

УДК: 576.86:66.098:631.841.7

**ИЗУЧЕНИЕ ТОЛЕРАНТНОСТИ ШТАММА *PSEUDOMONAS HELMANTICENSIS P1*, ПРОДУЦИРУЮЩЕГО ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТ, К РАЗЛИЧНЫМ КОНЦЕНТРАЦИЯМ МОЧЕВИНЫ.**

**Ходжаева Н.Д.  
Сатторов Д.Ч.  
Эшонкулов С.К.  
Рамазонова Р.М.  
Элибоева С.А.**

**Самаркандский государственный университет ветеринарной медицины, животноводства и биотехнологий.**

**Аннотация.** В исследовании является определение устойчивости полигидроксиалканоат продуцирующего штамма *Pseudomonas helmanticensis P1* к действию мочевины и его разных концентрации. Биокаталитические процессы часто сталкиваются с проблемами из-за токсичных реагентов и продуктов, которые снижают жизнеспособность промышленных бактериальных штаммов продуцентов биологически значимых соединений. Токсическое воздействие мочевины было проведено на биопленках *Pseudomonas helmanticensis P1* так и при культивировании бактерии в суспензионном состоянии в жидких культуральных средах. Полученные результаты нашего вывода подчёркивают важность исследования нового штамма *Pseudomonas helmanticensis P1* как потенциального источника получения *mcl*-полигидроксиалканоата в широком спектре экстремальных условий.

**Ключевые слова:** *Pseudomonas helmanticensis*, устойчивость к детергенту, устойчивость к органическим растворителям, мочевины, токсичность, *mcl*-пта.

**Annotatsiya:** Tadqiqot poligidroksialkanoat ishlab chiqaruvchi *Pseudomonas helmanticensis P1* shtammining karbamid ta'siriga va uning turli konsentrsiyalariga chidamliligini aniqlashdan iborat bo'lib, Biokatalitik jarayonlar ko'pincha zaharli reagentlar va biologik ahamiyatga ega birikmalar hosil qiluvchi sanoat bakteriya shtammlarining hayotiyiligini kamaytiradigan mahsulotlar tufayli muammolarga duch keladi. Karbamidning toksik ta'siri *Pseudomonas helmanticensis P1* bioplyonkalarida va bakteriyani suyuq muhitda suspenziyada etishtirishda amalga oshirildi. Bizning topilmalarimiz yangi *Pseudomonas helmanticensis P1* shtammini turli xil ekstremal sharoitlarda *mcl*-poligidroksialkanoatning potentsial manbai sifatida o'rganish muhimligini ta'kidlaydi.

**Kalit so'zlar:** *Pseudomonas helmanticensis*, yuvish vositalariga chidamlilik, organik erituvchilarga chidamlilik, karbamid, toksiklik, *mcl*-pga.

**Abstract.** The study is to determine the resistance of the polyhydroxyalkanoate-producing strain *Pseudomonas helmanticensis P1* to the action

of urea and its different concentrations. Biocatalytic processes often encounter problems due to toxic reagents and products that reduce the viability of industrial bacterial strains that produce biologically significant compounds. The toxic effects of urea were carried out on biofilms of *Pseudomonas helmanticensis* P1 and when cultivating the bacterium in suspension in liquid culture media. Our findings highlight the importance of investigating the new *Pseudomonas helmanticensis* P1 strain as a potential source of *mcl*-polyhydroxyalkanoate under a wide range of extreme conditions.

**Keywords:** *Pseudomonas helmanticensis*, detergent resistance, organicsolvent resistance, urea, toxicity, *mcl*-pha.

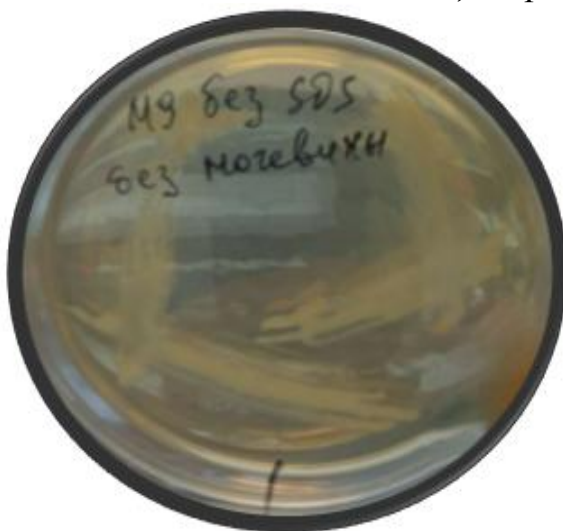
**Введение.** Полигидроксиалканоаты могут быть использованы в различных сферах народного хозяйства как в качестве упаковочных материалов и плёнок (в пищевой промышленности и сельском хозяйстве), так и при производстве изделий медицинского назначения (например, протезов костной ткани, помогающих при восстановлении после переломов или как один из компонентов средств доставки лекарственных препаратов)[1]. Полигидроксиалканоаты являются полиэфирами 3-гидроксиалкановых кислот. ПГА синтезируются многочисленными грамположительными и грамотрицательными бактериями и служат внутриклеточным соединением для запасаения клеткой углерода и энергии [2]. По сравнению с синтетическими полимерами, получаемыми из нефти, ПГА обладают множеством преимуществ: это высокая биосовместимость и отличная биоразлагаемость. Например, при попадании материалов, сделанных из ПГА в окружающую среду, происходит полное их разложение бактериями в течение нескольких недель [3]. Классифицируются ПГА в зависимости от количества атомов углерода в мономерных звеньях: на короткоцепочечные (*short-chain-length, scl*) количество атомов углерода от 3 до 5; на среднецепочечные (*medium-chain-length, mcl*) ПГА, количество атомов углерода от 6 до 12 атомов углерода; и на длинноцепочечные (*long-chain-length, lcl*) ПГА, количество атомов углерода более 12. По сравнению с *scl* и *mcl*-ПГА, сополимеры *scl-mcl*-ПГА отличаются и обладают превосходными свойствами эластомерных материала [4]. Штаммы *Pseudomonas* особенно широко изучаются как метаболические универсальные бактерии, которые стали эффективными продуцентами при получении соединений с высокой добавленной стоимостью [5].

**Материалы и методы.** Органический растворитель (мочевина) были произведены в России («Реахим»). рН среды довели до значения 7,0 понадобится Магнитная Мешалка «Sartorius» (Германия). Колбы Эйленмейера 300мл были произведены в Германии «Rasotherm». В каждую колбу по-разному добавляют мочевина и ее разных концентрации, но в одинаковых количествах добавляют М9 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 6$  г/л,  $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 3$  г/л,  $\text{NaCl} \cdot 0,5$  г/л,  $\text{NH}_4\text{Cl} \cdot 1$  г/л,  $\text{MgSO}_4 \cdot 0,24$ г/л) и были произведены в России («Реахим»). Стерилизацию сред для культивирования проводили с помощью парового стерилизатора ВКА-75-ПЗ («Касимовский приборный завод», Россия). Культивировании на агаризованных средах проводили на чашки петри d 90mm «Медполимер» (Россия). Экспериментальный бокс приобретён у компании «Восток пост»

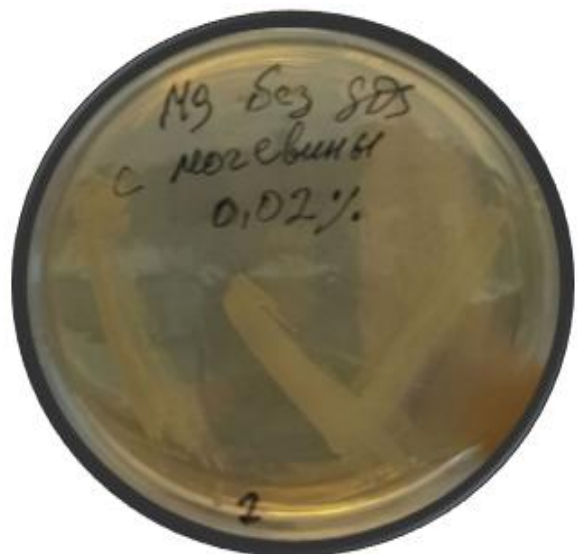
(Россия). Данное исследование проводилось при концентрации мочевины 0,1%, 0,02%, 0,5%. рН среды довели до значения 7,0 раствором 1М NaOH.

**Результаты.** Данный эксперимент проводили при культивировании *Pseudomonas helmanticensis* P1 в присутствии мочевины ( $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ ). Наше исследование проводилось на бактерии *P. helmanticensis* в сочетании с концентрациями мочевины при различных концентрациях (0,1%, 0,02% и 0,5%). Это позволило нам определить, что *P. helmanticensis* обладает высокой устойчивостью к различным концентрациям мочевины. Эксперимент показал, что бактерии *P. helmanticensis* показывают разные результаты при разных концентрациях мочевины. Постепенное уменьшение количества колоний, коррелировало с увеличением концентрации мочевины в среде.

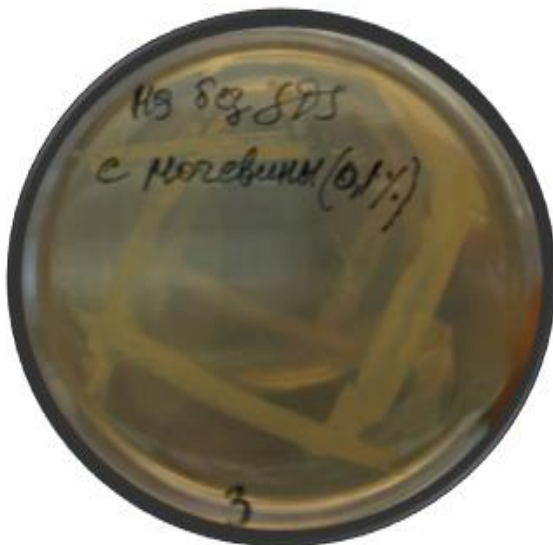
Таблица.1. Результат эксперимента, проведённого на различных концентрациях мочевины



M9+без SDS без мочевины



M9+ без SDS с мочевиной 0,02%



M9+ без SDS с мочевиной 0,1%



M9+ без SDS с мочевиной 0,5%

**Выводы:** По результатам нашего исследования были сформулированы следующие выводы:

1. Из почвенной пробы на селективной среде, содержащий в качестве единственного источника углерода и мочевины был выделен наиболее устойчивый бактериальный клон. Анализ нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК позволил отнести его к виду *Pseudomonas helmanticensis*.
2. Клетки *P. helmanticensis* способны образовывать колонии на агаризованных средах, содержащих до 0,5 % концентрации мочевины. При этом в условиях проведённого эксперимента наблюдается положительная роль на рост колоний в присутствии мочевины и ее разных концентрации.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rebocho, A.T, Pereira, J.R, Neves, L.A, Alves, V.D, Sevrin, C, Grandfils, C, Freitas, F, Мария, А.М. Reis. Preparation and characterization of films based on a natural P(3HB)/mcl-PHA blend obtained through the co-culture of *Cupriavidus necator* and *Pseudomonas citronellolis* in apple pulp waste. //J. Bioeng. – 2020. – V. 7. N. 2. – P. –34.
2. Volova, T.G, Kalacheva, G.S. The synthesis of hydroxybutyrate and hydroxyvalerate copolymers by the bacterium *Ralstonia eutropha*.// J. Microbiology. –2005. – V. – 74. – P. 54–59.
3. Volova, G.V, Volovaa, T.G, Boyandin, A.N, Prudnikova S.V. Biodegradation of polyhydroxyalkanoates in natural soils. // J. Sib. Fed. Univ. Biol. – 2015. – V. – 8. – N. – 2. – P.152–167.
4. Berezina N. Enhancing the 3-hydroxyvalerate component in bioplastic PHBV production by *Cupriavidus necator*. // J. Biotechnology. –2012. – V. – 7. – №. – 2. – P. 304–309.
5. Poblete-Castro I, Rodriguez AL, Lam CMC, Kessler W. Improved production of medium-chain-length polyhydroxyalkanoates in glucose-based fed-batch cultivations of metabolically engineered *Pseudomonas putida* strains. //J. Microbiol Biotechnol. –2014. – V. – 24. – P.59–69.