Влияние защитной среды на выживаемость Pseudomonas chlororaphis GPR225 при лиофилизации.

Научный руководитель – Зайцева Юлия Владимировна

Злобин Илья Васильевич

Студент (магистр)

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия E-mail: ilu.zlobin21@yandex.ru

Разработка биопрепаратов для стимуляции роста и защиты растений от фитопатогенов является одной из актуальных задач современного растениеводства. По сравнению с химическими средствами защиты растений биопрепараты безопасны для окружающей среды, не нарушают природных связей в биоценозе, обладают избирательным действием и не способствуют возникновению устойчивости у организмов - мишеней. Однако, наличие живых микроорганизмов в составе биопрепаратов диктует необходимость тщательного подбора условий их сохранения для последующего использования. Одним из наиболее эффективных способов консервации микроорганизмов является метод лиофилизации. Для защиты клеток от негативных факторов предварительной глубокой заморозки необходимо подобрать оптимальный состав защитной среды. При выборе криопротектора следует исходить как из защитных свойств, обеспечивающих наилучшую сохранность лиофилизируемой культуры, так и с точки зрения его коммерческой стоимости.

Целью данной работы являлось изучение влияния состава защитной среды на выживаемость *Pseudomonas chlororaphis* GPR225 в процессе лиофилизации. Ранее мы показали, что данный штамм обладает фунгицидными и бактерицидными свойствами, стимулирует рост растений, проявляет фосфатрастворяющую активность. Штамм депонирован во Всероссийской Коллекции Промышленных Микроорганизмов ФГУПГосНИИГенетика, коллекционный номер ВКПМ В-13158. Штамм может быть использован для создания на его основе биопрепарата для регуляции роста и защиты растений.

Культуру P. chlororaphis GPR225 выращивали в среде LB в течении суток, собирали клетки центрифугированием (4200 об/мин, 4° C, 20 мин.). Затем клетки переносили в защитную среду (10% сахарозы, , 0.1% агара, 1.5% криопротектора). Для выявления оптимального состава использовали разные варианты криоптекторов: поливинилпирролидон, желатин, крахмал, целлюлоза. Полученную суспензию клеток в защитной среде разливали по ампулам (2 мл на ампулу) и подвергали глубокой заморозке при -60°C. Затем образцы помещали в вакуумный лиофилизатор SCIENTZ -10N, время сушки составляло 12-15 часов. Подсчет титра культур бактерий проводили до и после лиофилизации.

Концентрация клеток до лиофилизации составляла не менее 10^{11} KOE/мл. Количество жизнеспособных клеток после процесса лиофилизации составила до $3*10^3$ /мл, $9*10^3$ /мл, $9*10^3$ /мл и $3*10^4$ /мл КОЕ/мл в случае использования в качестве криопротектора поливинилпирролидона, желатина, крахмала и целлюлозы соответственно. Полученные данные свидетельствуют о низкой выживаемости $P.\ chlororaphis\ GPR225$ после лиофилизации, что требует дальнейших экспериментов и более тщательного подбора защитной среды и режима лиофилизации.