

УДК: 663.1; 579.6

ГЛИБИННЕ КУЛЬТИВУВАННЯ ШТАМУ PSEUDOMONAS SYNXANTHA УКМ В-399 В ПЕРІОДИЧНОМУ ПРОЦЕСІ

Фарфоламеєва Д.О.¹, Клочко В.В.^{1,2},

¹КПІ ім. Ігоря Сікорського, farfolameieva.diana@iit.kpi.ua

² Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Використання бактеріальних культур для розробки мікробних препаратів почалося ще у 50-х роках минулого століття і зараз набуло досить широкого вжитку. Основою для таких препаратів виступають ризосферні мікроорганізми, що відносяться до групи PGPR - “Plant Growth Promoting Rhizobacteria”. Дані організми характеризуються тим, що густо населяють прикореневу зону рослин та здатні до стимуляції росту останніх. Найбільш часто зустрічаються PGPR-штами серед родів *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Klebsiella* та ін. [1]. Особливої уваги заслуговують представники роду *Pseudomonas*, зокрема флуоресцентні псевдомонади, через їх здатність до синтезу широкого спектру сполук фітостимулювальної та антимікробної дії, до яких відносяться і такі гетероциклічні сполуки як феназини. Види *P. fluorescens* [2], *P. synxantha* [3], *P. corrugata* [4], *P. chlororaphis* [5], *P. protegens* [6] можуть використовуватися як біологічні агенти для створення мікробних препаратів.

Метою нашої роботи було дослідження процесу глибинного культивування штаму *P. synxantha* УКМ В-399.

Матеріали та методи. Штам *P. synxantha* УКМ В-399 відібрано методом скринінгу з Української колекції мікроорганізмів. Штам характеризувався високою антагоністичною активністю щодо широкого спектру фітопатогенних грибів і бактерій [7]. Для культивування використовувалося рідке поживне середовище Кінг Б №1 наступного складу (%): пептон – 2,0; K_2HPO_4 – 0,15; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,15; гліцерин – 1,0; дистильована вода – 1л. Вирощування проводили в колбах Ерленмейера об'ємом 750 мл на круговій качалці (220 об/хв) за температури $28 \pm 2^\circ C$ протягом 75 год. Ріст культури визначався за оптичною густиною фотоколориметричним методом.

Результати та обговорення. Нами було встановлено, що процес розвитку *P. synxantha* УКМ В-399 в умовах глибинного культивування на качалках проходить приблизно за 65-68 год, після чого культура переходить в фазу відмирання. Також зазначимо, що активний ріст штаму припиняється після 39-40 год з переходом *P. synxantha* УКМ В-399 в стаціонарну фазу (рис.1). Отримані дані узгоджуються з результатами інших дослідників, де зазначається, що тривалість росту багатьох продуцентів антимікробних сполук складає 48-72 год [8].

Окремо виділимо здатність штаму *P. synxantha* УКМ В-399 в процесі свого культивування змінювати початковий колір

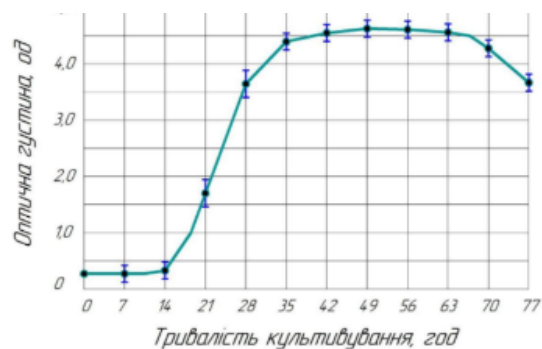


Рис. 1. Динаміка росту *P. synxantha* УКМ В-399 на середовищі Кінг Б

поживного середовища. Так, культуральна рідина в кінці процесу мала жовто-помаранчевий колір за кімнатного освітлення (рис. 2).

Це може бути пов'язано з синтезом похідних феназінів, включаючи їх окиснені форми. УФ-освітлення культуральної рідини надавало їй жовто-зеленого забарвлення. За даними літератури накопичення флуоресцентними псевдомонадами ряду сполук призводить до появи характерного забарвлення поживних середовищ.

За даний колір найчастіше відповідають піовердин, піохелін та комплекс Fe^{3+} з піовердином, що синтезуються штамми псевдомонад [9].

Висновки. За результатами проведених досліджень нами були визначені основні фази росту штаму *P. synxantha* УКМ В-399 в періодичному процесі глибинного культивування. Встановлено часові проміжки тривалості кожної окремої фази. Також була підтверджена наявність флуоресцентних пігментів у культуральній рідині, що є типовою ознакою для групи флуоресцентних псевдомонад, до яких відноситься і *P. synxantha* УКМ В-399. Отримані дані можуть стати основою біотехнологічної розробки мікробного препарату для використання його в сільському господарстві.

Список використаної літератури:

1. Kalita M, Bharadwaz M, Dey T, et al. Developing novel bacterial based bioformulation having PGPR properties for enhanced production of agricultural crops. *Indian Journal of Experimental Biology* 2015; **53**(1):56–60.
2. Mavrodi D V., Parejko JA, Mavrodi O V., et al. Recent insights into the diversity, frequency and ecological roles of phenazines in fluorescent *Pseudomonas* spp. *Environmental Microbiology* 2013; **15**(3):675–686.
3. Wechter WP, Begum D, Presting G, Kim JJ, Wing RA, Kluepfel DA. Physical mapping, BAC-end sequence analysis, and marker tagging of the soilborne nematicidal bacterium, *Pseudomonas synxantha* BG33R. *OMICS A Journal of Integrative Biology* 2002; **6**(1):11–21.
4. Ross IL, Alami Y, Harvey PR, Achouak W, Ryder MH. Genetic Diversity and Biological Control Activity of Novel Species of Closely Related *Pseudomonads* Isolated from Wheat Field Soils in South Australia. *Applied and Environmental Microbiology* 2000; **66**(4):1609–1616.
5. Raio A, Puopolo G. *Pseudomonas chlororaphis* metabolites as biocontrol promoters of plant health and improved crop yield. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2021; **37**(6):99.
6. Ruiz JA, Bernar EM, Jung K. Production of Siderophores Increases Resistance to Fusaric Acid in *Pseudomonas protegens* Pf-5. Devireddy Iax, ed. *PLOS ONE* 2015; **10**(1):e0117040.
7. Клочко ВВ, Зелена ЛБ, Чугунова КО, et al. Штам *Pseudomonas* sp. 2303 — активний антагоніст фітопатогенів та його антибіотичні властивості. *Доповіді Національної академії наук України* 2014; **10**:161–166.
8. Логинов ОН. *Бактерии Pseudomonas и Azotobacter как объекты сельскохозяйственной биотехнологии*. Москва: Наука; 2005.
9. Priska Sacherer, Défago G, Haas D. Extracellular protease and phospholipase C are controlled by the global regulatory gene *gacA* in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *FEMS Microbiology Letters* 1994; **116**(2):155–160.

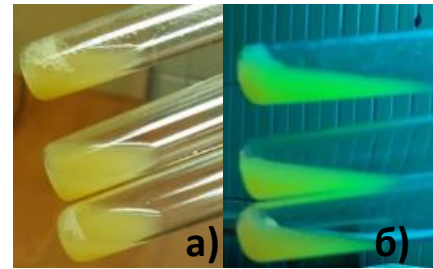


Рис. 2. Культуральна рідина за кімнатного (а) та УФ (б) освітлення