Auxin and carotene biosynthesis by the bacterium *Pantoea agglomerans*

Gilvanova E.A., Milman P.Yu.

Ufa Institute of biology UFRS RAS, Ufa, Russia

E-mail: gelena@anrb.ru

Key message. Monitoring of auxin and carotene during cultivation of the *Pantoea agglomerans* strain IB-BF revealed that the maximum yield of the target products is provided not by population density, but by the qualitative composition of the nutrient medium and the need for a larger peptide component of the substrate (rich amino acid set), which is part of the standard LB medium.

Keywords: PGPB bacteria, *Pantoea*, indolyl-3-acetic acid, carotenoids

It is known that associative endo(epi)phytobacteria are potential objects of agrobiotechnology for the development on their basis of biological plant protection products from stresses (osmotic, salt, heavy metal pollution) and phytopathogens. The selection of a nutrient medium and conditions for the cultivation of producers of biologically active substances is a priority step in the process of creating biological products. The task was to determine the maximum level of accumulation of target products by culture *Pantoea agglomerans* IB-BF in the five proposed media options: 1) Luria-Bertani (LB), NaCl - 10 g/l; 2) LB + L-tryptophan (0.01%), NaCl - 10 g/l; 3) BS: yeast extract - 10 g/l, KH_2PO_4 - 2 g/l, NaCl - 10 g/l; 4) K1: starch -10 g/l, peptone - 5 g/l, yeast extract - 5 g/l, KH_2PO_4 - 2 g/l, NaCl - 10 g/l; 5) potato broth, glucose -10 g/l, NaCl - 10 g/l. IAA production in the culture liquid medium was determined by the method using Salkovsky reagent, carotenoids after extraction from the cell biomass with a methanol: chloroform mixture (2:1) and measurements of the optical density of the supernatant at a wavelength at 461 nm were expressed in accepted units of $\text{OD}_{461}/\text{mg}$ dry biomass. Cell concentration was evaluated by optical density at 600 nm. It was shown that the duration of auxin accumulation for the selected strain was 8 days with a maximum yield of 5-6 days (stationary growth phase), while carotenoids accumulated as much as possible during the period of 4-6 days, depending on the type of medium. The list of culture media, compiled by the degree of reduction of auxin ($\mu\text{g}/\text{ml}$) in CL, is as follows: LB + tryptophan (20.9) > LB (17.9) > K1 (10.2) > BS (6.8) > Potato dextrose (2). Regarding carotene values (in $\text{OD}_{461}/\text{mg}$ dry b/m), a similar set has the following view: LB (0.1723) > Potato dextrose (0.172) > LB + tryptophan (0.113) > BS (0.08) > K1 (0.061). It was found that, when cultured on tryptophan medium (0.01%), the auxin level significantly increases by 17%, which suggests a tryptophan-dependent pathway for the formation of IAA by the *Pantoea agglomerans* strain IB-BF.

Биосинтез ауксина и каротина бактерией *Pantoea Agglomerans*

Гильванова Е.А., Мильман П.Ю.

Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН, Уфа, Россия

Аннотация. Мониторинг ауксина и каротина при культивировании штамма *Pantoea agglomerans* IB-BF выявил, что максимальный выход целевых продуктов обеспечивается не плотностью популяций, а качественным составом питательной среды и потребностью в большей пептидной составляющей субстрата (богатого аминокислотного набора), входящей в состав стандартной среды LB.

Ключевые слова: PGPB бактерии, *Pantoea*, индол-3-уксусная кислота, каротиноиды

Известно, что ассоциативные эндо(эпи)фитные бактерии являются потенциальными объектами агробιοтехнологии для разработки на их основе биологических средств защиты растений от стрессов (осмотического, солевого, загрязнения тяжелыми металлами) и фитопатогенов. Подбор питательной среды и условий для культивирования продуцентов биологически активных веществ является приоритетным этапом в процессе создания биопрепаратов. В работе поставлена задача определения максимального уровня накопления целевых продуктов культурой *Pantoea agglomerans* IB-BF на предложенных пяти вариантах сред: 1) Luria-Bertani (LB), NaCl – 10 г/л; 2) LB+L-триптофан (0,01%), NaCl – 10 г/л; 3) BS: дрожжевой экстракт – 10 г/л, KH_2PO_4 – 2 г/л, NaCl – 10 г/л; 4) K1: крахмал -10 г/л, пептон – 5 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, KH_2PO_4 – 2 г/л, NaCl – 10 г/л; 5) картофельный отвар, глюкоза -10 г/л, NaCl – 10 г/л. Продукцию ИУК в культуральной жидкой среде определяли по методике с использованием реактива Сальковского, каротиноиды после экстракции из клеточной биомассы смесью метанол:хлороформ (2:1) и измерения оптической плотности супернатанта при длине волны 461 нм выражали в условных единицах ОП₄₆₁/мг сух. биомассы. Концентрацию клеток оценивали по оптической плотности при 600 нм. Показано, что продолжительность накопления ауксина для выбранного штамма составляла 8 суток с максимальным выходом на 5-6 сутки (стационарная фаза роста), тогда как каротиноиды максимально накапливались в период 4-6 сутки в зависимости от типа среды. Ряд вариантов питательных сред, построенный по степени снижения уровня ауксина (мкг/мл) в КЖ выглядит следующим образом: LB+триптофан (20,9) > LB (17,9) > K1 (10,2) > BS (6,8) > Картоф. отвар (2). Для уровня каротина (по ОП₄₆₁/мг сух. б/м) подобный ряд имеет следующий вид: LB (0,172) > Картоф. отвар (0,172) > LB+триптофан (0,113) > BS (0,08) > K1 (0,061). Установлено, что при культивировании на среде с триптофаном (0,01%) достоверно увеличивается уровень ауксина на 17%, что позволяет предполагать триптофан-зависимый путь образования ИУК у штамма *Pantoea agglomerans* IB-BF.

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке РФФИ (проект №18-04-00577 А) в рамках государственного задания Минобрнауки России по теме № АААА-А18-118022190098-9.