ВПЛИВ ТРИПТОФАНУ ТА ЕРИТРИТОЛУ НА АНТИМІКРОБНУ ДІЮ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS* IMB Ac-5017

Воробей А.М.[1], Пирог Т.П.[1,2], Шевчук Т.А.[2]
[1]Національний університет харчових технологій
[2]Інститут мікробіології і вірусології НАН України
vorobei.anna.biotech@gmail.com

Abstract

This article focuses on the study of the phytohormones precursors influence on the biological activity of Rhodococcus erythropolis IMV Ac-5017 surfactants against phytopathogenic bacteria. It was found that in their presence in the cultivation medium of IMV Ac-5017 strain the obtained surfactants had 2-4 times higher antimicrobial activity compared to the preparations without precursors.

Keywords: *surfactants, phytopathogenic bacteria, phytohormones, precursors.*

Вступ. У попередніх дослідженнях [1] було встановлено здатність ізольованого нами штаму *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017 до одночасного синтезу фітогормонів (ауксини, цитокініни, гібереліни) та поверхнево-активних речовин (ПАР), що характеризувалися високою антимікробною щодо фітопатогенних бактерій активністю. Зважаючи на спектр синтезованих екзометаболітів *R. erythropolis* IMB Ac-5017, реалізація даної інтегрованої технології дає змогу отримати комплексний мікробний препарат для подальшого його використання у рослинництві як рістстимулювальний і антимікробний засіб. Разом з тим, концентрація синтезованих ауксинів та гіберелінів була низькою, що знижувало ефективність практичного використання такого комплексного препарату у рослинництві. У подальших дослідженнях було показано можливість підвищення ефективності інтегрованої технології в результаті збільшення концентрації ауксинів та гіберелінів за рахунок внесення у середовище культивування продуцента попередників біосинтезу цих фітогормонів – триптофану та еритритолу відповідно. Однак біологічна активність ПАР, як і інших вторинних метаболітів, може змінюватися у разі зміни умов культивування продуцента. Отже, немає гарантій того, що ПАР *R. erythropolis* IMB Ac-5017, синтезовані за умов інтенсифікації синтезу фітогормонів, будуть характеризуватися необхідною для практичного використання високою антимікробною щодо фітопатогенних бактерій активністю. У зв'язку з викладеним вище мета роботи полягала у дослідженні біологічної щодо фітопатогенних бактерій активності ПАР *R. erythropolis* IMB Ac-5017, одержаних за умов максимального синтезу гіберелінів.

Матеріали та методи. Культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 здійснювали у рідкому мінеральному середовищі наступного складу (г/л): $NaNO_3$ – 1.3, NaCl – 1.0, $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ – 0.6, KH_2PO_4 – 0.14, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0.1, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0.001, pH 6.8–7.0. Джерело вуглецю та енергії – відпрацьована олія у концентрації 2 % (об'ємна частка). Еритритол (500 мг/л) та триптофан (300 мг/л) вносили у середовище культивування у лаг-фазі росту штаму IMB B-7241. Вирощування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 здійснювали у колбах об'ємом 750 мл,

що містили 100 мл середовища, на качалці (320 об/хв) при 28–30 ºС протягом 7 діб. Позаклітинні ПАР виділяли, використовуючи модифікований метод Блайя і Дайєра, який передбачає їх екстракцію сумішшю хлороформу, метанолу (2:1) і 1М HCl з супернатанту культуральної рідини та дозволяє максимально повно виділити як полярні, так і неполярні ліпіди.

Біологічну активність ПАР аналізували за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК), яку визначали методом двократних серійних розведень у м'ясо-пептонному бульйоні. Результати оцінювали візуально за помутнінням середовища: (+) – пробірки, в яких спостерігали помутніння середовища (ріст тест-культури), (−) – помутніння не було (ріст відсутній). Мінімальну інгібуючу концентрацію розчину ПАР визначали як концентрацію ПАР в останній пробірці, де ріст був відсутній.

Як тест-культури для визначення антимікробної активності поверхнево-активних речовин використовували фітопатогенні бактерії *Clavibacter michiganensis* IMB B-10_2, *Xanthomonas vesicatoria* УКМ B-1106, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* IMB B-9167, *Pseudomonas syringae* УКМ B-1027^T, люб'язно надані працівниками відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Результати та обговорення. Встановлено, що за наявності триптофану та еритритолу у середовищі культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 спостерігали синтез поверхнево-активних речовин, антимікробна активність яких щодо досліджуваних тест-культур була у 2−4 разів вищою порівняно з встановленою для ПАР, одержаних у середовищі без попередників біосинтезу фітогормонів. Крім того, синтезовані за наявності триптофану та еритритолу поверхнево-активні речовини характеризувалися достатньо високою антимікробною щодо фітопатогенних бактерій активністю, про що свідчили низькі показники МІК, які перебували у межах 3,125-25 мкг/мл. Так, мінімальні інгібуючі концентрації ПАР *R. erythropolis* IMB Ac-5017, синтезованих у середовищі з еритритолом та триптофаном, щодо тест-культур становили (мкг/мл): *C. michiganensis* IMB B-10_2 – 6,25, *X. vesicatoria* УКМ B-1106 – 6,25, *P. syringae* pv. *tomato* IMB B-9167 – 3,125, *Pseudomonas syringae* УКМ B-1027^T – 25.

Таким чином, внесення попередників біосинтезу фітогормонів у середовище культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 дало змогу збільшити не тільки концентрацію ауксинів та гіберелінів, а й суттєво підвищити антимікробну щодо фітопатогенних бактерій активність синтезованих поверхнево-активних речовин, а отже, й ефективність використання комплексного мікробного препарату у рослинництві.

Список використаної літератури:

1. Leonova N., Pirog T., Piatetska D., Shevchuk T., Kharkhota M., Iutynska G. Synthesis of gibberellins by surfactant producers *Nocardia vaccinii* IMV B-7405, *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 and *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017. *Scientific Study & Research.* 2020, 21 (4): 497 – 509.