*Валерія Левченко*

*(Одеса, Україна)*

**БІОЛОГІЧНІ НАУКИ**

**ЗАСТОСУВАННЯ СИДЕРОФОРІВ БАКТЕРІЙ РОДУ  *PSEUDOMONAS* У СТВОРЕННІ ТА ВИРОБНИЦТВІ БІОПРЕПАРАТІВ**

Мікробіологічний синтез різних речовин грає ключову роль в біотехнологічному виробництві. В даний час мікроорганізми продукують десятки видів сполук [4].

Одним з найбільш вивчених і часто застосовуваних в біотехнології мікроорганізмів є бактерії роду *Pseudomonas.*

Бактерії цього роду перспективні об'єкти для створення на їх основі штамів-продуцентів різних біологічно активних сполук (антибіотиків, сидерофорів, сурфактантів, гормонів росту рослин і ін.), синтезують понад 300 різних антимікробних сполук. Особливий інтерес викликають представники даного роду як основа бактеріальних препаратів, що стимулюють ріст рослин і захищають їх від фітопатогенів [6].

Одним з таких найбільш перспективних сполук являються сидерофори.Вперше сидерофори були визначені в 1953 р. Дж. Френсіс і в даний час ідентифіковано більш 500 різних видів цих сполук [1].

За хімічною будовою багато сидерофорів представляють собою модифіковані пептиди, в яких певні групи беруть участь у формуванні залізозв'язуючого центру [5].

Більшість аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів синтезують хоча б один сидерофор [7].

Із числа бактеріальних хелаторів заліза найбільш вивченим на сьогодні є сидерофори грамнегативних бактерій, особливо псевдомонад, а також катехольні і гідроксаматні сидерофори ентеробактерій, агробактерій і близьких до них родів [11].

Особливий інтерес викликають представники так званої флуоресцентної групи псевдомонад, здатні виділяти в середовище специфічні водорозчинні пігменти - піовердини (або псевдобактини), що виконують функцію сидерофорів - зв'язують іони заліза у навколишньому середовищі і забезпечують їх високоспецифічний транспорт всередину бактеріальної клітини [Кулешова, 2008]. За своєю хімічною природою піовердини псевдомонад є пептидними сидерофорами змішаного катехольно-гідроксаматного типу [9].

У 1981 році за допомогою мас-спектрометрії, ядерно-магнітного резонансу, рентгеноскопії та аналізу продуктів кислотного гідролізу вперше була встановлена α-структура одного з піовердинів.

З тих пір було виділено і вивчено понад п'ятдесят різних типів піовердинів, приблизно 35 з яких синтезуються бактеріям *P. putida* [10].

Було показано, що піовердини складаються з трьох обов'язкових структурно-функціональних частин, представлених хромофором (діоксіхіноліновим ядром), дикарбоновою кислотою (або її амідом) і пептидним ланцюгом (рис. 1).

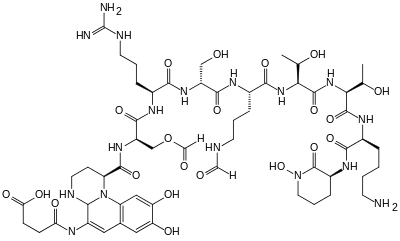


Рис. 1. Хімічна структура піовердину [8].

Хіноліновий хромофор є загальним елементом всіх описаних піовердинів [Poole, 2013]. За хімічною природою це (1S)-5-аміно-2,3-дігідро-8,9-дигідрокси-1Н-піримідо-[1,2-а]-хінолін-1-карбонова кислота. Було доведено, що саме хромофор визначає специфічне жовто-зелене забарвлення пігментів класу піовердинів, а його хінолінова група бере участь у зв'язуванні іонів заліза. Цей структурний елемент пігменту визначає також і його максимум поглинання в районі 400 нм [8].

Дикарбонова кислота, як структурна частина піовердинів, може бути представлена α-бурштинової кислотою, 2-кетоглутаровою або глутаровою кислотою, а так само малоновою кислотою або їх амідами [6].

Пептидний ланцюг молекули піовердинів складається зазвичай з 6-12 амінокислотних залишків, близько половини яких можуть бути представлені D-формами [12].

Обов'язковими компонентами пептидного ланцюга є: циклічний оксіорнітин (3-аміно-піпередон-2), лізин, серин або треонін. Присутність інших амінокислот є специфічною ознакою і залежить від конкретного штаму бактерій. Пептидний ланцюг зв'язаний з хіноліновим хромофором піовердина своїм N-кінцем, а С-кінцем – з циклічним оксіорнітином, який бере участь в активному транспорті комплексу піовердін-Fe3+ всередину клітини [9].

Також окрім піовдерину, в різних псевдомонадах були ідентифіковані інші сидерофори, як правило, з меншою афінністю до заліза.

До них відносяться піоцелін, псевдомонін, саліцилову кислоту, хінолобактин і піридин-2,6-біс-тіокарбонова кислота [12].

Сидерофори багатьох бактерій роду *Pseudomonas* сприяють виникненню у них антифунгальних і антибактеріальних властивостей.

Більшість бактерій і грибів, в тому числі, фітопатогенних, продукують власні сидерофори, проте на відміну від сидерофорів псевдомонад, вони менш ефективно зв'язуються з Fe3+-іонами, в результаті чого ці бактерії виграють у конкурентній боротьбі за такий життєво важливий елемент, як залізо. Таким чином, зв'язування іонів заліза сидерофорами бактерій роду *Pseudomonas* призводить до обмеження зростання фітопатогенів і поліпшення росту рослин [11].

Слід також зазначити, що антагонізм псевдомонад щодо фітопатогенів, обумовлений конкуренцією за залізо, ефективний тільки при низькому вмісті заліза в ґрунті. Різко знижується захисний ефект сидерофорпродукуючих штамів в кислих ґрунтах, де розчинність заліза і його доступність для всіх мікроорганізмів зростають. Надлишок заліза призводить також до репресії синтезу сидерофорів [3].

Ризосферні бактерії *Pseudomonas putida* КМБУ 4308, відомі як стимулятори росту рослин і проявляють антибактеріальну, антифунгальну і антинематодну активності, здатні продукувати піовердін. За допомогою хімічного і транспозонного мутагенезу були отримані мутантні штами *P. putida* КМБУ 4308 з підвищеним рівнем синтезу пігменту, а також здатні до його продукції в присутності іонів заліза [Кулешова, 2008]. Дослідження хімічної структури піовердинів, синтезованих бактеріями роду *Pseudomonas,* проведені з використанням різних методів (ЯМР, інфрачервона спектроскопія, хімічний аналіз і ін.) виявили присутність у складі цих пігментів функціональних угрупувань, потенційно здатних забезпечити також антиоксидантні властивості [8].

Базовим біофунгіцидом для захисту зернових культур, що поєднують рістстимулюючі і фунгіцидні властивості, є, вироблений ІТІ «Біотехніка» (Україна), Планріз. Основа біопрепарату – ґрунтові бактерії *P. fluorescens* АР 33. Бактерії *P. fluorescens* активно заселяють ризосферу зернових культур і, споживаючи кореневі виділення, продукують, перш за все, сидерофори, що розчиняють важко доступні мінеральні сполуки, які згодом засвоюються рослинами, а також ряд інших біологічно активних речовин [2].

Також був розроблений біопрепарат Бактофіт (Росія) – на основі ризосферних бактерій *Pseudomonas putida*, що синтезують флуоресцентний пігмент піовердин, активний щодо бактеріозів, грибних інфекцій і нематод. Не патогений для рослин, тварин і людини, добре зберігається в ризосфері рослин і в ґрунті [6].

Про перспективи практичного використання псевдомонад, що відносяться до ризобактерій, які сприяють зростанню рослин, можна судити за списком вже розроблених біопрепаратів на їх основі не тільки вітчизняними виробниками, а й зарубіжними: «BlightBan A506» (США) на основі *P. fluorescens* A506, що використовується для захисту рослин від заморозків; «BioSave» з *P. syringae* ESC 6-10 для захисту цитрусових і плодових дерев від фітомікозов; «Blue-Circle» (*P. сepacia* Wisconsin) проти *Fusarium, Pythium* і сисних нематод; «Intercep» (*P. cepacia*) для захисту вегетуючих рослин кукурудзи, бавовни від *Pythiumsp., Rhisoctonia solani, Fusarium sp*.; «Victus» (*P. fluorescens* NCIB 12089) проти бактеріальної плямистості рослин і ін. [4].

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:**

1. Абатуров А.Е. Медикаментозное ограничение доступности ионов железа для патогенных бактерий / А.Е. Абатуров , Т.А. Крючко // Zdorov’e rebenka. – 2018. – Т. 13. – С. 416–422.

2. Богач Г.И. Защита зерновых колосовых культур в системе органического земледелия / Г.И. Богач, А.Г. Богач // Посібник українського хлібороба. – 2009. – С. 266–268.

3. Боронин А.М. Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas*, способствующие росту и развитию растений / А.М. Боронин // Соросовский образовательный журнал. – 2001. – № 10. – С. 25–31.

4. Завалин А.А. Биопрепараты, удобрения и урожай / А.А.Завалин. – Москва: ВНИИА, 2005. – 288с.

5. Катехольный сидерофор, продуцируемый терморезистентным штаммом *Bacillus licheniformis* VK21 / Ю.В. Темиров, Т.З. Есикова, И.А. Кашпаров, Т.А. Балашова, Л.М. Винокуров ,Ю.Б. Алахов // Биоорганическая химия. – 2011. – Т. 29. – С. 597–604.

6. Кулешова Ю.М. Аминокислотный состав пиовердинов, синтезируемых мутантными бактериями *Pseudomonas putida* КМБУ 4308 с повышенным уровнем продукции пигмента / Ю.М. Кулешова, Е.О. Корик, Н.П. Максимова // Труды БГУ. – 2008. – Т.3. – С.48–52.

7. Миронов А.Ю. Железо, вирулентность и межмикробные взаимодействия условно-патогенных микробов / А.Ю. Миронов, В.В. Леонов // Успехи современной биологии. – 2016. – T. 136. – С. 285–294.

8. Demange P. *Pseudomonas* siderofores: Structure and physicochemical properties of pyoverdins and related peptides / P. Demange // Peptides. – 2009. – Vol. 174, № 1. – P.95–98.

9. Fuchs R. Structural studies of pyoverdins by mass spectrometry / R. Fuchs, H. Budzikiewicz // Curr. Org. Chem. . – 2001. – Vol. 5, № 1. – P. 265-288.

10. Meyer J.M. The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescent*: biosynthesis, purification and physicochemical properties / J.M. Meyer, M.A. Abdallah // J. Gen. and Appl. Microbiol. – 2010. – Vol. 107, № 1. – P.319–328.

11. Miethke M. Siderophore-based iron acquisition and pathogen control / M. Miethke, M.A. Marahiel // Microbiology and Molecular Biology Rev. – 2007. – Vol. 71, № 3. – P.413–451.

12. Poole K. Iron aquisitioon acquisition and its control in *Pseudomonas aeruginosa*: many roads lead to Rome / K. Poole, G.A. McKay // Frontiers in Bioscience. – 2013. – Vol. 8, № 1. – P.661-686.