

СЕКЦІЯ ІХ. БІОЛОГІЯ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ЗДАТНІСТЬ РОДОКОКІВ – ДЕСТРУКТОРІВ МОНОАРОМАТИЧНИХ ВУГЛЕВОДНІВ ДО СИНТЕЗУ ІНДОЛЬНИХ СПОЛУК

Ногіна Таїсія Михайлівна

ORCID ID: 0000-0002-9381-2299

канд. біол. наук, старший науковий співробітник відділу
фізіології промислових мікроорганізмів

Інститут мікробіології і вірусології ім Д.К. Заболотного НАН України, Україна

Хоменко Людмила Анатоліївна

ORCID ID: 0000-0002-0109-0445

канд. біол. наук, старший науковий співробітник відділу
фізіології промислових мікроорганізмів

Інститут мікробіології і вірусології ім Д.К. Заболотного НАН України, Україна

Актинобактерії роду *Rhodococcus* широко використовуються в біотехнологіях очищення довкілля від різних класів токсичних речовин, в першу чергу від нафти і нафтопродуктів. При внесенні до нафтозабруднених ґрунтів ці мікроорганізми вступають в контакт з рослинами, що ростуть на забруднених територіях. Рослини можуть стимулювати ріст актинобактерій, вивільняючи широкий спектр речовин в навколишнє середовище, зокрема амінокислоти, такі як триптофан, аргінін, серин та глутамінова кислота. У свою чергу, актинобактерії – деструктори вуглеводнів здатні підвищувати стійкість рослин до нафтових забруднень і можуть позитивно впливати на їх ріст шляхом синтезу фітогормонів (ауксинів, гіберелінів, цитокінінів та інших). Серед речовин, що стимулюють ріст рослин особливе значення мають ауксини – фітогормони індольної природи, до яких належить індол-3-оцтова кислота (ІОК) та її похідні. Відомо, що попередником синтезу цього фітогормону є амінокислота L-триптофан. Синтез таких фітогормонів виявлено у багатьох асоціативних і вільноживучих ґрунтових мікроорганізмів. В останні роки з'явилися дані про синтез ІОК деякими вуглеводеньокиснювальними штамми актинобактерій роду *Rhodococcus* [1-2].

Метою досліджень було вивчити здатність до синтезу фітогормонів – похідних індолу штамом актинобактерій *Rhodococcus aetherivorans* УКМ Ас-602, який засвоює фенольні сполуки [3]. Штам підтримуються в депозитарії Українській колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім.Д.К.Заболотного НАН України. Раніше нами було показано зниження цим штамом рівня фітотоксичності високо концентрованих фенолвмісних середовищ (0,5-0,7 г/л фенолу) із II (високого) класу токсичності до V (норма) екологічно безпечного класу, що супроводжувалось відновленням схожості і морфометричних параметрів проростків тест-рослини ярої пшениці сорту «Печерянка» [4].

Для дослідження здатності продукувати індольні сполуки культури

виросли в темряві за температури 28-30 °C в колбах на качалках (220 об/хв) до стаціонарної фази росту на рідкому мінеральному середовищі наступного складу (г/л): NH_4NO_3 – 0,75, Na_2HPO_4 – 0,73, KH_2PO_4 – 0,35, NaHCO_3 – 0,25, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1, MnSO_4 – 0,002, $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,02, pH – 7,0. Фенол, толуол або глюкоза були використані як джерело вуглецю та енергії у концентраціях 0,75 г/л, 0,5 г/л, 5,0 г/л відповідно. Як попередник синтезу ауксинів у середовище додатково вносили L-триптофан у кількості 1000 мг/л; за умов росту на фенолі використовували і меншу концентрацію L-триптофану – 300 мг/л. Контролем було середовище без L-триптофану. Виявлення ауксину та його кількісне визначення проводили у супернатанті культуральної рідини штамів колориметричним методом за допомогою реакції Сальковського на індол-3-оцтову кислоту та її похідні [5]. Оптичну щільність зразків вимірювали при довжині хвилі 540 нм; за контроль слугувало незасіяне середовище з додаванням реагенту. Кількість ауксинів визначали за калібрувальним графіком з використанням індол-3-оцтової кислоти як стандарту.

В результаті проведених досліджень встановлено, що наявність L-триптофану у середовищі культивування штаму *R. aetherivorans* УКМ Ас-602 не впливало на ефективність засвоєння кожного із субстратів. У той же час здатність штаму до синтезу фітогормонів повністю залежала від присутності L-триптофану, а їх кількість – від концентрації у середовищі цього попередника біосинтезу ауксинів та від джерела вуглецю. Найменшу кількість ауксинів (43 мкг/мл) штам *R. aetherivorans* УКМ Ас-602 синтезував на середовищі з глюкозою в присутності 1000 мг/л L-триптофану. Це не суперечить літературним даним про більш низький рівень синтезу цих фітогормонів у інших представників роду *Rhodococcus* за умов росту на вуглеводах порівняно з вуглеводнями. Так, зокрема, встановлено, що штам *Rhodococcus erythropolis* ВКМ Ас-2017D при засвоєнні сахарози продукував 34,4 мкг/мл ІОК, а н-гексадекану – 77,7 мкг/мл ІОК [2]. На середовищі з фенолом в присутності 300 мг/л L-триптофану штам *R. aetherivorans* УКМ Ас-602 синтезував 60 мкг/мл ІОК, а збільшення кількості L-триптофану до 1000 мг/л призводило до підвищення синтезу ІОК до 114 мкг/мл. Отримані дані про пряму корелятивну залежність кількості синтезованих родококами ауксинів від концентрації L-триптофану у середовищі узгоджуються із результатами досліджень інших бактерій, зокрема штаму *Klebsiella* SGM 81, який при збільшенні кількості L-триптофану у середовищі з 500 мг/л до 1000 мг/л підвищував синтез ІОК з 49 мкг/мл до 190 мкг/мл [5]. Найбільшу кількість ІОК (149 мкг/мл) продукував *R. aetherivorans* УКМ Ас-602 при засвоєнні толуолу. Нездатність штаму до утворення ауксинів за відсутності L-триптофану у середовищі свідчить про наявність у нього, як і у переважної більшості інших бактерій, триптофан-залежного шляху синтезу цих фітогормонів.

Висновки. Здатність до синтезу ауксинів штамом *R. aetherivorans* УКМ Ас-602 може бути одним із факторів, що обумовлюють його фітостимулювальні властивості, і свідчить про перспективність використання цього штаму в асоціації із рослинами у комплексних технологіях біо- та фіторемедіації забрудненого вуглеводнями ґрунту і відновлення рослинного покриву на забруднених територіях.

Список використаних джерел:

1. Tretyakova M.S., Ivanova M.V., Belovezhets L.A., Markova Yu.A. (2019). Possible use of oil-degrading microorganisms for protection of plants growing under conditions of oil pollution. IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 315 72046, 1–6. doi:10.1088/1755-1315/315/7/072046.
2. Отрошко Д.Н., Шеремет В.В., Волченко Н.Н., Худокормов А.А., Самков А.А. (2016). Влияние температуры и источников углерода на биосинтез ауксина штаммом *Rhodococcus*

- erythropolis ВКМ Ас-2017D и его фитостимулирующая активность в почвенных условиях. Самарский научный вестник, (15), 42–46.
3. Nogina T., Fomina M., Dumanskaya T., Zelena L., Khomenko L., Mikhalovsky S., Podgorsky V., Gadd G.M. (2020). A new *Rhodococcus aetherivorans* strain isolated from lubricant-contaminated soil as a prospective phenol-biodegrading agent. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, (104), 3611–3625.
 4. Khomenko L.A., Nogina T.M., Podgorskyi V.S. (2021). Assessment of phenol detoxification by *Rhodococcus aetherivorans* UCM Ac-602 using the phytotesting method. *Mikrobiol.Z.*, (83), 3-12. doi: <https://doi.org/10.15407/mikrobiolj83.06.003>.
 5. Gang S., Saraf M., Waite C. J., Buck M., Schumacher J. (2018). Mutualism between *Klebsiella* SGM 81 and *Dianthus caryophyllus* in modulating root plasticity and rhizospheric bacterial density. *Plant Soil*, (424), 273–288.