ЭКОБИОТЕХ
ISSN 2618-964X http://ecobiotech-journal.ru

УДК 579.64

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА НАКОПЛЕНИЕ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ БАКТЕРИЙ РОДА *JANTHINOBACTERIUM*

Мильман П.Ю., Гильванова Е.А., Актуганов Г.Э.

Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия
E-mail: milman.polina@gmail.ru

В работе использовали три штамма бактерий рода *Janthinobacterium* IB-ST-GO, UIB-ST-GOLI и IB-ST-GOR – продуценты продигиозина и виолацеина, выделенные из подземного карстового озера пещеры Шульган-Таш. У исследуемых штаммов обнаружены различные паттерны накопления пигментов и индол-3-уксусной кислоты (ИУК) на питательных средах LB 0.5 и Кинг Б. Уровень виолацеина у штамма UIB-ST-GO на среде Кинг Б достигал максимального и скачкообразного значения (67.2 мкг/мл), тогда как на среде LB 0.5 определялся стабильно высокий уровень (55 мкг/мл) пигмента в течение 3-5 суток. Для штамма IB-ST-GOR максимумы продигиозина детектировали на уровне 6.9 и 7.4 мкг/мл соответственно на средах LB 0.5 и Кинг Б на 3 сутки. Максимумы выходов ИУК у всех штаммов фиксировали на среде Кинг Б на 4 сутки, и они превышали значения ИУК на среде LB 0.5 для штаммов IB-ST-GO, IB-ST-GOR и IB-ST-GOLI в 1.8, 2.3 и 1.4 раза соответственно. Ростстимулирующую активность у исследуемых штаммов проверяли на семисуточных проростках пшеницы. Обработка штаммами UIB-ST-GOLI и IB-ST-GO приводила к увеличению длины корней пшеницы в 1.3 и в 1.5 раза по сравнению с контролем соответственно. Положительный эффект обработки штаммом IB-ST-GOR проявился в достоверном увеличении количества корней у проростков растения на 29.7% по сравнению с контролем.

Ключевые слова: Janthinobacterium ◆ вторичные метаболиты ◆ пигмент ◆ ИУК ◆ PGP-свойства

UDC 579.64

THE EFFECT OF NUTRIENT COMPOSITION ON THE ACCUMULATION OF SECONDARY METABOLITES FROM *JANTHINOBACTERIUM*

Milman P.Yu., Gilvanova E.A., Aktuganov G.E.

Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia
E-mail: milman.polina@gmail.ru

The strains of *Janthinobacterium* IB-ST-GO, UIB-ST-GOLI and IB-ST-GOR, producers of prodigiosin and violacein, isolated from the underground karst lake of the Shulgan-Tash cave were used in the work. Various patterns of accumulation of pigments and indole-3-acetic acid (IAA) on media LB 0.5 and King B were found for the strains. A maximum of violacein from UIB-ST-GO on media King B reached and abrupt value (67.2 µg/ml), whereas on media LB 0.5 was determined a consistently high level (55 µg/ml) for 3-5 days. For IB-ST-GOR, maximum prodigiosin were detected at 6.9 and 7.4 µg/ml, respectively, on media LB 0.5 and King B on 3 days. The maximum yields of IAA in all strains were recorded on media King B on 4 days, and they exceeded the IAA values on media LB 0.5 for IB-ST-GO, IB-ST-GOR and IB-ST-GOLI by 1.8, 2.3 and 1.4 times, respectively. The growth-stimulating activity of the strains was tested on 7 daily wheat seedlings. Treatment with UIB-ST-GOLI and IB-ST-GO increased the length of wheat roots by 1.3 and 1.5 times compared to the control, respectively. The positive effect of treatment with IB-ST-GOR was manifested in a significant increase in the number of roots in plant seedlings by 29.7% compared with the control.

Keywords: Janthinobacterium ◆ secondary metabolites ◆ pigment ◆ IAA ◆ PGP-properties

Поступила в редакцию: 10.03.2025 *Принято в печать: 26.03.2025*

Цитировать | Cite as

DOI: 10.31163/2618-964X/2025-7 EDN: PDFOHE

ВВЕДЕНИЕ

Бактерии рода *Janthinobacterium* достаточно широко распространены в природе и обнаружены в озерных отложениях, почве, олиготрофных грунтовых вод, в ассоциациях с амфибиями, рыбами, водными растениями, а также в высокогорных и суровых условиях Антарктиды с уникальной способностью к выживанию и колонизации новых эконишь [Alonso-Sáez et al., 2014; Haack et al., 2016].

Janthinobacterium продуцируют различные пигменты такие как виолацеин [Pantanella et al., 2007], пурпурно-фиолетовый пигмент [Mojib et al., 2010], голубовато-фиолетовый пигменты [Shirata et al., 2000]. Также янтинобактерии синтезируют противогрибковые метаболиты, такие как продигиозин [Schloss et al., 2010] и пептидно-лактонные антибиотики джантиноцин A, B и C [Johnson et al., 1990]. Виолацеин и продигизион обладают широким спектром биологических активностей, включая противоопухолевый, бактериостатический и антибиотический, противогрибковый, антипротозойный потенциал, противораковые и противовирусные свойства [Aman et al., 2022].

Ризосфера содержит широкий спектр питательных веществ и является важной нишей для выживания и активности микроорганизмов. Микробный хемотаксис и последующая конкуренция за питательные вещества могут привести к тому, что наиболее приспособленные микроорганизмы будут обитать в ризосфере определенного растения-хозяина. Микроорганизмы, населяющие корни и ризосферу, могут помогать растениям справляться с биотическими и абиотическими стрессами и тем самым способствовать росту растений в неблагоприятных условиях окружающей среды [Glick, 2012; Rolli et al., 2015; Timmusk et al., 2017].

Помимо упомянутых выше типичных для *Janthinobacterium* эконишь, встречаются исследования об этих бактериях, выделенных из эндосферы и ризосферы дерновых трав [Xia et al., 2021], с корней желтого ириса [Shurigin et al., 2022], стеблей перца [Kang et al., 2007]. Таксономический анализ ризосферы и эндосферы дерновых трав показал, что вид *Janthinobacterium lividum* был доминирующим и составлял ∼15% от общей численности бактериального сообщества [Xia et al., 2021]. Янтинобактерии в ризосфере пшеницы проявили антагонизм против ряда почвенных патогенов, включая *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* и *Rhizoctonia oryzae* [Yin et al., 2020]. Бактерии *Janthinobacterium* также были более многочисленными в ризосфере незараженной виноградной лозы по сравнению с виноградной лозой, инфицированной грибковыми патогенами [Saccà et al., 2019]. Кроме того, было обнаружено, что *Janthinobacterium* способны стимулировать рост растений за счет снижения поглощения растениями тяжелых металлов (цинка) и продукции ИУК в небольшом количестве [Kuffner et al., 2008]. Совместное действие бактерий *Janthinobacterium* и *Rhodococcus* spp. приводит к эффективному разложению 2,4-динитрофенола, основного ингредиента пестицидов и гербицидов [Schmidt and Gier, 1990].

Учитывая, что L-триптофан, содержащийся в средах, является общим предшественником в метаболических путях синтеза ИУК и некоторых пигментов [Xu et al., 2022], то **целью работы** было исследовать пигментсинтезирующие штаммы IB-ST-GO, UIB-ST-GOLI и IB-ST-GOR на способность продуцировать ауксин, а также оценить их влияние на ростовые параметры проростков пшеницы для возможного применения в качестве полезных микроорганизмов в сельском хозяйстве.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследований служили бактерии рода *Janthinobacterium*, выделенные из природных вод воклюзного источника «Голубое озеро» пещеры Шульган-Таш (Капова), Южный Урал: IB-ST-GO, UIB-ST-GOLI и IB-ST-GOR. Прочитанные последовательности гена 16S рРНК всех штаммов доступны в Генбанке (NCBI) под номерами OQ143958, OQ874821.1 и OQ144911 соответственно. Все штаммы входят в коллекцию культур УИБ УФИЦ РАН под номерами UIB-91, UIB-95 и UIB-96, соответственно.

Культивирование штаммов осуществляли в жидких питательных средах Luria Bertani 0.5 (LB 0.5): триптон – 5, дрожжевой экстракт – 2.5, $Na_2HPO_4*12H_2O$ – 1, KH_2PO_4 – 0.5 и Кинг Б: пептон – 20, KH_2PO_4 – 1.5, $MgSO_4*7H_2O$ – 1.5, глицерин – 10.

В качестве посевного материала объемом (2-5%) использовали культуры бактерий не старше 48 ч. Выращивание бактерий проводили в колбах Эрленмейера объемом 250 мл, содержащих 60 мл среды, на шейкере-инкубаторе Innova 40R («New Brunswick Scientific», США) при 180 об/мин в течение 7 суток при температуре 24 °С и pH 7.3-7.5. Культивирование каждого варианта питательной среды в колбах было выполнено в трехкратной повторности.

Бактериальный рост оценивали по оптической плотности бактериальной суспензии культуральной жидкости (КЖ) при 600 нм ($ОП_{600}$), измеренной на спектрофотометре СФ-56 («ЛОМО-Спектр», Россия) каждые 24 ч на протяжении 1-7 суток и учитывая значения оптической плотности соответствующего контроля питательной среды.

Синтез внеклеточной ИУК. Количественно ИУК в КЖ определяли по методике с применением реактива Сальковского (0.05М $FeCl_3$ в $HClO_4$ (35 %) [Hung and Annapurna, 2004] при 530 нм ($ОП_{530}$), измеренной на спектрофотометре СФ-56 («ЛОМО-Спектр», Россия). Отбор проб для анализа осуществляли посуточно в период 1-7 суток. КЖ освобождали от клеток центрифугированием при 12000 об/мин в течение 10 мин на Centrifuge CM-50 («ELMI», Латвия). В качестве контролей в каждом варианте сред использовали соответствующую неинокулированную стерилизованную питательную среду. Содержание ИУК в вариантах опыта определяли по калибровочной кривой с использованием стандартных растворов ИУК (0.01-10.0 мкг/мл) («Sigma», США). Опыт был проведен в 2-х биологических и 3-х аналитических повторностях.

Количественное определение пигмента. Отбор проб (1.25 мл КЖ) для анализа осуществляли посуточно в период 1-7 суток. Выросшую биомассу отделяли от КЖ центрифугированием при 12000 об/мин в течение 10 мин на Centrifuge CM-50 («ELMI», Латвия). К отделенной биомассе добавляли 96%-ного этанола (1:1) для экстрагирования пигмента из клеток. Встряхивали на шейкере MPS-1 («Biosan», Латвия) до исчезновения окраски в биомассе, центрифугировали при 12000 об/мин в течение 10 мин на Centrifuge CM-50 («ELMI», Латвия) и отбирали надосадочную жидкость. Для полученных спиртовых экстрактов пигментов штаммов IB-ST-GO и IB-ST-GOR определяли степень поглощения на спектрофотометре СФ-56 («ЛОМО-Спектр», Россия) при длине волны 575 нм и 535 нм соответственно. Содержание пигментов в вариантах опыта было определено по формуле, описывающей закон Бугера-Ламберта-Бера, который устанавливает прямопропорциональную зависимость между оптической плотностью и концентрацией вещества в исследуемом растворе:

$$c = A / \varepsilon l,$$

где A – количество света определенной длины волны, который был поглощен образцом, ε – молярный коэффициент поглощения (коэффициент экстинции), l – расстояние, пройденное светом в растворе (1 см), c – концентрация раствора (количество изучаемых молекул в единице объема).

Концентрацию виолацеина определяли на спектрофотометре СФ-56 («ЛОМО-Спектр», Россия), используя коэффициент экстинкции виолацеина в этаноле равном 0.05601 $мл*мкг^{-1}*см^{-1}$при длине волны 575 нм [Mendes et al., 2001]. Концентрацию продигиозина определяли на спектрофотометре СФ-56 («ЛОМО-Спектр», Россия), используя коэффициент

экстинкции продигиозина в этаноле равном 0.0515 мл*мкг$^{-1}$*см$^{-1}$ при длине волны 535 нм [Williams et al., 1971].

Обработка семян пшеницы бактериями. В качестве тест-объекта исследования использовали пшеницу *Triticumdurum* L. сорта Башкирская 27. Стерилизацию семян пшеницы осуществляли замачиванием зерен в растворе 3% перекиси водорода и 96% этилового спирта (1:1) в течение 5 мин. Семена промывали стерильной дистиллированной водой не менее 3-4 раз и подсушивали в ламинарном боксе. Стерилизованные семена обрабатывали необходимым количеством бактериальной суспензии известного титра с добавлением Na-карбоксиметилцеллюлозы (4%), создавая титр 10^6 КОЕ/семя. Далее обработанные семена раскладывали в стерильные чашки Петри по 20 штук в 4 повторностях для каждого варианта и проращивали при постоянной температуре 22-24 °С. В эксперименте оценивали всхожесть, длину побегов и корней проростков растений на 7 сутки.

Статистическую обработку результатов проводили в программе Origin 9.1 («OriginLab Corp.», США). С помощью корреляционного анализа Спирмена были оценены взаимосвязи между ростом бактериальных культур и синтезом вторичных метаболитов. Результаты считали достоверными при критерии вероятности $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для тестирования на способность к синтезу ИУК, а также определения уровня продукции пигментов были выбраны штамм-продуцент фиолетового пигмента IB-ST-GO, продуцент красного пигмента IB-ST-GOR, и UIB-ST-GOLI, синтезирующий серо-сиреневый пигмент в незначительном количестве на богатых по составу средах, таких как Wakimoto [Shirata et al., 2000].

Результаты по изучению бактериального роста выбранных штаммов, синтеза ИУК и пигментов в процессе периодического культивирования на средах LB 0.5 и Кинг Б представлены на графиках (рис. 1, 2, 3). Для штамма UIB-ST-GOLI приведены только значения оптической плотности культуры $ОП_{600}$ и ИУК, поскольку пигмент в данных условиях не синтезировался. Как видно из графиков, уровень ауксина существенно зависит от типа питательной среды, тогда как время максимального выхода целевого продукта (ИУК) практически совпадало во всех вариантах опыта (4 сутки).

Рост и продукция метаболитов штамма IB-ST-GO. Оптическая плотность $ОП_{600}$ при росте культуры IB-ST-GO на среде Кинг Б существенно выше, чем на среде LB 0.5. Вероятно, поэтому переход в стационарную фазу роста на среде Кинг Б начинается на сутки позднее, чем на среде LB 0.5. Одновременно с переходом культуры IB-ST-GO в стационарную фазу роста на среде LB 0.5, приходящуюся на 3 сутки, накопление виолацеина выходит на максимальный уровень 53.6-54.7 мкг/мл, который сохраняется до 5 суток, далее начинает снижаться. Максимальный уровень ИУК у IB-ST-GO (9.11 мкг/мл) определялся на 4 сутки, в период стационарного роста и максимального накопления пигмента. Несколько другой профиль бактериального роста и накопления метаболитов (пигмента и ИУК) наблюдали при росте IB-ST-GO на среде Кинг Б. Отмечено, что на среде Кинг Б штамм активно продуцировал экзополисахарид, что существенно затрудняло проведение измерений. Наибольшую концентрацию ИУК фиксировали в период выхода культуры в стационарную фазу роста, на 4 сутки – 16.5 мкг/мл, при этом секреция

виолацеина отмечена на уровне 19.6 мкг/мл, что составляло 29% от максимального уровня. Максимальный уровень виолацеина определен лишь на 5 сутки (67.2 мкг/мл), когда концентрация ИУК пройдя пик, снизилась и оставалась на уровне 12-12.5 мкг/мл до 7 суток культивирования на фоне снижающейся концентрации виолацеина.

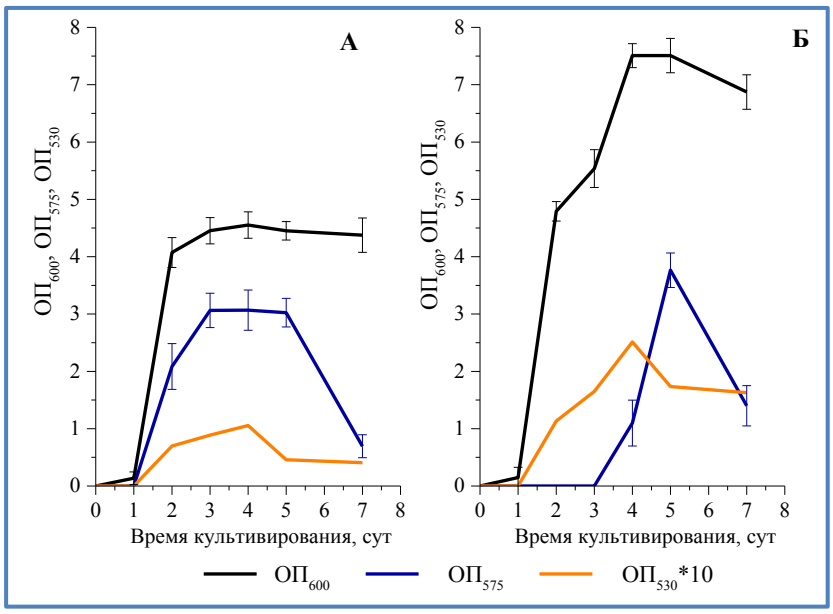

Рис. 1. Динамика роста ($ОП_{600}$), накопления пигмента ($ОП_{575}$) и ИУК ($ОП_{530}$*10) для штамма IB-ST-GO на средах LB 0.5 (А) и Кинг Б (Б).

Рост и продукция метаболитов штамма IB-ST-GOR. Исследования динамики роста и накопления вторичных метаболитов культуры IB-ST-GOR показали, что на среде Кинг Б плотность культуры $ОП_{600}$ была выше, чем при росте на среде LB 0.5, но не так существенно выше, как при культивировании штамма IB-ST-GO. Максимальное накопление пигмента (6.8 мкг/мл) на среде LB 0.5 происходит на сутки раньше детектируемого максимума ауксина (7.5 мкг/мл), но в обоих случаях в период стационарного роста (3-5 сутки) (рис. 2).

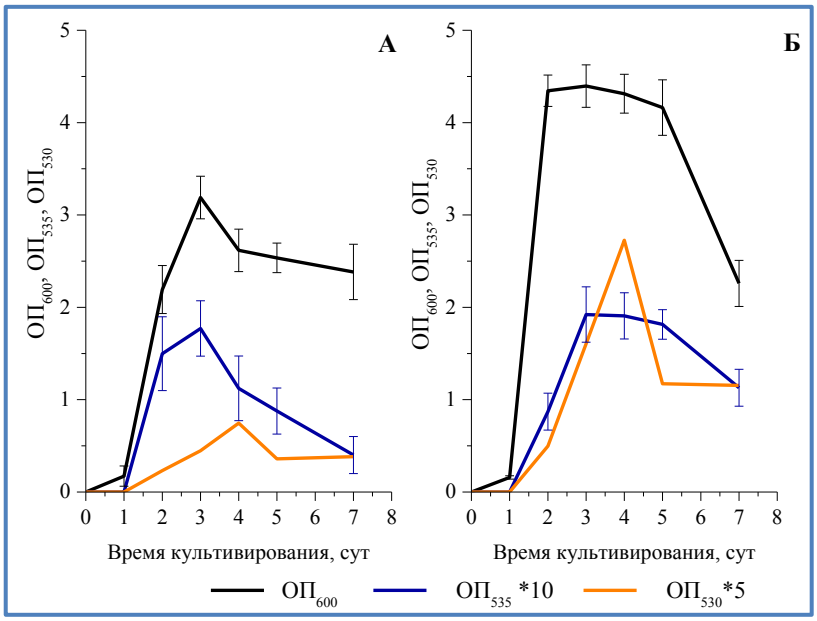

Рис. 2. Динамика роста ($ОП_{600}$), накопления пигмента ($ОП_{535}$*10) и ИУК ($ОП_{530}$*5) для штамма IB-ST-GOR на средах LB 0.5 (А) и Кинг Б (Б).

На среде Кинг Б, максимальные накопление пигмента (7.46 мкг/мл) и синтез ауксина (17.6 мкг/мл) происходят одновременно также в фазу стационарного роста (3-5 сутки). График наглядно демонстрирует существенное повышение концентрации ИУК (в 2.3 раза) на среде Кинг Б.

Рост и продукция метаболитов штамма UIB-ST-GOLI. Увеличение биомассы культуры UIB-ST-GOLI более чем в 2.3 раза наблюдали по показаниям $ОП_{600}$ при росте на среде Кинг Б по сравнению с ростом на среде LB 0.5 (рис. 3). Тем не менее, уровень секреции ИУК штаммом UIB-ST-GOLI, неотягощенного синтезом пигмента, увеличился на среде Кинг Б всего лишь в 1.4 раза (13.4 мкг/мл), по сравнению с максимумом на среде LB 0.5 (9.6 мкг/мл) на фоне большей плотности $ОП_{600}$ на среде Кинг Б.

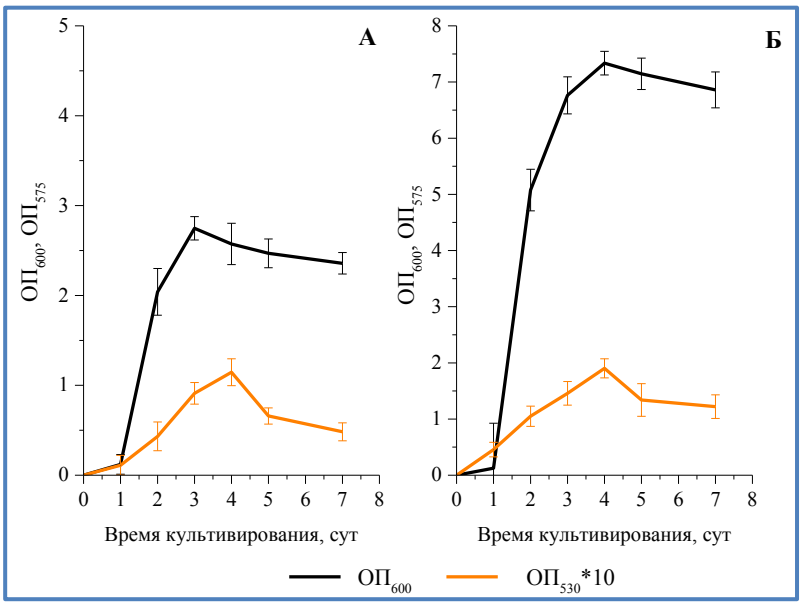

Рис. 3. Динамика роста ($ОП_{600}$) и накопления ИУК ($ОП_{530}$*10) для штамма UIB-ST-GOLI на средах LB 0.5 (А) и Кинг Б (Б).

В результате проведенного корреляционного анализа взаимосвязи между ростом и синтезом вторичных метаболитов (пигменты, ИУК) для изучаемых штаммов обнаружена сильная корреляционная зависимость P>0.82 с уровнем значимости p≤0.05 (Табл. 1).

Таблица 1. Результаты теста ранговой корреляции Спирмена, отражающего зависимость роста и синтеза вторичных метаболитов для культур IB-ST-GO, IB-ST-GOR и UIB-ST-GOLI на средах LB 0.5 и Кинг Б. Указаны коэффициенты корреляции (Rs) и уровень значимости (p). Серым выделены коэффициенты с низким уровнем значимости (p≥0.05).

Штамм	Соотносимые параметры	Rs (p) на среде LB 0.5	Rs (p) на среде Кинг Б
IB-ST-GO	Рост/пигмент	0.82439 (0.02253)	0.62681 (0.13196)
	Рост/ИУК	0.8438 (0.017)	0.95902 (0.0028)
	Пигмент/ИУК	0.87643 (0.00964)	0.48576 (0.26909)
IB-ST-GOR	Рост/пигмент	0.83654 (0.01896)	0.89329 (0.00674)
	Рост/ИУК	0.83541 (0.01928)	0.71822 (0.06907)
	Пигмент/ИУК	0.62052 (0.13706)	0.87871 (0.00921)
UIB-ST-GOLI	Рост/ИУК	0.87189 (0.01052)	0.93414 (0.00206)

Влияние бактеризации семян пшеницы на ростовые параметры растения. При оценке морфометрических параметров семисуточных проростков пшеницы наибольший положительный эффект наблюдали в отношении корней. Обработка штаммами UIB-ST-GOLI и IB-ST-GO приводила к увеличению длины корней в 1.3 и в 1.5 раза по сравнению с контролем соответственно (рис. 4). Бактеризация семян исследуемыми штаммами повысила всхожесть семян на 27% и 25.4% соответственно.

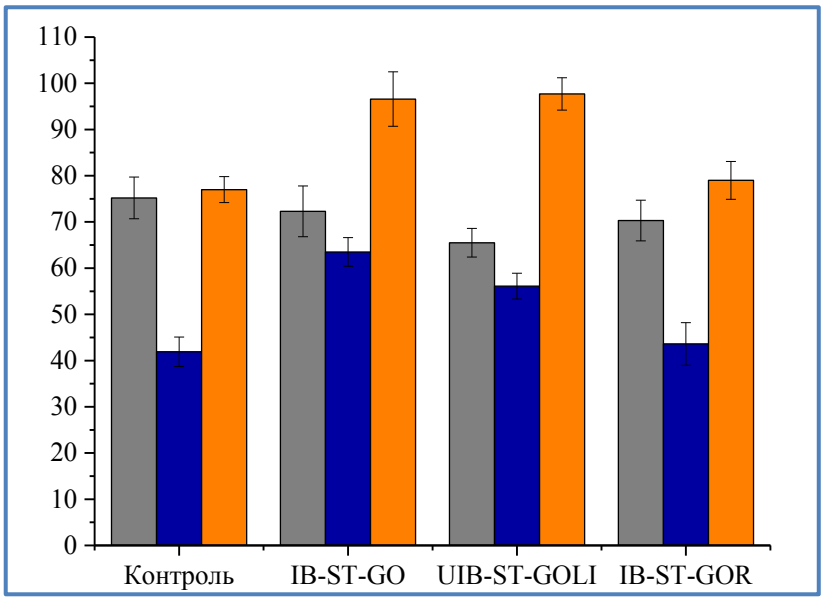

Рис. 4. Влияние бактеризации семян пшеницы культурами IB-ST-GO, UIB-ST-GOLI и IB-ST-GOR на морфометрические характеристики проростков растений на 7 сутки: длина проростка, мм, *10 (обозначено серым цветом); суммарная длина корней, мм, *10 (синим цветом) и всхожесть, % (оранжевым цветом).

Обработка семян пшеницы бактериальной суспензией штамма IB-ST-GOR не оказала значимого положительного воздействия на определяемые параметры развития проростков растений. Но влияние штамма IB-ST-GOR проявилось в достоверном увеличении количества корней у проростков растения на 29.7% по сравнению с контролем. В случае бактеризации пшеницы штаммами UIB-ST-GOLI и IB-ST-GO прирост дополнительных корней был ниже и составлял 10.8% и 4.6% соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

В предыдущих исследованиях пигменты бактерий IB-ST-GO и IB-ST-GOR проявили ингибиторное действие против роста грамположительных бактерий, в то время как антибактериальная активность обоих пигментов в отношении грамотрицательных бактерий была снижена [Мильман и др., 2023]. Выделяемые штаммом IB-ST-GO летучие метаболиты обладали фунгицидным эффектом в отношении фитопатогенных микромицетов *Fusarium oxysporum* и *Rhizoctonia solani* [Галимзянова и др., 2023]. В настоящей работе перечисленные выше штаммы с широким спектром активностей были проверены на способность продуцировать ИУК. При сравнительном анализе накопления пигмента в культуральной жидкости штамма IB-ST-GO установлено, что максимальный уровень пигмента (виолацеина) на среде Кинг Б, обнаруживаемый на 5 сутки, выше в 1.2 раза, чем на среде LB 0.5, но интегральный уровень пигмента на этой среде выше. Для штамма IB-ST-GOR подобная

разница в уровне накопленного пигмента была менее существенна, и максимумы продигиозина детектировали на уровне 6.9-7.4 мкг/мл соответственно на средах LB 0.5 и Кинг Б на 3 сутки.

Исследованные штаммы бактерий IB-ST-GO, IB-ST-GOR и UIB-ST-GOLI отличаются по уровню синтеза ауксина, варьирующего от 5-17.6 мкг/мл в тестируемых средах LB 0.5 и Кинг Б, проявляя при этом субстратную избирательность. Максимумы выходов ИУК у всех штаммов фиксировали на среде Кинг Б на 4 сутки, и они превышали соответствующие значения ИУК на среде LB 0.5 для штаммов IB-ST-GO, IB-ST-GOR и UIB-ST-GOLI в 1.8, 2.3 и 1.4 раза соответственно.

Мониторинг биосинтеза вторичных метаболитов исследуемых штаммов IB-ST-GO и IB-ST-GOR также выявил различную очередность накопления пигментов и ауксина на тестируемых средах. Так, у штамма IB-ST-GO на среде Кинг Б первым (3 сут.) образуется ауксин, а сутки спустя (4 сут.) появляется виолацеин в концентрации, составляющей 30% от максимума. На 5 сутки выработка пигмента достигала максимального значения, а уровень ИУК снизился на 25%. Подобные перепады уровней ауксина и пигментов на 4-5 сутки культивирования вполне могут быть вызваны конкуренцией за L-триптофан, присутствующего в среде, что согласуется с результатами корреляционного анализа (Табл. 1). Известно, что L-триптофан является общим предшественником в метаболических путях синтеза ИУК и виолацеина [Xu et al., 2022]. Помимо роли, связанной с питанием, эффект L-триптофана имеет решающее значение почти для всех штаммов бактерий, продуцирующих ИУК, так как L-триптофан является предшественником по крайней мере в четырех различных метаболических путях [Tang et al., 2023]. На среде LB 0.5 наблюдается одновременное накопление пигмента и ауксина, то есть процессы биосинтеза идут не в ущерб друг другу, как это зафиксировано на среде Кинг Б.

При культивировании штамма IB-ST-GOR подобный паттерн конкурентного биосинтеза продуктов наблюдали, наоборот, на LB 0.5, а не на среде Кинг Б, как это зафиксировано у штамма IB-ST-GO. Присутствие глицерина в среде Кинг Б приводит к повышению уровня продигиозина и ауксина (в большей степени), накопление которых происходит параллельно. Можно предположить, что на синтез пигмента расходуется в основном глицерин, и часть пептона, содержащего необходимый пролин и глутаноминовую кислоту, а в синтезе ИУК участвует экзогенный триптофан, полученный из пептона. На среде LB 0.5 подобного уровня ИУК не синтезируется, пигмента тоже меньше в результате конкуренции за катаболизируемые аминокислоты и L-триптофан, содержащиеся в ограниченном субстрате среды. Полученные данные также согласуются с результатами корреляционного анализа (Табл. 1). Для многих штаммов *Serratia marcescens* именно глицерин выбран в качестве источника углерода для максимального производства продигиозина [Tao et al., 2005; Nguyen et al., 2020], тогда как для штамма *Serratia nematodiphila* RL2 экстракт дрожжей и лактоза оказались оптимальными источниками азота и углерода, поддерживающими рост и синтез продигиозина [Gondil et al., 2017]. Для увеличения выхода продигиозина в питательную среду при культивировании *Hahella chejuensis* KCTC2396 добавляли сахарозу, пептон и дрожжевой экстракт [Kim et al., 2008].

Выбор источников азота и углерода является определяющим для достижения максимального уровня продукции пигмента для конкретного штамма.

Более высокий уровень ИУК (9.6 мкг/мл) на фоне более низкой плотности культуры ($ОП_{600}$) на среде LB 0.5 при культивировании штамма UIB-ST-GOLI в ряду сравниваемых штаммов вполне мог быть вызван отсутствием секретируемого виолацеин подобного пигмента. На среде Кинг Б, имеющей более богатый аминокислотный состав и, соответственно, более высокую концентрацию экзогенного L-триптофана, при более чем двукратном увеличении $ОП_{600}$ уровень ИУК также увеличился. Известно, что высокие концентрации ИУК производятся по триптофан-зависимому метаболическому пути только при избытке экзогенного триптофана [Patten et al., 2013].

Известно, что ауксины способны стимулировать прорастание семян, ветвление и рост корней в длину, повышать устойчивость к стрессовым факторам [Tsavkelova и др., 2006]. Бактеризация семян пшеницы исследуемыми штаммами IB-ST-GO и UIB-ST-GOLI позволила выявить положительный эффект культур на морфометрические параметры проростков растений: наибольший положительный эффект наблюдали в отношении корней. Для анализа характера воздействия бактерий на ростовые процессы проростков пшеницы были проведены расчеты отношения длины ростка к максимальной длине корня. Полученные результаты показали, что соотношение роста надземных и подземных органов в контрольном и опытных вариантах, имеют близкие значения. То есть бактерии, вызывая активацию роста проростков, не нарушают нормальных коррелятивных взаимоотношений между корнем и побегом, а лишь стимулируют потенциальные возможности будущих растений. Несмотря на отсутствие значимого положительного эффекта от обработки штаммом IB-ST-GOR, кроме увеличения числа дополнительных корней у проростков пшеницы, в дальнейшем планируется протестировать этот штамм на растениях в модельных вегетационных опытах. Положительный эффект в отношении основных ростовых параметров растений был обнаружен после обработки пшеницы штаммом *Janthinobacterium* sp. ERGS5:01, продуцирующим розовый пигмент семейства продигионинов и невысокие дозы ИУК, хотя на первоначальном этапе тестирования штамма на проростках видимого изменения не фиксировали [Mukhia et al., 2022].

Таким образом, виолаценин- и продигиозинпродуцирующие бактерии интересны как в качестве продуцентов собственно самих пигментов с широким спектром биологических эффектов, так и других биологических активных веществ, проявляющих PGP-свойства. Исследованные штаммы могут быть предложены в качестве потенциальных объектов агробиотехнологии при разработке комплексных биопрепаратов, создающих благоприятные условия для роста растений.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России № 075-03-2021-607 по теме №122031100163-4 с использованием оборудования центра коллективного пользования УФИЦ РАН «Агидель».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Галимзянова Н.Ф., Гильванова Е.А., Мильман П.Ю., и др. Влияние летучих соединений бактерий рода *Janthinobacterium* на развитие фитопатогенных грибов // Экобиотех. 2023. Т. 6. № 2. С. 91–96. DOI: 10.31163/2618-964X-2023-6-2-91-96
2. Мильман П.Ю., Гильванова Е.А., Кузьмина Л.Ю., и др. Антибактериальный эффект пигментов представителей рода *Janthinobacterium* // Известия Уфимского научного центра РАН. 2023. №1. С. 97–103. DOI: 10.31040/2222-8349-2023-0-1-97-103
3. Alonso-Sáez L., Zeder M., Harding T., et al. Winter bloom of a rare betaproteobacterium in the Arctic Ocean // Front Microbiol. 2014. V. 5. P. 425. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00425
4. Aman Mohammadi M., Ahangari H., Mousazadeh S., et al. Microbial pigments as an alternative to synthetic dyes and food additives: a brief review of recent studies // Bioprocess Biosyst Eng. 2022. V. 45. № 1. P. 1–12. DOI: 10.1007/s00449-021-02621-8
5. Chou M., Shrestha S., Rioux R., Koch P. Hyperlocal variation in soil iron and the rhizosphere bacterial community determines dollar spot development in amenity turfgrass // Appl Environ Microbiol. 2021. V. 87 (10): e00149-21. DOI: 10.1128/AEM.00149-21
6. Glick B.R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. 2012 Scientifica (Cairo). 963401. DOI: 10.6064/2012/963401
7. Gondil V.S., Asif M., Bhalla T.C. Optimization of physicochemical parameters influencing the production of prodigiosin from *Serratia nematodiphila* RL2 and exploring its antibacterial activity // Biotech. 2017. V. 7 (5): 338. DOI: 10.1007/s13205-017-0979-z
8. Haack F.S., Poehlein A., Kröger C., et al. Molecular keys to the *Janthinobacterium* and *Duganella* spp. Interaction with the plant pathogen *Fusarium graminearum* // Front. Microbiol. 2016. V. 7. P.1668. DOI:10.3389/fmicb.2016.01668
9. Hung P.Q., Annapurna K. Isolation and characterization of endophytic bacteria in soybean (Glycine sp.) // Omonrice. 2004. V. 12. P. 92–101. DOI: 10.1007/s11104-004-6894-1
10. Johnson J.H., Tymiak A.A., Bolgar M.S. Janthinocins A, B and C, novel peptide lactone antibiotics produced by *Janthinobacterium lividum*. II. Structure elucidation // J Antibiot. 1990. V. 43. № 8. P. 920–930. DOI: 10.7164/antibiotics.43.920
11. Kang S.H., Cho H.S., Cheong H., et al. Two bacterial entophytes eliciting both plant growth promotion and plant defense on pepper (*Capsicum annuum* L.) // J Microbiol Biotechnol. 2007. V. 17. № 1. P. 96–103.
12. Kim S.J., Lee H.K., Yim J.H. Statistical optimization of medium components for the production of prodigiosin by *Hahella chejuensis* KCTC 2396 // J Microbiol Biotechnol. 2008. V. 18 (12): 1903–7.
13. Kuffner M., Puschenreiter M., Wieshammer G., et al. Rhizosphere bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows // Plant Soil. 2008. V. 304. P. 35–44. DOI: 10.1007/s11104-007-9517-9
14. Mendes A.S., de Carvalho J.E., Duarte M.C.T., et al. Factorial design and response surface optimization of crude violacein for *Chromobacterium violaceum* production // Biotechnol. Lett. 2001. V. 23. P. 1963–1969. DOI: 10.1023/A:1013734315525
15. Mojib N., Philpott R., Huang J.P., et al. Antimycobacterial activity in vitro of pigments isolated from Antarctic bacteria // Antonie Van Leeuwenhoek. 2010. V. 98. № 4. P. 531–540. DOI: 10.1007/s10482-010-9470-0

16. Mukhia S., Kumar A., Kumari P., et al. Psychrotrophic plant beneficial bacteria from the glacial ecosystem of Sikkim Himalaya: Genomic evidence for the cold adaptation and plant growth promotion // Microbiol Res. 2022. 260:127049. DOI: 10.1016/j.micres.2022.127049
17. Nguyen V.B., Chen S.-P., Nguyen T.H., et al. Novel efficient bioprocessing of marine chitins into active anticancer prodigiosin // Mar Drugs. 2020. V. 18(1):15. DOI: 10.3390/md18010015
18. Patten C.L., Blakney A.J., Coulson T.J. Activity, distribution and function of indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in bacteria // Crit Rev Microbiol. 2013. V. 39 (4). P. 395–415. DOI: 10.3109/1040841X.2012.716819
19. Rolli E., Marasco R., Vigani G., et al. Improved plant resistance to drought is promoted by the root-associated microbiome as a water stress-dependent trait // Environ. Microbiol. 2015. V. 17. P. 316–331. DOI: 10.1111/1462-2920.12439
20. Saccà M.L., Manici L.M., Caputo F., Frisullo S. Changes in rhizosphere bacterial communities associated with tree decline: grapevine esca syndrome case study // Can. J. Microbiol. 2019. V. 65. P. 930–943. DOI: 10.1139/cjm-2019-0384
21. Schloss P.D., Allen H.K., Klimowicz A.K., et al. Psychrotrophic strain of *Janthinobacterium lividum* from a cold Alaskan soil produces prodigiosin // DNA Cell Biol. 2010. V. 29. № 9. P. 533–541. DOI: 10.1089/dna.2010.1020
22. Schmidt S.K., Gier M.J. Coexisting bacterial populations responsible for multiphasic mineralization kinetics in soil // Appl. Environ. Microbiol. 1990. V. 56. P. 2692–2697.
23. Shirata A., Tsukamoto T., Yasui H., et al. Isolation of bacteria producing bluish-purple pigment and use for dyeing // Jap Agric Res Q. 2000. V. 34. №. 2. P. 131–140.
24. Shurigin V., Alimov J., Davranov K., et al. The diversity of bacterial endophytes from *Iris pseudacorus* L. and their plant beneficial traits // Curr Res Microb Sci. 2022. V. 3: 100133. DOI: 10.1016/j.crmicr.2022.100133
25. Tang J., Li Y., Zhang L., et al. Biosynthetic pathways and functions of indole-3-acetic acid in microorganisms // Microorganisms. 2023. V. 11 (8): 2077. DOI: 10.3390/microorganisms11082077
26. Tao Jl., Wang Xd., Shen, Yl., et al. Strategy for the improvement of prodigiosin production by a *Serratia marcescens* mutant through fed-batch fermentation // World J Microbiol Biotechnol. 2005. V. 21. P. 969–972. DOI: 10.1007/s11274-004-7257-z
27. Timmusk S., Behers L., Muthoni J., et al. Perspectives and challenges of microbial application for crop improvement // Front. Plant Sci. 2017. V. 8. DOI: 10.3389/fpls.2017.00049
28. Tsavkelova E.A., Klimova S.Y., Cherdyntseva T.A., et al. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: A Review // Appl Biochem Microbiol. 2006. V. 42. P. 117–126. DOI: 10.1134/S0003683806020013
29. Williams R.P., Gott C.L., Hussan Q.S.M., Scott R.H. Influence of temperature of incubation and type of growth medium on pigmentation in *Serratia marcescens* // J Bacteriol. 1971. V. 106. № 2. P. 438–443. DOI: 10.1128/jb.106.2.438-443.1971
30. Xia Q., Rufty T., Shi W. Predominant microbial colonizers in the root endosphere and rhizosphere of turfgrass systems: *Pseudomonas veronii*, *Janthinobacterium lividum*, and *Pseudogymnoascus* spp. // Front Microbiol. 2021. V. 12. DOI: 10.3389/fmicb.2021.643904
31. Xu X., Chu X., Du B., et al. Functional characterization of a novel violacein biosynthesis operon from *Janthinobacterium* sp. B9-8 // Appl Microbiol Biotechnol. 2022. V. 106 (8). P. 2903–2916. DOI: 10.1007/s00253-022-11929-8

32. Yin C., Casa Vargas J.M., Schlatter D.C., et al. Rhizosphere community selection reveals bacteria associated with reduced root disease // Microbiome. 2021. V. 9. V. 86. DOI: 10.1186/s40168-020-00997-5

Цитировать как
Мильман П.Ю., Гильванова Е.А., Актуганов Г.Э. Влияние состава питательной среды на накопление вторичных метаболитов бактерий рода *Jantinobaterium* // Экобиотех. 2025. Т. 8. № 1. С. 70-81. DOI: 10.31163/2618-964X/2025-7 EDN: PDFOHE

Сведения об авторах

Полина Юрьевна Мильман, к.б.н., Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия. E-mail: milman.polina@gmail.com, AuthorID: 676984, ORCID: 0000-0001-6379-7094

Елена Альбертовна Гильванова, к.б.н., Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия. E-mail: gelena@anrb.ru, AuthorID: 127448, ORCID: 0000-0003-3656-7925

Глеб Эдуардович Актуганов, к.б.н., Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия. E-mail: gleakt@anrb.ru, AuthorID: 127447, ORCID: 0000-0003-1379-3671

Cited as
Milman P.Yu., Gilvanova E.A., Aktuganov G.E. The effect of nutrient composition on the accumulation of secondary metabolites from *Janthinobacterium*. *Ecobiotech*. 2025. V. 8 (1). P. 70-81. DOI: 10.31163/2618-964X/2025-7 EDN: PDFOHE (In Rus.)

Information About the Authors

Polina Yu. Milman, PhD in Biology, Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia. E-mail: milman.polina@gmail.com, AuthorID: 676984, ORCID: 0000-0001-6379-7094

Elena A. Gilvanova, PhD in Biology, Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia. E-mail: gelena@anrb.ru, AuthorID: 127448, ORCID: 0000-0003-3656-7925

Gleb E. Aktuganov, PhD in Biology, Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia. E-mail: gleakt@anrb.ru, AuthorID: 127447, ORCID: 0000-0003-1379-3671