 200 мг/мл уменьшали ОП культур как штамма *B. amyloliquefaciens* 01-1, так и штамма *L. nimipressurales* 32-3 в среднем на 23,3 и 14,7% к контролю соответственно.

Установлено, что максимальное стимулирующее действие на рост и развитие культуры штамма *P. polymyxa* П оказывало внесение в питательную среду ГГ2 в концентрации 25 мг/мл от фазы экспоненциального развития до завершения стационарной фазы, что выражалось как в длительной (до 23 ч против 11 ч в контроле) протяженности фазы, так и в активном накоплении биомассы – в 2,6–3,1 раза

больше, чем в контроле.

Отмечено, что культура штамма *A. tumefaciens* 204 с экспоненциальной до завершения стационарной фазы развития в вариантах с добавлением в питательную среду Г2 в концентрации 50–100 мг/мл характеризовалась стимуляцией роста биомассы в среднем на 47,7% к контролю.

Показано, что образование биопленок у микроорганизмов в присутствии полимерных акрилатных гидрогелей штамм-специфично. Так, гидрогель Г1 во всех исследованных концентрациях и Г2 в концентрации 50–100 мг/мл стимулировал рост планктонной культуры и биопленки культуры штамма *A. tumefaciens* 204 максимально в 3,25 раз к контролю. Гидрогели Г1 и Г2 существенного влияния на интенсивность прироста планктонной культуры штам-

ма *B. amyloliquefaciens* 01-1 не оказывали, однако способствовали усилению биопленкообразования.

Установлено, что максимальную стимуляцию образования планктонной культуры наблюдали при обогащении питательной среды 12,5–100 мг/мл Г1 у культуры штамма *P. polymyxa* П, выражавшуюся в увеличении интенсивности прироста бактериальной суспензии в среднем в 8,9 раз к контролю. Для данного штамма отмечали стимуляцию биопленкообразования.

Выявлено, что добавление в питательную среду гидрогелей Г1 и Г2 способствовало усилению роста планктонной культуры в 2–3,5 раза, но существенного влияния на биопленкообразование отмечено не было.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Rodrigues S.H., Lima I.S., Neris L.M.L., Silva A.S., Santos N., Ariane M.S., et al. Superabsorbent hydrogels based to polyacrylamide/cashew tree gum for the controlled release of water and plant nutrients // *Molecules*. 2021. Vol. 26, no. 9. P. 119–128. <https://doi.org/10.3390/molecules26092680>.
2. Sabyasachi B., Prakash M. Superabsorbent polymers in agriculture and other applications: a review // *Polymer-Plastics Technology and Materials*. 2019. Vol. 59, no. 6. P. 1–16. <http://dx.doi.org/10.1080/25740881.2019.1647239>.
3. Рабаданов Р.Г. Абсорбционные свойства сильно набухающих полимерных гидрогелей, используемых в сельском хозяйстве // *Аграрная Россия*. 2017. N 6. С. 2–7. <http://dx.doi.org/10.30906/1999-5636-2017-6-15-18>.
4. Rizwan M., Rubina G.S., Iqbal D.A., Naseem S. Materials diversity of hydrogel: synthesis, polymerization process and soil conditioning properties in agricultural field // *Journal of Advanced Research*. 2021. Vol. 33. P. 15–40. <http://doi.org/10.1016/j.jare.2021.03.007>.
5. Наумов П.В., Щербаклова Л.Ф., Околелова А.А. Оптимизация влагообеспеченности почв с помощью полимерных гидрогелей // *Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование*. 2011. N 4. С. 77–81.
6. Guilherme M.R., Aouada F.A., Fajardo A.R., Martins A.F., Paulino A.T., Davi M.F.T., et al. Superabsorbent hydrogels based on polysaccharides for application in agriculture as soil conditioner and nutrient carrier: a review // *European Polymer Journal*. 2015. Vol. 72. P. 365–385. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.04.017>.
7. Mehrotra T., Zaman M.N., Prasad B.B., Shukla A., Aggarwal S., Singh R. Rapid immobilization of viable *Bacillus pseudomycoides* in polyvinyl alcohol/glutaraldehyde hydrogel for biological treatment of municipal wastewater // *Environmental Science and Pollution Research*. 2020. Vol. 27, no. 9. P. 9167–9180. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07296-z>.
8. Du X., Zhou J., Shi J., Xu B. Supramolecular hydrogelators and hydrogels: from soft matter to molecular biomaterials // *Chemical Reviews*. 2015. Vol. 115, no. 24. P. 13165–13307. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00299>.
9. Lipowczan A., Trochimczuk A.W. Phosphates-containing interpenetrating polymer networks (IPNs) acting as slow release fertilizer hydrogels (SRFHs) suitable for agricultural applications // *Materials*. 2021. Vol. 14, no. 11. P. 2893. <https://doi.org/10.3390/ma14112893>.
10. Abd El-Aziz M.E., Morsi S.M.M., Salama D.M., Abdel-Aziz M.S., Abd Elwahed M.S., Shaaban E.A., et al. Preparation and characterization of chitosan/polyacrylic acid/copper nanocomposites and their impact on onion production // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019. Vol. 123. P. 856–865. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.155>.
11. Allcock H.R., Pucher S.R., Fitzpatrick R.J., Rashid K. Antibacterial activity and mutagenicity studies of water-soluble phosphazene high polymers // *Biomaterials*. 1992. Vol. 13, no. 12. P. 857–862. [https://doi.org/0142-9612\(92\)90179-R](https://doi.org/0142-9612(92)90179-R).
12. Praepanitchai O.A., Noomhorm A., Anal A.K. Survival and behavior of encapsulated probiotics (*Lactobacillus plantarum*) in calcium-alginate-soy protein isolate-based hydrogel beads in different processing conditions (pH and temperature) and in pasteurized mango juice // *BioMed Research International*. 2019. P. 9768152. <https://doi.org/10.1155/2019/9768152>.
13. Inal M., Yigitoglu M. Improvement of bioethanol productivity of immobilized *Saccharomyces bayanus* with using sodium alginate-graft-poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) matrix // *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2012. Vol. 168, no. 2. P. 266–278. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9770-0>.
14. Rosenberg M., Rebros M., Kristofikova L., Malatova K. High temperature lactic acid production by *Bacillus coagulans* immobilized in LentiKats // *Biotechnology Letters*. 2005. Vol. 27, no. 23-24. P. 1943–1947. <https://doi.org/10.1007/s10529-005-3907-y>.
15. Yang K., Han Q., Chen B., Zheng Y., Zhang K., Li Q., et al. Antimicrobial hydrogels: promising materials for medical application // *International Journal of Nanomedicine*. 2018. Vol. 13. P. 2217–2263. <https://doi.org/10.2147/IJN.S154748>.
16. Spagnul C., Greenman J., Wainwright M., Kamil Z., Boyle R.W. Synthesis, characterization and biological evaluation of a new photoactive hydrogel against gram-positive and gram-negative bacteria // *Journal of Materials Chemistry B*. 2016. Vol. 4, no. 8. P. 1499–

1509. <https://doi.org/10.1039/C5TB02569A>.

17. Smith M.J., Francis M.B. Methods for generating microbial cocultures that grow in the absence of fixed carbon or nitrogen // *Methods in Molecular Biology*. 2018. Vol. 1772. P. 45–60.

18. Grumezescu A.M., Holban A.M. Materials for biomedical engineering. Hydrogels and polymer-based scaffolds. Amsterdam: Elsevier, 2019. 562 p.

19. Kretschmer M., Lieleg O. Chelate chemistry governs ion-specific stiffening of *Bacillus subtilis* B-1 and *Azotobacter vinelandii* biofilms // *Biomaterials Science*. 2020. Vol. 8, no. 7. P. 1923–1933. <https://doi.org/10.1039/C9BM01763A>.

20. Snigdha S., Kalarikkal N., Thomas S., Radhakrishnan E.K. Laponite clay/poly(ethylene oxide) gel beads for delivery of plant growth-promoting rhizobacteria // *Bulletin of Materials Science*. 2021. Vol. 44, no. 2. P. 215–228. <https://doi.org/10.1007/s12034-021-02383-9>.

21. Лавлинская М.С., Сорокин А.В. Разработка технологии получения суперабсорбента на основе отходов растениеводства // *Материалы китайско-российского конкурса инноваций и предпринимательства – 2020. Воронеж, 2021. С. 34–37.*

22. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии / пер. с венг. И.Ф. Куренного. М.: Колос, 1983. 296 с.

23. Анганова Е.В., Савилов Е.Д., Ушкарева О.А., Аблов А.М., Духанина А.В. Способность патогенных и условнопатогенных энтеробактерий к формированию

биопленок // *Acta Biomedica Scientifica*. 2014. N 5. С. 34–37.

24. Савилов Е.Д., Маркова Ю.А., Немченко У.М., Носкова О.А., Чемезова Н.Н., Кунгурцева Е.А. [и др.]. Способность к биопленкообразованию у возбудителей инфекций, выделенных от пациентов крупного многопрофильного детского стационара // *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2020. Т. 1. С. 32–35.

25. O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis // *Molecular Microbiology*. 1998. Vol. 28, no. 3. P. 449–461. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x>.

26. Ярец Ю.И., Шевченко Н.И. Новый метод анализа бактериальной биопленки // *Наука и инновации*. 2016. Т. 10. С. 64–68.

27. Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J., Baddour L.M., Barrett F.F., Melton D.M., et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of *Staphylococci* to medical devices // *Journal of Clinical Microbiology*. 1985. Vol. 22, no. 6. P. 996–1006.

28. Хайлафян А.А. Современные статистические методы медицинских исследований. М.: ЛЕНАРД, 2014. 320 с.

29. Luke D.A. A User's guide to network analysis in R. Springer, 2015. P. 94–95. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23883-8_2.

REFERENCES

1. Rodrigues S.H., Lima I.S., Neris L.M.L., Silva A.S., Santos N., Ariane M.S., et al. Superabsorbent hydrogels based to polyacrylamide/cashew tree gum for the controlled release of water and plant nutrients. *Molecules*. 2021;26(9):119–128. <https://doi.org/10.3390/molecules26092680>.

2. Sabyasachi B., Prakash M. Superabsorbent polymers in agriculture and other applications: a review. *Polymer-Plastics Technology and Materials*. 2019;59(6):1–16. <http://dx.doi.org/10.1080/25740881.2019.1647239>.

3. Rabadanov R.G. Absorption properties of highly swelling polymeric hydrogels used in agriculture. *Agrar-naya Rossiya*. 2017;(6):2–7. (In Russian). <http://dx.doi.org/10.30906/1999-5636-2017-6-15-18>.

4. Rizwan M., Rubina G.S., Iqbal D.A., Naseem S. Materials diversity of hydrogel: synthesis, polymerization process and soil conditioning properties in agricultural field. *Journal of Advanced Research*. 2021;33:15–40. <http://doi.org/10.1016/j.jare.2021.03.007>.

5. Naumov P.V., Shcherbakova L.F., Okolelova A.A. Soil moisture optimization using polymer hydrogels. *Izvestiya nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: nauka i vysshee professional'noe obrazovanie = Proceedings of Lower Volga Agro-University Complex: Science and Higher Education*. 2011;(4):77–81. (In Russian).

6. Guilherme M.R., Aouada F.A., Fajardo A.R., Martins A.F., Paulino A.T., Davi M.F.T., et al. Superabsorbent hydrogels based on polysaccharides for application in agriculture as soil conditioner and nutrient carrier: a review. *European Polymer Journal*. 2015;72:365–385. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.04.017>.

7. Mehrotra T., Zaman M.N., Prasad B.B., Shukla A., Aggarwal S., Singh R. Rapid immobilization of viable *Bacillus pseudomyces* in polyvinyl alcohol/glutaraldehyde hydrogel for biological treatment of municipal wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020;27(9):9167–9180. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07296-z>.

8. Du X., Zhou J., Shi J., Xu B. Supramolecular hydrogelators and hydrogels: from soft matter to molecular biomaterials. *Chemical Reviews*. 2015;115(24):13165–13307. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00299>.

9. Lipowczan A., Trochimczuk A.W. Phosphates-containing interpenetrating polymer networks (IPNs) acting as slow release fertilizer hydrogels (SRFHs) suitable for agricultural applications. *Materials*. 2021;14(11):2893. <https://doi.org/10.3390/ma14112893>.

10. Abd El-Aziz M.E., Morsi S.M.M., Salama D.M., Abdel-Aziz M.S., Abd Elwahed M.S., Shaaban E.A., et al. Preparation and characterization of chitosan/polyacrylic acid/copper nanocomposites and their impact on onion production. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019;123:856–865. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.155>.

11. Allcock H.R., Pucher S.R., Fitzpatrick R.J., Rashid K. Antibacterial activity and mutagenicity studies of water-soluble phosphazene high polymers. *Biomaterials*. 1992;13(12):857–862. [https://doi.org/0142-9612\(92\)90179-R](https://doi.org/0142-9612(92)90179-R).

12. Praepanitchai O.A., Noomhorm A., Anal A.K. Survival and behavior of encapsulated probiotics (*Lactobacillus plantarum*) in calcium-alginate-soy protein isolate-based hydrogel beads in different processing con-

ditions (pH and temperature) and in pasteurized mango juice. *BioMed Research International*. 2019;9768152. <https://doi.org/10.1155/2019/9768152>.

13. Inal M., Yigitoglu M. Improvement of bioethanol productivity of immobilized *Saccharomyces bayanus* with using sodium alginate-graft-poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) matrix. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 2012;168(2):266-278. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9770-0>.

14. Rosenberg M., Rebros M., Kristofikova L., Malatova K. High temperature lactic acid production by *Bacillus coagulans* immobilized in LentiKats. *Biotechnology Letters*. 2005;27(23-24):1943-1947. <https://doi.org/10.1007/s10529-005-3907-y>.

15. Yang K., Han Q., Chen B., Zheng Y., Zhang K., Li Q., et al. Antimicrobial hydrogels: promising materials for medical application. *International Journal of Nanomedicine*. 2018;13:2217-2263. <https://doi.org/10.2147/IJN.S154748>.

16. Spagnul C., Greenman J., Wainwright M., Kamil Z., Boyle R.W. Synthesis, characterization and biological evaluation of a new photoactive hydrogel against gram-positive and gram-negative bacteria. *Journal of Materials Chemistry B*. 2016;4(8):1499-1509. <https://doi.org/10.1039/C5TB02569A>.

17. Smith M.J., Francis M.B. Methods for generating microbial cocultures that grow in the absence of fixed carbon or nitrogen. *Methods in Molecular Biology*. 2018;1772:4560.

18. Grumezescu A.M., Holban A.M. *Materials for biomedical engineering. Hydrogels and polymer-based scaffolds*. Amsterdam: Elsevier; 2019. 562 p.

19. Kretschmer M., Lieleg O. Chelate chemistry governs ion-specific stiffening of *Bacillus subtilis* B-1 and *Azotobacter vinelandii* biofilms. *Biomaterials Science*. 2020;8(7):1923-1933. <https://doi.org/10.1039/C9B-M01763A>.

20. Snigdha S., Kalarikkal N., Thomas S., Radhakrishnan E.K. Laponite clay/poly(ethylene oxide) gel beads for delivery of plant growth-promoting rhizobacteria. *Bulletin of Materials Science*. 2021;44(2):215-228.

<https://doi.org/10.1007/s12034-021-02383-9>.

21. Lavlinskaya M.S., Sorokin A.V. Development of technology for obtaining superabsorbent based on crop waste. *Materialy kitaisko-rossiiskogo konkursa innovatsii i predprinimatel'stva – 2020 = Materials of the Chinese-Russian Innovation and Entrepreneurship Competition – 2020*. Voronezh, 2021; p. 34-37. (In Russian).

22. Szegi J. Talajmikrobiológiai vizsgálati módszerek; 1979. (Russ. ed.: Segi I. *Metody pochvennoi mikrobiologii*. Moscow: Kolos; 1983. 296 p.). (In Russian).

23. Anganova E.V., Savilov E.D., Ushkareva O.A., Ablov A.M., Dukhanina A.V. The ability of pathogenic and opportunistic enterobacteria to form biofilms. *Acta Biomedica Scientifica*. 2014;(5):34-37.

24. Savilov E.D., Markova Y.A., Nemchenko U.M., Noskova O.A., Chemezova N.N., Kungurtseva E.A., et al. The ability to biofilm formation in pathogens isolated from patients of a large multidisciplinary children's hospital. *Tikhookeanskii meditsinskii zhurnal = Pacific Medical Journal*. 2020;1:32-35. (In Russian).

25. O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Molecular Microbiology*. 1998;28(3):449-461. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x>.

26. Yarets Yu.I., Shauchenka N.I. A new method for the bacterial biofilms analysis in medicine. *Nauka i innovatsii*. 2016;10:64-68. (In Russian).

27. Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J., Baddour L.M., Barrett F.F., Melton D.M., et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of *Staphylococci* to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*. 1985;22(6):996-1006.

28. Khailafyan A.A. *Modern statistical methods of medical research*. Moscow: LENARD; 2014. 320 p. (In Russian).

29. Luke D.A. *A User's guide to network analysis in R*. Springer; 2015, p. 94-95. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23883-8_2.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Крыжко Анастасия Владимировна,
к.с.-х.н., ведущий научный сотрудник лаборатории
молекулярной генетики, протеомики
и биоинформатики в сельском хозяйстве,
Научно-исследовательский институт сельского
хозяйства Крыма,
295453, г. Симферополь, ул. Киевская, 150,
Российская Федерация,
ank_lib@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5401-0579>

Дидович Светлана Витальевна,
к.с.-х.н., ведущий научный сотрудник,
Научно-исследовательский институт сельского
хозяйства Крыма,
295453, г. Симферополь, ул. Киевская, 150,
Российская Федерация,
sv-alex.68@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6569-0602>

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Anastasiia V. Kryzhko,
Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher,
Laboratory of Molecular Genetics, Proteomics
and Bioinformatics in Agriculture,
Research Institute of Agriculture of Crimea,
150, Kievskaya St., Simferopol, 295453,
Russian Federation,
ank_lib@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5401-0579>

Svetlana V. Didovich,
Cand. Sc. (Agriculture), Leading Researcher,
Research Institute of Agriculture of Crimea,
150, Kievskaya St., Simferopol, 295493,
Russian Federation,
sv-alex.68@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-6569-0602>

Сорокин Андрей Викторович,
младший научный сотрудник лаборатории
метагеномики и пищевых биотехнологий,
Воронежский государственный университет
инженерных технологий,
394036, г. Воронеж, пр. Революции, 19,
Российская Федерация;
младший научный сотрудник кафедры биофизики
и биотехнологии,
Воронежский государственный университет,
394018, г. Воронеж, Университетская пл., 1,
Российская Федерация;
младший научный сотрудник НИЛ «Биоресурсный
потенциал приморской территории»,
Севастопольский государственный университет,
299053, г. Севастополь, ул. Студенческая, 33,
Российская Федерация,
andrew.v.sorokin@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-5268-9557>

Лавлинская Мария Сергеевна,
старший научный сотрудник лаборатории
метагеномики и пищевых биотехнологий,
Воронежский государственный университет
инженерных технологий,
394036, г. Воронеж, пр. Революции, 19,
Российская Федерация;
старший научный сотрудник кафедры биофизики
и биотехнологии,
Воронежский государственный университет,
394018, г. Воронеж, Университетская пл., 1,
Российская Федерация;
старший научный сотрудник НИЛ «Биоресурсный
потенциал приморской территории»,
Севастопольский государственный университет,
299053, г. Севастополь, ул. Студенческая, 33,
Российская Федерация,
maria.lavlinskaya@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9058-027X>

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили окончательный
вариант рукописи.*

Информация о статье

Поступила в редакцию 09.10.2022.
Одобрена после рецензирования 27.01.2023.
Принята к публикации 28.02.2023.

Andrey V. Sorokin,
Junior Researcher,
Metagenomics and Food Biotechnologies Laboratory,
Voronezh State University of Engineering Technologies,
19, Revolutsii Ave., Voronezh, 394036,
Russian Federation;
Junior Researcher,
Biophysics and Biotechnology Department,
Voronezh State University,
1, Universitetskaya Sq., Voronezh, 394018,
Russian Federation;
Junior Researcher,
Bioresource Potential of the Seaside Territory
Laboratory,
Sevastopol State University,
33, Studencheskaya St., Sevastopol, 299053,
Russian Federation,
andrew.v.sorokin@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-5268-9557>

Maria S. Lavlinskaya,
Senior Researcher,
Metagenomics and Food Biotechnologies Laboratory,
Voronezh State University of Engineering Technologies,
19, Revolutsii Ave., Voronezh, 394036,
Russian Federation;
Senior Researcher,
Biophysics and Biotechnology Department,
Voronezh State University,
1, Universitetskaya Sq., Voronezh, 394018,
Russian Federation;
Senior Researcher,
Bioresource Potential of the Seaside Territory
Laboratory,
Sevastopol State University,
33, Studencheskaya St., Sevastopol, 299053,
Russian Federation,
maria.lavlinskaya@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9058-027X>

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests regarding
the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved by all
the co-authors.*

Information about the article

The article was submitted 09.10.2022.
Approved after reviewing 27.01.2023.
Accepted for publication 28.02.2023.