

Оригинальная статья / Original article

УДК 579.017.8

<http://dx.doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-3-509-518>

Влияние источника углерода на синтез биомассы и экзополисахаридов бактериями *Paenibacillus mucilaginosus*

© Т.З. Ха*, З.А. Канарская*, А.В. Канарский*, А.В. Щербаков**, Е.Н. Щербакова**

* Казанский национальный исследовательский технологический университет,
г. Казань, Республика Татарстан, Российская Федерация

** Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Резюме: Бактерии *Paenibacillus mucilaginosus* являются одними из перспективных почвенных микроорганизмов для получения микробиологических удобрений. Эти бактерии продуцируют индолил-3-уксусную кислоту, аммиак, обладают способностью азотфиксации, солюблизации нерастворимых почвенных минералов с выходом калия и доступного для растений фосфора, стимулируя рост растений. Биопрепараты *P. mucilaginosus* рекомендуется использовать в виде кормовых добавок для укрепления иммунитета и увеличения продуктивности сельскохозяйственных животных. Для культивирования штаммов *P. mucilaginosus* рекомендуют использовать сахарозу. При этом не уделяется внимания изучению влияния на рост рассматриваемых бактерий глюкозы и фруктозы. Целью работы являлось исследование влияния различных источников углерода в составе питательной среды на синтез биомассы штаммов бактерий *P. mucilaginosus*. Установлено, что при культивировании на питательной среде с сахарозой и смесью глюкозы с фруктозой наблюдается двойной цикл роста. Удельная скорость роста рассматриваемых штаммов бактерий при ассимилировании глюкозы выше, чем при ассимилировании фруктозы. Соответственно, время генерации при ассимилировании глюкозы ниже, чем при ассимилировании фруктозы. Рост рассматриваемых штаммов бактерий *P. mucilaginosus* на питательной среде, в составе которой источником углерода является только фруктоза, не наблюдался. Показано, что глюкоза так же, как и сахароза, может эффективно использоваться в питательных средах для культивирования всех рассмотренных штаммов бактерий *P. mucilaginosus*. Установлено, что при культивировании бактерий *P. mucilaginosus* на питательных средах из глюкозы и сахарозы выход биомассы и экзополисахаридов выше, чем при культивировании этих штаммов бактерий на питательной среде из смеси глюкозы и фруктозы. Перспективными штаммами для применения в промышленности являются штаммы 563, 567, 574, которые дают высокий выход биомассы и экзополисахаридов при культивировании на питательной среде с глюкозой, и штаммы 560, 568, 572 – при культивировании на питательной среде с сахарозой.

Ключевые слова: глюкоза, фруктоза, сахароза, *Paenibacillus mucilaginosus*, культивирование, скорость роста, время генерации, биомасса, внеклеточные полисахариды

Информация о статье: Дата поступления 18 февраля 2019 г.; дата принятия к печати 5 сентября 2019 г.; дата онлайн-размещения 30 сентября 2019 г.

Для цитирования: Ха Т.З., Канарская З.А., Канарский А.В., Щербаков А.В., Щербакова Е.Н. Влияние источника углерода на синтез биомассы и экзополисахаридов бактериями *Paenibacillus mucilaginosus* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9, N 3. С. 509–518. DOI: 10.21285/2227-2925-2019-9-3-509-518

The effect of carbon source on the biomass and exopolysaccharide synthesis by *Paenibacillus mucilaginosus* bacteria

© Dung T. Ha*, Zosia A. Kanarskaya*, Albert V. Kanarsky*,
Andrei V. Shcherbakov**, Elena N. Shcherbakova**

* Kazan National Research Technological University, Kazan, Republic of Tatarstan, Russian Federation

** All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Saint-Petersburg, Russian Federation

Abstract: *Paenibacillus mucilaginosus* bacteria are one of the most promising soil microorganisms for obtaining microbiological fertilisers. These bacteria produce indolyl-3-acetous acid and ammonia, as well as possessing the capability of nitrogen fixation and solubilisation of undissolved soil minerals yielding potassium and phosphorus accessible to plants and consequently stimulating plant growth. *P. mucilaginosus* biological preparations are also useful in the form of fertiliser additives leading to immune stimulation and increase in the productivity of agricultural animals. For the cultivation of *P. mucilaginosus* bacterial strains, sucrose is recommended. At the same time, little research has been carried out on the influence of glucose and fructose on the growth of these bacteria. The aim of the work was to study the effect of various carbon sources in the composition of the nutrient medium on the biomass synthesis of *P. mucilaginosus* strains. As a result, a double growth cycle was observed under the conditions of culture on a nutrient medium with a sucrose and a glucose-fructose mixture. The specific growth rate of the bacterial strains under consideration in the assimilation of glucose is higher than in the assimilation of fructose. Accordingly, the generation time for glucose assimilation turned out to be lower than that for fructose assimilation. The growth of the considered bacterial strains on a single fructose nutrient medium was not observed. Glucose demonstrated similar effectiveness of application in culture media to sucrose for the cultivation of all considered bacterial strains of *P. mucilaginosus*. During culturing of *P. mucilaginosus* bacteria on nutrient media from glucose and sucrose, the yield of biomass and exopolysaccharides was established to be higher than for the case of a nutrient medium presented by a glucose-fructose mixture. Promising strains for industrial application include 563, 567 and 574, providing a high yield of biomass and exopolysaccharides with culture on a glucose-admixed nutrient medium, and 560, 568 and 572 strains when cultivated on a nutrient medium containing sucrose.

Keywords: glucose, fructose, sucrose, *Paenibacillus mucilaginosus*, culture, growth rate, generation time, biomass, extracellular polysaccharides

Information about the article: Received February 18, 2019; accepted for publication September 5, 2019; available online September 30, 2019.

For citation: Ха Д.Т., Канарская З.А., Канарский А.В., Шчербаков А.В., Шчербакова Е.Н. The effect of carbon source on the biomass and exopolysaccharide synthesis by *Paenibacillus mucilaginosus* bacteria. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* [Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology]. 2019, vol. 9, no. 3, pp. 509–518. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2019-9-3-509-518

ВВЕДЕНИЕ

Как известно, микроорганизмы оказывают решающее действие на формирование и генезис почвы, в существенной мере определяя степень ее плодородия. Почвенный сапрофитный микроорганизм *Bacillus mucilaginosus* в процессе своей жизнедеятельности продуцирует внеклеточные полисахариды, которые находят широкое применение в сельском хозяйстве в качестве препаратов направленного иммуномодулирующего и стимулирующего действия.

Более 20 лет назад на основании идентификации последовательности гена 16S рПНК род *Paenibacillus* был обособлен от рода *Bacillus* [1]. Было установлено, что штаммы *Paenibacillus* имеют различие в обобщенной нуклеотидной последовательности в области 16S рПНК по сравнению со штаммами *Bacillus*. Степень внутривидового сходства в последовательности гена 16S рПНК – 89,6% [2]. Однако виды бактерий *Paenibacillus* идентичны бактериям *Bacillus* в их взаимодействии с растениями как ризобактерии, стимулирующие рост растений. При этом способность к фиксации молекулярного азота, присущая некоторым штаммам *Paenibacillus*, обеспечивает им превосходство над бактериями *Bacillus*.

Бактерии рода *Paenibacillus* отличаются от других представителей рода *Bacillus* морфологически. Это стержнеобразные бактериальные клетки со жгутиками, которые продуцируют эллипсоидальные споры со вздутыми спорангиями. Биохимические признаки: каталазоположительные; оксидазоположительные; H₂S не продуцируют; GC состав на уровне 45–54%; в спектре жирных кислот клеточной стенки доминирует антеиновая кислота (15:0), имеют мезодиаминопимелиновую кислоту в качестве диагностической диаминокислоты, что характеризует эти бактерии как грамтрицательные [3].

Бактерии *Paenibacillus mucilaginosus* являются одними из самых перспективных почвенных микроорганизмов для получения биопрепаратов в качестве микробиологических удобрений. Эти бактерии продуцируют индолил-3-уксусную кислоту (ИУК) и аммиак, а также имеют способность к азотфиксации, разрушению нерастворимых почвенных минералов с выходом калия и водорастворимого фосфора, тем самым стимулируя рост растений [4–7]. Так, на основе штамма бактерий *B. mucilaginosus* штЗ-В2-5987, способного производить экзополисахарид, разработано удобрение, формирующее полезную

микрофлору ризосферы [8], а удобрение, созданное на основе штамма бактерий *B. mucilaginosus* Bac 1208, способного трансформировать малорастворимые соединения фосфора и калия в доступную для растений форму, имеет фитопатогенную активность [9]. В целях повышения вегетативной массы растений используются удобрения, созданные на основе штаммов, выращенных на питательных средах с содержанием пептона (*B. mucilaginosus*) [10]) или азотистых соединений (*Agrobacteriura radiobacter*) [11].

Для роста *P. mucilaginosus* необходимы азот и углерод, получить которые можно из различных источников растительного и животного происхождения. В почве наиболее лимитирующими факторами роста микроорганизмов являются источники углерода, которые оказывают влияние на количество и состав синтезируемых бактериями внеклеточных полисахаридов. При этом может варьироваться как количество, так и состав полисахаридов [12]. В качестве источника углерода для культивирования *B. mucilaginosus* X-О рекомендуют добавлять в состав питательных сред сахарозу [13], а для культивирования штамма ВКМ В-1446 Д бактерий *B. mucilaginosus* используют питательную среду из мелассы, которая содержит сахарозу и другие углеводы [14]. Следует отметить, что рекомендуемые углеводы для получения питательных сред авторы относят к конкретным штаммам *P. mucilaginosus*. При этом не уделяется внимания изучению влияния на рост рассматриваемых бактерий глюкозы и фруктозы. Учитывая перспективность применения в биотехнологии бактерий *P. mucilaginosus* как продуцентов биопродуктов сельскохозяйственного назначения (в качестве стимуляторов роста растений, а также кормовых добавок для животноводства [15]), поиск эффективных штаммов рассматриваемых бактерий и изучение их способности ассимилировать как сахарозу, так и глюкозу и фруктозу весьма актуально.

Целью работы являлось исследование влияния различных источников углерода в составе питательной среды на синтез биомассы штаммов бактерий *P. mucilaginosus*.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объектами исследования являлись 6 штаммов бактерий *P. mucilaginosus*: 560, 563, 567, 568, 572, 574, представленных Ведомственной коллекцией непатогенных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ФГБНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург).

Культуры *P. mucilaginosus* выращивали на стерильной жидкой минеральной питательной среде Александра следующего состава, %: NaCl – 0,02; K₂HPO₄ – 0,2; MgSO₄·7H₂O – 0,05; CaCO₃ – 0,01; NH₄NO₃ – 0,02 [16]. В качестве источника углеводов использовали: в первом варианте – сахароза (1%), во втором – глюкоза (2%), в третьем – фруктоза (2%), в четвертом – смесь глюкозы и фруктозы (2%) в соотношении 1:1. Культивирование проводилось на инкубаторе ES-20 (220 об./мин) в колбах Эрленмейера объемом 100 мл при температуре 30±1 °С в течение 3 суток. Посевной материал (инокулят) вносили в питательную среду в количестве 10%.

Для подсчета количества бактериальных клеток в культуральной жидкости использовали косвенный метод – турбидиметрию. Оптическую плотность культуральной жидкости определяли на спектрофотометре при длине волны 540 нм (OD₅₄₀) в кюветах шириной 5 мм. Подсчет выросших колоний проводили на чашках Петри с десятичными разведениями культуральной жидкости.

Уравнения, описывающие взаимосвязь числа колониеобразующих единиц (КОЕ) с оптической плотностью культуральной жидкости (OD₅₄₀), представлены в табл. 1.

По окончании культивирования рассчитывали удельную скорость роста и время генерации (удвоения биомассы) бактерий по формулам, приведенным в работе [17].

Таблица 1

Уравнения, описывающие взаимосвязь числа КОЕ бактерий с оптической плотностью культуральной жидкости

Table 1

Equations describing the relationship between the number of CFU of bacteria and the optical density of the culture liquid

Штамм	Уравнение*	R ²
560	$y = 586495x - 656,23$	R ² = 0,9995
563	$y = 78159x + 124,26$	R ² = 0,9995
567	$y = 34174x + 3,56$	R ² = 0,9997
568	$y = 16276x + 22,21$	R ² = 0,9999
572	$y = 257801x - 310,83$	R ² = 0,9998
574	$y = 661704x + 656,19$	R ² = 0,9997

*у – число колониеобразующей единицы (КОЕ); x – оптическая плотность (OD), R² – величина достоверности аппроксимации.

Сухие вещества по окончании процесса культивирования определяли гравиметрическим методом после высушивания культуральной жидкости инфракрасным способом на влагомере МХ-50. Водородный показатель в культуральной жидкости определяли потенциометрически на рН-метре 150 МИ. Вязкость культуральной жидкости определяли на вискозиметре Vibro SV-10A. Определение остаточных редуцирующих веществ (глюкоза и фруктоза) в питательной среде осуществляли колориметрическим методом с использованием 3,5-динитросалициловой кислоты (ДНСК-реагент), приведенной в работе [18].

Эксперименты проводили в трех повторнос-

тях, полученные результаты обрабатывали с использованием стандартного пакета программы Excel 2010.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследования показали, что использованные в экспериментах штаммы *P. mucilaginosus* растут на питательной среде с глюкозой, сахарозой и смесью глюкозы и фруктозы. При этом на питательной среде с фруктозой рост бактерий не наблюдался.

Как видно из графиков, представленных на рис.1, источники углерода существенно влияют на кинетику роста штаммов бактерий *P. mucilaginosus*.

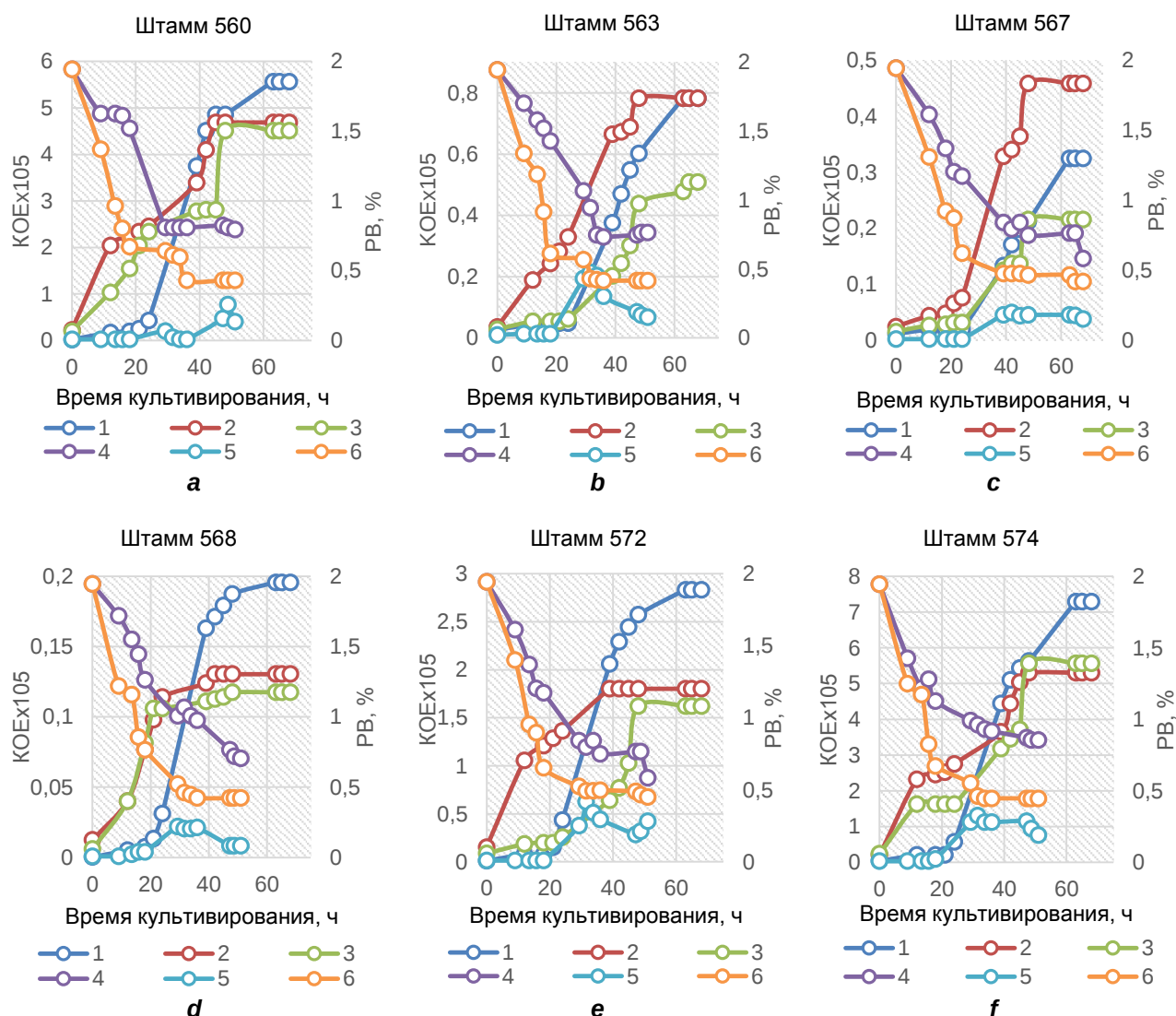


Рис. 1. Кинетика роста штаммов *P. mucilaginosus* и потребление редуцирующих веществ (PB) при культивировании на питательной среде: с глюкозой (1 – КОЕ, 4 – PB), сахарозой (2 – КОЕ, 5 – PB) и смесью глюкозы и фруктозы (3 – КОЕ, 6 – PB)

Fig. 1. Growth kinetics and PB consumption by bacteria *P. mucilaginosus* on nutrient medium: with glucose (1 – CFU, 4 – PB), sucrose (2 – CFU, 5 – PB) and glucose and fructose mixture (3 – CFU, 6 – PB)

Культивирование штаммов 560, 568, 572, 574 на питательной среде с глюкозой показало, что рост бактерий *P. mucilaginosus* протекает интенсивней, чем при культивировании на питательной среде с сахарозой и смесью глюкозы и фруктозы. При этом число клеток бактерий (КОЕ/см³) по завершению культивирования на питательной среде с глюкозой в 1,2–1,6 раза больше, чем при культивировании на питательных средах с сахарозой и смесью глюкозы и фруктозы. У штаммов 560 и 574 бактерий *P. mucilaginosus* интенсивный рост наблюдался при культивировании на питательной среде с глюкозой, сахарозой и смесью глюкозы и фруктозы (<4,5·10⁵ КОЕ/см³).

Продолжительность лаг-фазы роста при культивировании всех штаммов на питательной среде из сахарозы (кроме штамма 567) незначительна (рис. 1, график 2). Однако при культивировании на питательной среде, включающей глюкозу, лаг-фаза у всех штаммов достигает 20 ч (рис. 1, график 1). Можно предположить, что избыточное количество глюкозы является стрессовым фактором, что приводит к увеличению продолжительности лаг-фазы роста бактерий. Однако, как сказано выше, по завершению лаг-фазы рост бактерий на питательной среде с глюкозой выше, чем на питательных средах с сахарозой и смесью глюкозы и фруктозы.

Следует отметить, что усвоение субстрата исследуемыми штаммами бактерий *P. mucilaginosus* идентично. О потреблении субстрата бактериями можно судить по изменению содержания редуцирующих веществ в питательной среде (рис. 1, графики 4, 5, 6). Наиболее интенсивное потребление редуцирующих веществ происходит из питательной среды, приготовленной из смеси глюкозы и фруктозы по сравнению с потреблением редуцирующих веществ из питательной среды, приготовленной из глюкозы (рис. 1, графики 4, 6). Интенсивное усвоение редуцирующих веществ из питательной среды, приготовленной на глюкозе, происходит от 40 до 50 ч, затем интенсивность потребления снижается. Интенсивное потребление бактериями редуцирующих веществ из питательной среды, приготовленной из смеси глюкозы и фруктозы, происходит менее, чем за 20 ч, затем потребление РВ сокращается. Так, из графически представленных результатов видно (см. рис. 1), что на момент окончания культивирования бактерий *P. mucilaginosus* на питательной среде с глюкозой потребление этого субстрата составило 56–70%. Однако при культивировании бактерий *P. mucilaginosus* на питательной среде со смесью глюкозы и фруктозы потребление глюкозы дошло до 76–78%. Полученные результаты указывают на возможность потребления бактериями не только глюкозы, но и фруктозы, находящейся в смеси с глюкозой.

При культивировании штаммов 560, 563, 567, 572, 574 бактерий *P. mucilaginosus* на пита-

тельной среде с сахарозой наблюдает двойной цикл роста. Однако при культивировании штамма 568 на питательных средах с сахарозой и со смесью глюкозы и фруктозы двойного цикла роста не наблюдается. До 12 ч культивирования бактерии размножаются экспоненциально, затем наступает небольшая пауза, после которой экспоненциальный рост возобновляется. Отсутствие двойного цикла роста у штамма 568 при культивировании на питательной среде, содержащей сахарозу и смесь глюкозы и фруктозы, приводит к снижению числа бактериальных клеток (рис. 1 d). Культивирование бактерий *P. mucilaginosus* на питательной среде, содержащей сахарозу, сопровождается синтезом этими бактериями внеклеточного фермента β -фруктофураногидазы, который гидролизует сахарозу до глюкозы и фруктозы. Известно, что первично усваивая глюкозу, бактерии синтезируют внутриклеточный фермент фосфоглюкоизомеразу, которая способствует усвоению фруктозы [19].

При культивировании до 20 ч образующиеся редуцирующие вещества практически полностью ассимилируются бактериями (рис. 1, график 5). Продолжение культивирования бактерий до 40 ч сопровождается образованием избыточных РВ. Дальнейшее культивирование бактерий сопровождается потреблением избыточных РВ, и по окончании культивирования содержание редуцирующих веществ в культуральной жидкости сопоставимо с содержанием редуцирующих веществ в культуральных жидкостях с глюкозой и смесью глюкозы и фруктозы. Это указывает на то, что происходит усвоение как глюкозы, так и фруктозы при культивировании бактерий *P. mucilaginosus* на питательной среде с сахарозой.

При культивировании бактерий *P. mucilaginosus* на рассматриваемых питательных средах наблюдается снижение pH культуральной жидкости (рис. 2) за счет образования продуктов метаболизма, таких как органические кислоты (муравьиная, уксусная, щавелево-уксусная, щавелевая, янтарная, винная и др.) [20]. При этом наибольшее снижение pH происходит при культивировании бактерий на питательной среде, содержащей только глюкозу, и чем больше доля глюкозы в питательной среде, тем больше образуется органических кислот и ниже pH культуральной жидкости.

Удельная скорость роста, время генерации, выход биомассы и экзополисахаридов при культивировании бактерий *P. mucilaginosus* на рассматриваемых питательных средах представлены в табл. 2. Следует отметить, что при двойном цикле роста бактерий на питательной среде с сахарозой и смесью глюкозы и фруктозы удельная скорость роста при ассимилировании глюкозы выше, чем при ассимилировании фруктозы. Соответственно, время генерации рассматриваемых штаммов бактерий при ассимилировании глюкозы ниже, чем при ассимилировании фруктозы.

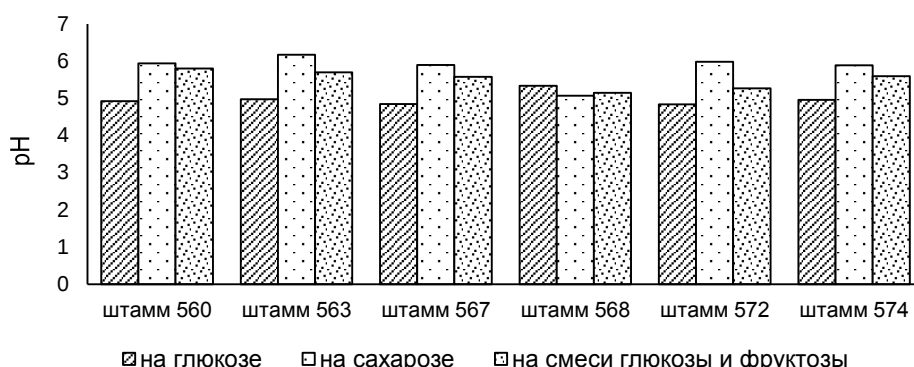


Рис. 2. Значение pH культуральной жидкости по окончании культивирования *P. mucilaginosus* на питательной среде с сахарозой, глюкозой, и смесью глюкозы и фруктозы при начальном значении pH $7,3 \pm 0,03$

Fig. 2. pH value of culture liquid by cultivating *P. mucilaginosus* on nutrient medium with sucrose, glucose, and glucose and fructose mixture with initial pH 7.3 ± 0.03

Таблица 2

Характеристики роста штаммов бактерий *P. mucilaginosus* при культивировании на питательной среде с сахарозой, глюкозой, смесью глюкозы и фруктозы

Table 2

Growth characteristics of bacterial strains *P. mucilaginosus* when cultivated on nutrient medium with sucrose, glucose, and glucose and fructose mixture

Штамм	Источник углерода	Удельная скорость роста, ч ⁻¹	Время генерации, ч	Содержание биомассы и экзополисахаридов в КЖ, %	Выход биомассы и экзополисахаридов по РВ, %
560	глюкоза	0,1365±0,0300	5,24±1,11	0,92±0,05	75,69±2,50
	сахароза	0,1838±0,0149	3,79±0,31	1,02±0,05	86,35±2,50
		0,023±0,0001	30,56±0,02		
	глюкоза и фруктоза (1:1)	0,1304±0,0115	5,34±0,47	0,55±0,05	34,73±2,50
563	глюкоза	0,1159±0,0008	5,98±0,04	1,09±0,05	88,02±2,50
		0,1272±0,0098	5,47±0,42		
		0,0478±0,0001	14,48±0,03		
	глюкоза и фруктоза (1:1)	0,0540±0,0142	13,45±3,56	0,51±0,05	32,50±2,50
567	сахароза	0,1347±0,0015	5,15±0,06	1,20±0,05	84,55±2,50
		0,0978±0,0004	7,08±0,03		
		0,0407±0,0004	17,03±0,18		
	глюкоза и фруктоза (1:1)	0,0484±0,0126	14,95±3,73	0,56±0,05	35,52±2,50
568	глюкоза	0,1514±0,0200	4,64±0,64	0,85±0,05	65,13±2,50
		0,1519±0,0074	4,57±0,22		
		0,1605±0,0158	4,35±0,43		
	глюкоза и фруктоза (1:1)	0,1605±0,0158	4,35±0,43	0,58±0,05	36,28±2,50
572	глюкоза	0,1434±0,0313	4,99±1,04	1,14±0,05	80,17±2,50
		0,1620±0,097	4,29±0,26		
		0,0191±0,0001	36,46±0,03		
	глюкоза и фруктоза (1:1)	0,0634±0,0157	11,38±2,82	0,48±0,05	31,03±2,50
574	сахароза	0,1312±0,0320	5,48±1,23	0,92±0,05	80,52±2,50
		0,2038±0,019	3,42±0,32		
		0,0236±0,0001	29,39±0,03		
	глюкоза и фруктоза (1:1)	0,1613±0,0160	4,33±0,43	0,52±0,05	33,69±2,50

Примечание. В числителе приведены характеристики при ассимилировании глюкозы, в знаменателе – при ассимилировании фруктозы

Использованные в качестве питательной среды источники углерода также влияют на выход биомассы и экзополисахаридов. Все штаммы бактерий при культивировании на питательных средах с сахарозой и с глюкозой имеют довольно высокий выход биомассы и экзополисахаридов (около 70–88% от редуцирующих веществ). Самыми эффективными при культивировании на сахарозе являются штаммы 560, 568, 572, на глюкозе – штаммы бактерий 563, 567 и 574. Выход биомассы и экзополисахари-

дов при культивировании бактерий на смеси глюкозы и фруктозы в два раза ниже по сравнению с данными при культивировании бактерий на сахарозе и глюкозе. Это указывает на значительные дополнительные энергетические затраты на рост бактериями *P. mucilaginosus* при культивировании на среде, содержащей глюкозу и фруктозу.

На рис. 3 отражена зависимость вязкости культуральной жидкости от состава питательной среды.

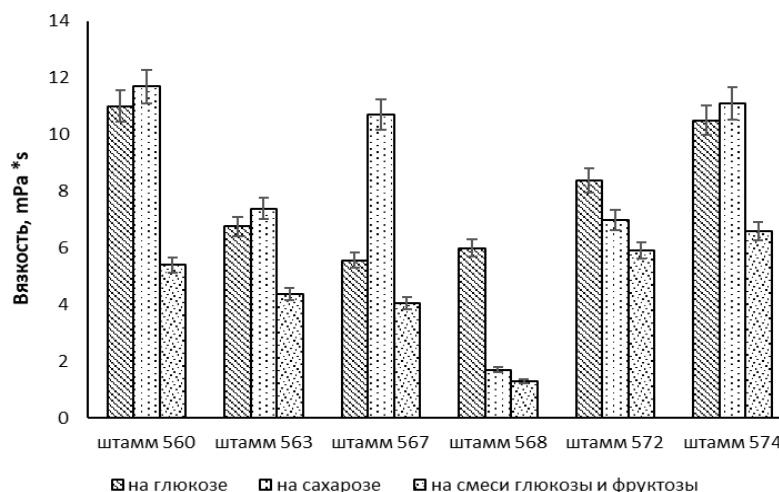


Рис. 3. Вязкость культуральной жидкости бактерий *P. mucilaginosus* при культивировании на питательной среде с сахарозой, глюкозой и смесью глюкозы и фруктозы по окончании культивирования

Fig. 3. Viscosity of bacteria *P. mucilaginosus* culture liquid when cultivated in nutrient medium with sucrose, glucose and glucose and fructose mixture at the end of cultivation

Из диаграмм, представленных на рис. 3 видно, что вязкость культуральной жидкости с бактериями всех штаммов *P. mucilaginosus* при культивировании на питательной среде со смесью глюкозы и фруктозы ниже значений вязкости при культивировании бактерий на питательных средах с глюкозой и сахарозой. При этом высокая вязкость культуральной жидкости наблюдается при культивировании бактерий на питательных средах с сахарозой и глюкозой, что обусловлено синтезом внеклеточных полисахаридов.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что при культивировании штаммов 560, 563, 567, 572, 574, бактерий *P. mucilaginosus* на питательной среде с сахарозой и смесью глюкозы с фруктозой наблюдается двойной цикл роста. При культивировании штамма 568 на питательных средах с сахарозой и со смесью глюкозы и фруктозы двойного цикла роста не наблюдается, что приводит к снижению выхода биомассы и экзополисахаридов.

2. Выявлено, что удельная скорость роста

рассматриваемых штаммов бактерий при ассимилировании глюкозы выше, чем при ассимилировании фруктозы. Соответственно, время генерации рассматриваемых штаммов бактерий при ассимилировании глюкозы ниже, чем при ассимилировании фруктозы. Потребление бактериями фруктозы происходит только при наличии в питательной среде глюкозы.

3. Показано, что при культивировании рассматриваемых штаммов бактерий *P. mucilaginosus* на питательных средах из глюкозы и сахарозы выход биомассы и экзополисахаридов выше, чем при культивировании этих штаммов бактерий на питательной среде из смеси глюкозы и фруктозы. Глюкоза так же, как и сахароза, может эффективно использоваться в питательных средах для культивирования всех рассмотренных штаммов бактерий *P. mucilaginosus*.

4. Отмечено, что перспективными для промышленности являются штаммы 563, 567, 574, дающие высокий выход биомассы и экзополисахаридов при культивировании на питательной среде с глюкозой, и штаммы 560, 568, 572 – при культивировании на питательной среде с сахарозой.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ahmad F., Ahmad I., Khan M.S. Screening of free-living *Rhizospheric* bacteria for their multiple plant growth promoting activities // *Microbiological Research*. 2008. Vol. 163. Issue 2. P. 173–181. DOI: 10.1016/j.micres.2006.04.001
2. Ash C., Priest F.G., Collins M.D. Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks and Collins) using a PCR probe test // *Antonie van Leeuwenhoek*. 1993. Vol. 64. Issue 3-4. P. 253–260.
3. Goswami D., Parmar S., Vaghela H., Dhandhukia P., Thakker J.N. Describing *Paenibacillus mucilaginosus* strain N3 as an efficient plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) // *Cogent Food & Agriculture*. 2015. Vol. 1. Issue 1. DOI: 10.1080/23311932.2014.1000714
4. Aleksandrov V., Blagodyr R., Ilev I. Liberation of phosphoric acid from apatite by silicate bacteria // *Mikrobiol Zh. (Kiev)*. 1997. Vol. 29. P. 111–114.
5. Liu W., Xu X., Wu X., Yang Q., Luo Y., Christie P. Decomposition of silicate minerals by *Bacillus mucilaginosus* in liquid culture // *Environmental Geochemistry and Health*. 2006. Vol. 28. No. 1-2. P. 133–140. DOI: 10.1007/s10653-005-9022-0
6. Basak B.B., Biswas D.R. Influence of potassium solubilizing microorganism (*Bacillus mucilaginosus*) and waste mica on potassium uptake dynamics by sudan grass (*Sorghum vulgare* Pers.) grown under two *Alfisol*s // *Plant and Soil*. 2008. Vol. 317. Issue 1-2. P. 235–255.
7. Sheng X.F., Huang W.Y., Yin Y.X. Effects of application of silicate bacteria fertilizer and its potassium release // *Journal of Nanjing Agricultural University*. 2003. Vol. 23. P. 43–46.
8. Пат. № 2081867. Российская Федерация. Штамм бактерий *Bacillus mucilaginosus* для получения удобрения и экзополимера / А.А. Глухова, Р.А. Крицкая, В.Д. Лободюк, М.Б. Никитина, Е.В. Чекакина; заявл. 02.08.1995; опубл. 20.06.1997.
9. Пат. № 2408722. Российская Федерация. Штамм бактерий *Bacillus mucilaginosus* Bac 1208, обладающий повышенными фосфор и калий мобилизующими свойствами и удобрение на его основе / С.А. Пластинин, В.А. Никульшин, А.В. Здорнов; патентообладатель ООО «Промышленные инновации»; заявл. 24.06.2009; опубл. 10.01.2011.
10. Пат. № 2241692. Российская Федерация. Способ получения биоудобрений В.К. Чеботарь, А.Е. Казаков, С.В. Ерофеев. 2002.
11. Авт. свид. 1756318. Штамм бактерий *Paenibacillus mucilaginosus*, способ стимуляции роста и защиты растений от болезней и применение штамма бактерий *Paenibacillus mucilaginosus* в качестве удобрения и агента биологического контроля (противопатогенного средства) в профилактике и/или лечении заболевания растений / С.А. Пластинин, А.В. Здорнов, В.А. Никульшин. 2017. 12 с.
12. Lu J.-J., Xue A.-Q., Cao Z.-Y., Yang S.-J., Hu X.-F. Diversity of plant growth-promoting *Paenibacillus mucilaginosus* isolated from vegetable fields in Zhejiang, China // *Annals of Microbiology*. 2014. Vol. 64. Issue 4. P. 1745–1756. DOI: 10.1007/s13213-014-0818-y
13. Таусон Е.Л., Кузьмина Л.А., Павлова Л.А., Виноградов Е.Я., Воронков М.Г., Мирскова А.Н. Оптимизация состава питательной среды для выращивания *Bacillus mucilaginosus* // *Известия Сибирского отделения Академии наук СССР. Серия биологических наук*. 1988. N 20. Вып. 3. С. 74–79.
14. Wang X., Yuan X.F., Zhao B., et al. Optimization of Culture Medium for Growth of *B. mucilaginosus* PM13 Strain // *The Chinese Journal of Process Engineering*. 2010. Vol. 10. Issue. 3. P. 582–587.
15. Няникова Г.Г., Виноградов Е.Я. Сферы возможного применения культуры *Bacillus mucilaginosus* // *Актуальные вопросы химической науки и технологии, экологии в химической промышленности: обзор. инф. / НИИТЭХИМ*, 1995. Вып. 3. 18 с.
16. Yuksekdag Z.N., Aslim B. Influence of different carbon sources on exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (B3, G12) and *Streptococcus thermophilus* (W22) // *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2008. Vol. 51. Issue 3. P. 581–585. DOI: 10.1590/S1516-89132008000300019
17. Maier R.M. Bacterial Growth. In: Maier R.M., Pepper I.L., Gerba C.P. (eds.). *Environmental Microbiology*. Second Edition. Academic Press of Elsevier, 2009. P. 38–56.
18. Морозова Ю.А., Скворцов Е.В., Алимova Ф.К., Канарский А.В. Биосинтез ксиланаз и целлюлаз грибами рода *Trichoderma* на послеспиртовой барде // *Вестник Казанского технологического университета*. 2012. Т. 15. N 19. С. 120–122.
19. Fuhrer T., Fischer E., and Sauer U. Experimental Identification and Quantification of Glucose Metabolism in Seven Bacterial Species // *Journal of Bacteriology*. 2005. Vol. 187. Issue 5. P. 1581–1590. DOI: 10.1128/JB.187.5.1581-1590.2005
20. Куис Л.В., Маркевич Р.М. Накопление кислот в культуральной жидкости бактерий рода *Bacillus* // *Труды Белорусского государственного технологического университета. Серия 4. Химия и технология органических веществ*. 2008. Т. 1. N 4. С. 195–198.

REFERENCES

1. Ahmad F., Ahmad I., Khan M.S. Screening of free-living *Rhizospheric* bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research*. 2008, vol. 163, issue 2, pp. 173–181. DOI: 10.1016/j.micres.2006.04.001
2. Ash C., Priest F.G., Collins M.D. Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks and Collins) using a PCR probe test. *Antonie van Leeuwenhoek*. 1993, vol. 64, issue 3–4, pp. 253–260.
3. Goswami D., Parmar S., Vaghela H., Dhandhukia P., Thakker J.N. Describing *Paenibacillus mucilaginosus* strain N3 as an efficient plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Cogent Food & Agriculture*. 2015, vol. 1, issue 1. DOI: 10.1080/23311932.2014.1000714

4. Aleksandrov V., Blagodyr R., Ilev I. Liberation of phosphoric acid from apatite by silicate bacteria. *Mikrobiol Zh. (Kiev)*. 1997, vol. 29, pp.111–114.
5. Liu W., Xu X., Wu X., Yang Q., Luo Y., Christie P. Decomposition of silicate minerals by *Bacillus mucilaginosus* in liquid culture. *Environmental Geochemistry and Health*. 2006, vol. 28, no. 1-2, pp. 133–140. DOI: 10.1007/s10653-005-9022-0
6. Basak B.B., Biswas D.R. Influence of potassium solubilizing microorganism (*Bacillus mucilaginosus*) and waste mica on potassium uptake dynamics by sudan grass (*Sorghum vulgare* Pers.) grown under two *Alfisols*. *Plant and Soil*. 2008, vol. 317, issue 1–2, pp. 235–255.
7. Sheng X.F., Huang W.Y., Yin Y.X. Effects of application of silicate bacteria fertilizer and its potassium release. *Journal of Nanjing Agricultural University*. 2003, vol. 23, pp. 43–46. (In Chinese).
8. Glukhova A.A., Kritskaya R.A., Lobodyuk V.D., Nikitina M.B., Chekasina E.V. *Shtamm bakterii Bacillus mucilaginosus dlya polucheniya udobreniya i ekzopolimera* [The strain of bacteria *Bacillus mucilaginosus* to obtain fertilizer and exopolymer]. Patent of RF, no. 2081867, 1997.
9. Plastinin S.A., Nikulshin V.A., Zdornov A.V. *Shtamm bakterii Bacillus mucilaginosus Bac 1208, obladayushchii povyshennymi fosfor i kalii mobilizuyushchimi svoystvami i udobrenie na ego osnove* [The bacterial strain *Bacillus mucilaginosus* Bac 1208, which has enhanced phosphorus and potassium mobilizing properties and fertilizer based on it]. Patent of RF, no. 2408722, 2011.
10. Chebotar' V.K., Kazakov A.E., Erofeev S.V. *Sposob polucheniya bioudobrenii* [The method for obtaining bio-fertilizers]. Patent of RF, no. 2241692, 2002.
11. Plastinin S.A., Zdornov A.V., Nikulshin V.A. *The strain of bacteria Paenibacillus mucilaginosus, a method of stimulating the growth and protection of plants from diseases and the use of the strain of bacteria Paenibacillus mucilaginosus as a fertilizer and agent of biological control (anti-pathogenic agent) in the prevention and / or treatment of plant diseases*. Certificate of authorship RF, no. 1756318, 2017.
12. Lu J.-J., Xue A.-Q., Cao Z.-Y., Yang S.-J., Hu X.-F. Diversity of plant growth-promoting *Paenibacillus mucilaginosus* isolated from vegetable fields in Zhejiang, China. *Annals of Microbiology*. 2014, vol. 64, issue 4, pp. 1745–1756. DOI: 10.1007/s13213-014-0818-y
13. Tauson E.L., Kuz'mina L.A., Pavlova L.A., Vinogradov E.Ya., Voronkov M.G., Mirskova A.N. Optimization of the composition of the nutrient medium for growing *Bacillus mucilaginosus*. *Izvestiya Sibirskogo otdeleniya Akademii nauk SSSR. Seriya biologicheskikh nauk*. 1988, no. 20, issue 3, pp. 74–79.
14. Wang X., Yuan X.F., Zhao B., et al. Optimization of Culture Medium for Growth of *B. mucilaginosus* PM13 Strain. *The Chinese Journal of Process Engineering*. 2010, vol. 10, issue 3, pp. 582–587. (In Chinese)
15. Nyanikova G.G., Vinogradov E.Ya. Areas for possible application of the *Bacillus mucilaginosus* culture. *Aktual'nye voprosy himicheskoy nauki i tekhnologii, jekologii v himicheskoy promyshlennosti*. 1995, issue 3, 18 p. (In Russian)
16. Yuksekdag Z.N., Aslim B. Influence of different carbon sources on exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (B3, G12) and *Streptococcus thermophilus* (W22). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2008, vol. 51, issue 3, pp. 581–585. DOI: 10.1590/S1516-89132008000300019
17. Maier R.M. Bacterial Growth. In: *Environmental Microbiology*. Second Edition. Ed. by R.M. Maier, I.L. Pepper, C.P. Gerba Academic Press of Elsevier, 2009, pp. 38–56.
18. Morozova Yu.A., Skvortsov E.V., Alimova F.K., Kanarskii A.V. The biosynthesis of xylanases and cellulases by *Trichoderma* fungi on the post-alcohol bard. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*. 2012, vol. 15, no. 19, pp. 120–122. (In Russian)
19. Fuhrer T., Fischer E., and Sauer U. Experimental Identification and Quantification of Glucose Metabolism in Seven Bacterial Species. *Journal of Bacteriology*. 2005, vol. 187, issue 5, pp. 1581–1590. DOI: 10.1128/JB.187.5.1581-1590.2005
20. Kuis L.V., Markevich R.M. Acid accumulation in *Bacillus* cultural liquid. *Trudy Belorusskogo gosudarstvennogo tekhnologicheskogo universiteta. Seriya 4. Khimiya i tekhnologiya organicheskikh veshchestv*. 2008, vol. 1, no. 4, pp. 195–198. (In Russian)

Критерии авторства

Ха Т.З., Канарская З.А., Канарский А.В., Щербаков А.В., Щербакова Е.Н. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Ха Т.З., Канарская З.А., Канарский А.В., Щербаков А.В., Щербакова Е.Н. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

Dung T. Ha, Zosia A. Kanarskaya, Albert V. Kanarsky, Andrei V. Shcherbakov, Elena N. Shcherbakova carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Dung T. Ha, Zosia A. Kanarskaya, Albert V. Kanarsky, Andrei V. Shcherbakov, Elena N. Shcherbakova have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Ха Тхи Зунг,
аспирант кафедры пищевой биотехнологии,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
e-mail: coldwind.91@mail.ru

Канарская Зося Альбертовна,
к.т.н., доцент, доцент кафедры
пищевой биотехнологии,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
✉ e-mail: zosya_kanarskaya@mail.ru

Канарский Альберт Владимирович,
д.т.н., профессор, профессор кафедры
пищевой биотехнологии,
Казанский национальный исследовательский
технологический университет,
e-mail: alb46@mail.ru

Щербаков Андрей Васильевич,
к.б.н., научный сотрудник лаборатории
технологии микробных препаратов,
Всероссийский НИИ сельскохозяйственной
метеорологии,
e-mail: microbe-club@inbox.ru

Щербакова Елена Николаевна,
к.с.-х.н., младший научный сотрудник
лаборатории технологии микробных
препаратов,
Всероссийский НИИ сельскохозяйственной
метеорологии,
e-mail: alonagonchar@mail.ru

AUTHORS' INDEX

Dung T. Ha,
Postgraduate Student,
Department of Food Biotechnology,
Kazan National Research Technological University,
e-mail: coldwind.91@mail.ru

Zosia A. Kanarskaya,
Ph.D. (Engineering), Associate Professor,
Department of Food Biotechnology,
Kazan National Research Technological University,
✉ e-mail: zosya_kanarskaya@mail.ru

Albert V. Kanarsky,
Dr. Sci. (Engineering), Professor,
Kazan National Research Technological University,
e-mail: alb46@mail.ru

Andrei V. Shcherbakov,
Ph.D. (Biology), Researcher,
Laboratory of Microbial Technology,
All-Russia Research Institute
for Agricultural Microbiology,
e-mail: microbe-club@inbox.ru

Elena N. Shcherbakova,
Ph.D. (Agriculture), Junior Researcher,
Laboratory of Microbial Technology,
All-Russia Research Institute
for Agricultural Microbiology,
e-mail: alonagonchar@mail.ru