

**ФУНГИСТАТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ШТАММОВ
Serratia proteamaculans И *S. liquefaciens*, ВЫДЕЛЕННЫХ В ГРЕЦИИ
ИЗ ОТЛОЖЕНИЙ ГУАНО ЛЕТУЧИХ МЫШЕЙ В ПОДЗЕМНОЙ
ПЕЩЕРЕ**

G. MICHAIL¹ ✉, A. REIZOPOULOU², I. VAGELAS³

Представители рода *Serratia* вызывают повышенный научный интерес, поскольку они распространены практически повсеместно и проявляют эмульгирующие, поверхностно-активные, противообрастающие, противоопухолевые и противомикробные свойства. Вода — естественная среда обитания для нескольких видов серраций. В представляемой публикации мы сообщаем о первом выделении *S. proteamaculans* из гуано летучих мышей. Цель нашей работы заключалась в изучении гуано летучих мышей из подземной водной экосистемы на наличие изолятов *Serratia*, активных против фитопатогенных грибов. Штаммы *Serratia*, которые выделили из отложений гуано в пещере в регионе Фессалия (Эолия, Греция), первоначально были обозначены как SI2 и SI4, оказались способны ферментировать D-глюкозу, другие углеводы (D-маннит, D-маннозу) и сахарозу в качестве источников углерода и сахаров. Для обоих штаммов оптимальная температура для роста — 28 °C, при этом штамм SI4 способен расти и при 4 °C. Штаммы бактерий SI2 и SI4 были отнесены к группе *Serratia liquefaciens* с помощью автоматического бактериологического анализатора VITEK® 2 («bioMérieux SA», Франция) и точно идентифицированы до вида с использованием MALDI-TOF MS («bioMérieux SA», Франция). MALDI-TOF MS классифицировала штамм SI2 как *S. proteamaculans*, а штамм SI4 — как *S. liquefaciens*. Насколько нам известно, это первое в мировой научной литературе сообщение о выделении и классификации *S. proteamaculans* из гуано летучих мышей. При 28 °C оба изученных штамма *Serratia* продуцировали продигиозин, при этом его оптимальную продукцию отмечали через 72 ч инкубации. Определение активности штаммов *S. liquefaciens* и *S. proteamaculans* против фитопатогенных грибов (*Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* и *Rhizoctonia solani*) in vitro показало способность изученных серраций продуцировать свободно диффундирующие соединения с фунгистатической активностью in vitro. Это первое сообщение о том, что штаммы *S. liquefaciens* и *S. proteamaculans*, выделенные из гуано летучих мышей, потенциально могут рассматриваться как биоагенты против фитопатогенных грибов. Исследование взаимодействия между фитопатогенными грибами и бактериями *S. liquefaciens* и *S. proteamaculans* подтвердили их эффективность для биоконтроля этих грибных патогенов.

Ключевые слова: *Serratia* spp., гуано летучих мышей, подземная водная среда, вторичные метаболиты, биоконтроль.

Род *Serratia* включает до 18 видов, которые можно найти в различных средах (1). Штаммы рода *Serratia* были выделены из воды, почвы, из растений и животных (2). У млекопитающих штаммы *Serratia* связаны с маститом у крупного рогатого скота, конъюнктивитом лошадей, септициемией у жеребят, коз и свиней, но также серрации были обнаружены у нескольких клинически здоровых людей (3). Сообщалось, что *S. liquefaciens* и *S. marcescens* являются условно-патогенными микроорганизмами для видов рукокрылых (4).

Группа *Serratia liquefaciens* включает виды *S. liquefaciens*, *S. proteamaculans* и *S. grimesii* (3). Штаммы группы *S. liquefaciens* преимущественно вызывают сепсис и инфекции кровотока через контаминированное клиническое оборудование и компоненты крови (5). В 1980 году в «Утвержденном списке названий бактерий» *S. liquefaciens* и *S. proteamaculans* были перечислены как отдельные виды (6). Хотя *S. proteamaculans* редко регистрируют в клинических образцах (вероятно, из-за невозможности легко различить виды в группе), было показано, что *S. proteamaculans* вызывает заболевания человека (7).

Вода — естественная среда обитания для нескольких видов серраций, включая *S. marcescens*, *S. fonticola*, *S. grimesii*, *S. liquefaciens*, *S. plymuthica*,

S. rubidaea и *S. ureilytica* (8). *S. marcescens*, *S. liquefaciens*, *S. proteamaculans*, *S. grimesii* и *S. plymuthica* обнаружены в речной воде в одном исследовании, при этом преобладающим оказался вид *S. marcescens*, за которым следовал *S. liquefaciens* (3). *S. marcescens* subsp. *sakuensis* первоначально был выделен из взвеси сточных вод в очистных резервуарах в Японии (9). Виды *Serratia* вызывают серьезные болезни животных. *S. marcescens* был описан в 1958 году как причина заболевания, когда у части молочного стада диагностировали мастит. Есть много других сообщений о колонизации или патологиях, связанных с видами *Serratia*, у животных, включая рептилий, грызунов, птиц, цыплят, коз, свиней, рыб и лошадей (8).

Представители рода *Serratia* вызывают повышенный научный интерес, поскольку они проявляют эмульгирующие, поверхностно-активные, противообрастающие, противоопухолевые и противомикробные свойства (10, 11). Публикации показывают, что способность этого рода к обитанию практически во всех средах обусловлена синтезом многочисленных внеклеточных продуктов, включая экзоферменты, нуклеазы и вторичные метаболиты, которые помогают в адаптации *Serratia* к суровым условиям окружающей среды (12). К таким соединениям относится пигмент продигиозин, продуцируемый некоторыми штаммами *S. marcescens*, *S. rubidaea* и *S. surfactantfaciens* и проявляющий антибактериальную и антимикотическую активность (2, 10).

Фитопатогенные грибы вызывают серьезные потери в сельском хозяйстве во всем мире. Для борьбы с распространением грибных болезней растений эффективны химические фунгициды, которые применяются в отношении ряда плодовых и других сельскохозяйственных культур. Растущая угроза устойчивости к фунгицидам, например развитие резистентности у возбудителя серой гнили *Botrytis cinerea*, хорошо известна. Гриб *B. cinerea* печально известен как организм с высоким риском быстрого развития резистентности, и внедрение новых классов фунгицидов для борьбы с серой гнилью всегда сопровождалось появлением резистентности в полевых популяциях (13). В этих условиях возрастает потребность в альтернативах фунгицидам для профилактики и лечения инфекций.

Основная цель нашего исследования заключалась в изучении гуано летучих мышей из подземной водной экосистемы на наличие изолятов *Serratia*, активных против фитопатогенных грибов.

Методика. Пещера Малаки, в которой были отобраны образцы гуано, расположена в Фессалии (Эолия, Греция; 48°28'36" с.ш., 20°29'09" в.д., высота 339 м над уровнем моря).

Грамотрицательные бактерии выделяли из гуано летучих мышей. Для рутинного выделения применили метод квадрантного штриха. Использовали NA (питательный агар), картофельно-декстрозный агар (PDA) и агар MacConkey (MCA) («Oxoid Limited», Великобритания), чашки с агаром инкубировали при 22 °C в течение 2 сут (1).

Для идентификации бактериальных изолятов до уровня видов использовали автоматический бактериологический анализатор VITEK® 2 («bioMérieux SA», Франция) и систему MALDI-TOF MS («bioMérieux SA», Франция) в соответствии с описаниями (14, 15). Отдельные колонии отбирали на скошенном агаре и суспендировали в 2,5 мл 0,45 % стерильного физиологического раствора, доводя бактериальную суспензию до стандарта мутности МакФарланда 0,5 с помощью денситометра («bioMérieux SA», Франция) в соответствии с инструкциями производителя. Бактериальные взвеси готовили в течение 30 мин после внесения в кассету для идентификации

граммотрицательных (GN) бактерий с использованием автоматического анализатора VITEK® 2. Анализ проводили с помощью программы VITEK® 2 v. 07.01 («bioMerieux SA», Франция) (15), вероятность выше 80 % при соответствующем профиле считали достаточной при идентификации в пределах перечня микроорганизмов, определяемых до видов или родов (таксонов) с помощью VITEK® 2 (14, 15).

Перед измерением спектров MALDI-TOF MS бактериальные изоляты пересевали на PCA («Oxoid Limited», Великобритания) и культивировали в течение 24 ч при 28 °С. При получении масс-спектров следовали общему протоколу прямого переноса (обычно называемому измерением целых, или интактных, клеток). Для этого примерно 0,1 мг клеточного материала переносили непосредственно из бактериальной колонии или мазка колоний в целевое пятно MALDI. После высушивания при комнатной температуре на пятна образцов наносили 1 мкл матричного раствора (10 мг/мл α -циано-4-гидроксикоричной кислоты в 50 % ацетонитриле и 2,5 % трифторуксусной кислоты). Для определения воспроизводимости генерации масс-спектров все культуры выращивали независимо 4-кратно (биологические повторности), каждое измерение выполняли трижды (аналитические повторности). Анализ проводили на масс-спектрометре Autoflex MALDI-TOF («Bruker Daltonics», Германия) с применением Flex Frontiers (16), дупликацию — в программе Recurrent Bacterial Isolates Control 3.4 («Bruker Daltonics», Германия), калибровку — с помощью Bacterial Test Standard («Bruker Daltonics», Германия) (http://www.bruker.com/jp/products/mass-spectrometry-and-separations/literature/literatureroom.html?eID=dam_frontend_push&stream=1&docID=58883). Все масс-спектры были измерены автоматически с использованием программного обеспечения Flex Control («Bruker Corporation», США, Германия) в соответствии со стандартным методом измерения для микробной идентификации. В частности, наши установочные значения в линейном положительном режиме были следующими: напряжение 1-го ионного источника 20 кВ, 2-го — 19 кВ; напряжение на линзе 6,5 кВ; диапазон масс 2–20 кДа; окончательный спектр представлял собой сумму 10 отдельных спектров, каждый из которых был получен с помощью 200 лазерных выстрелов в случайных положениях пятна мишени. В MALDI-TOF MS, с помощью которой преимущественно генерируются и обнаруживаются ионы +1, значения Da получали на основании соотношения m/z . Для классификации бактерий использовали программное обеспечение BioTyper 3.1 («Bruker Daltonics», Германия), библиотеку спектров MBT 6903 MPS (выпущена в апреле 2016 года), стандартный метод предварительной обработки MALDI Biotyper и стандартный метод идентификации MALDI Biotyper MSP, скорректированные производителем («Bruker Daltonics», Германия) (14, 15).

Для выявления принадлежности штаммов *Serratia proteamaculans* (S12) и *Serratia liquefaciens* (S14) к группе *Serratia liquefaciens* с помощью системы VITEK® 2 («bioMerieux SA», Франция) использовали идентификационную карту VITEK® 2 GN (17).

Штаммы *Serratia* (S12, S14), выделенные из гуано летучих мышей и идентифицированные методом MALDI-TOF MS как *S. proteamaculans* (штамм S12) и *S. liquefaciens* (штамм S14), подвергали скринингу на продукцию продигозина на среде MacConkey. Чашки инкубировали при 28 °С в течение 24, 48 и 72 ч и проверяли на наличие колоний *Serratia* с гиперпигментацией. Штаммы, продуцирующие пигмент (гиперпигментация), обнаруживали по появлению розово-красного окрашивания.

Для оценки противогрибных свойств штаммов серраций использовали пять штаммов грибов, вызывающих болезни растений. Штаммы *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* и *Rhizoctonia solani* были ранее выделены из пораженных растений томата в Центральной Греции (18, 19) согласно описанию (20, 21).

Для скрининга *in vitro* противогрибной активности выделенных штаммов *Serratia* (*S. liquefaciens* и *S. proteamaculans*) использовали штаммы *F. oxysporum* (BFI 2550), *A. alternata* (BFI 2596), *B. cinerea* (BFI 1952), *S. sclerotiorum* (BFI 2529) и *R. solani* (BFI 2531), полученные из Benaki Phytopathological Institute (BFI). Применяли метод двойного культивирования на среде PDA (22). В чашке Петри с PDA в течение 24 ч выращивали культуры бактерий в виде 40-миллиметрового штриха с началом на расстоянии 30 мм от центра чашки. В центр чашки с тестируемым бактериальным штаммом помещали агаровый блок диаметром 5 мм с 5-суточной культурой гриба. Чашки инкубировали при 25 °С в течение 5 сут, ежедневно контролировали зону ингибирования. Измеряли мицелиальный радиальный рост фитопатогенов (диаметр), анализировали особенности проявления антифунгальной активности.

Данные анализировали с использованием статистического пакета Minitab (<https://www.minitab.com/en-us/support/downloads/>). Для оценки антагонистического эффекта использовали дисперсионный анализ, результаты представлены в виде графика Excel. Приведены средние (*M*) и стандартные ошибки различий между средними (\pm SEM).



Рис. 1. Карта известняковой пещеры Малаки в Фессалии (Эолия, Греция; 48°28'36" с.ш., 20°29'09" в.д., высота 339 м над уровнем моря). Красными точками обозначены места отбора проб, расположенные рядом с гнездами местных летучих мышей. Рисунок выполнен Angeliki Reizopoulou.

pterus, *Myotis* и *Rhinolophus* (23).

Штаммы *Serratia*, первоначально обозначенные как SI2 и SI4, были способны ферментировать D-глюкозу, использовать мальтозу, D-маннит, D-маннозу и трегалозу, другие углеводы, сахарозу как источники углерода и сахара (табл. 1). У обоих штаммов оптимальная температура для роста составляла 28 °С, при этом штамм SI4 оказался способен расти и при 4 °С.

Все бактериальные штаммы с палочковидной формой клеток, способные к росту на агаре MacConkey, были идентифицированы до вида (с вероятностью 99,9 %) с помощью системы VITEK® 2 и карты VITEK 2 GN ID (см. табл. 1). В соответствии с идентификационной картой VITEK 2 GN оба штамма (SI2 и SI4) классифицированы как группа *Serratia liquefaciens*.

Результаты. Место отбора образцов гуано летучих мышей представляет собой небольшую известняковую подземную пещеру (рис. 1). Пещера Малаки делится на три зоны: 1) сумеречная зона у входа, 2) средняя зона с недостаточным освещением и переменной температурой и 3) глубокая зона полной темноты и постоянной температуры (17 °С) на протяжении всего года. В глубокой зоне пещеры есть небольшое подземное озеро и несколько крупных отложений гуано летучих мышей. В фауне глубокой зоны в основном были обнаружены виды родов *Minio-*

Время идентификации на автоматическом анализаторе составляло от 4,17 до 4,65 ч для всех изолятов.

1. VITEK® 2 GN ID карта быстрой идентификации грамотрицательных бактерий, выделенных из отложений гуано летучих мышей (пещера Малаки, Фессалия, Эолия, Греция; 48°28'36" с.ш., 20°29'09" в.д.)

Признак	Обозначение	Количество	Штамм <i>Serratia</i>	
			S12 (<i>S. proteamaculans</i>)	S14 (<i>S. liquefaciens</i>)
Ala-Phe-Pro-arylamidase	APPA	0,0384 мг	–	–
Adonitol	ADO	0,1875 мг	–	–
L-pyrrolydonyl arylamidase	PyтA	0,018 мг	+	+
L-Arabitol	IARL	0,3 мг	–	–
D-Cellobiose	dCEL	0,3 мг	–	–
Beta-galactosidase	BGAL	0,036 мг	+	+
H ₂ S	H ₂ S	0,0024 мг	–	–
Beta-N-acetyl-glucosaminidase	BNAG	0,0408 мг	+	+
Glutamyl arylamidase pNA	AG LTp	0,0324 мг	–	–
D-glucose	dGLU	0,3 мг	+	+
Gamma-glutamyl-transferase	GGT	0,0228 мг	+	–
Fermentation/glucose	OFF	0,45 мг	+	+
Beta-glucosidase	BGLU	0,036 мг	+	+
D-maltose	dMAL	0,3 мг	–	–
D-mannitol	dMAN	0,1875 мг	+	+
D-mannose	dMNE	0,3 мг	+	+
Beta-xylosidase	BXYL	0,0324 мг	–	–
Beta-alanine arylamidase pNA	BAlap	0,0174 мг	–	–
L-proline arylamidase	ProA	0,0234 мг	+	+
Lipase	LIP	0,0192 мг	–	–
Palatinose	PLE	0,3 мг	+	–
Tyrosine arylamidase	TyrA	0,0276 мг	+	+
Urease	URE	0,15 мг	–	–
D-sorbitol	dSOR	0,1875 мг	+	+
Saccharose/sucrose	SAC	0,3 мг	+	+
D-tagatose	dTAG	0,3 мг	–	–
D-trehalose	dTRE	0,3 мг	+	+
Citrate (sodium)	CIT	0,054 мг	+	+
Malonate	MNT	0,15 мг	–	–
5-keto-D-gluconate	5KG	0,3 мг	+	+
[–]Lactate alkalisation	1LATk	0,15 мг	+	+
Alpha-glucosidase	AGLU	0,036 мг	+	–
Succinate alkalisation	SUCT	0,15 мг	+	+
Beta-N-acetyl-galactosaminidase	NAGA	0,0306 мг	+	+
Alpha-galactosidase	AGAL	0,036 мг	–	+
Phosphatase	PHOS	0,0504 мг	+	–
Glycine arylamidase	GIyA	0,012 мг	–	N/A
Ornithine decarboxylase	ODC	0,3 мг	+	+
Lysine decarboxylase	LDC	0,15 мг	+	+
Decarboxylase Base	ODEC	N/A	–	–
L-histidine assimilation	1HISa	0,087 мг	–	–
Coumarate	CMT	0,126 мг	+	+
Beta-glucuronidase	BGUR	0,0378 мг	–	–
O/129 resistance (comp. <i>vibrio</i>)	0129R	0,0105 мг	+	+
Glu-Gly-Arg-arylamidase	GGAA	0,0576 мг	+	+
L-malate assimilation	1MLTa	0,042 мг	–	–
ELLMAN	ELLM	0,03 мг	–	–
[–]Lactate assimilation	1LATa	0,186 мг	–	–

Примечание. «–» — отсутствие признака, «+» — наличие признака, N/A (not applicable) — данные отсутствуют. Для S12 приведены данные, представленные в работе Michail G., Reizopoulou A., Vagelas I. First report of *Serratia* species isolated from subterranean cave aquatic environment. *International Research Journal of Engineering and Technology*, 2020, 07(12): 1776-1780.

С использованием MALDI-TOF MS все штаммы, идентифицированные с помощью системы VITEK® 2 как группа *Serratia liquefaciens*, были классифицированы до вида (с доверительным интервалом 99,9 %) как *S. proteamaculans* (S12) и *S. liquefaciens* (S14). Величина доверительного интервала 99,9 % свидетельствует о четком различии и присутствии указанных штаммов — *S. proteamaculans* и *S. liquefaciens*.

Идентификация микроорганизмов с помощью MADLI-TOF осно-

вана на применении четырех коммерческих систем и их баз данных: 1) MALDI Biotyper («Bruker Daltonics», Германия); 2) система Spectral Archive and Microbial Identification System (SARAMIS™) («Anagnostec», Германия); 3) Andromas («Andromas», Франция); 4) Vitek MS («bioMérieux SA», Франция). Каждая из систем включает в себя прибор MALDI-TOF от «Bruker Daltonics» или «Shimadzu Corporation» (Япония), а наиболее часто устанавливаемыми в обычных лабораториях системами являются MALDI Biotyper и Vitek MS, которые служат платформами, одобренными FDA (24). Системы различаются базами данных, алгоритмами идентификации и инструментарием (25). В рутинной лабораторной практике MALDI-TOF используется для идентификации бактерий или грибов из колоний, выращенных на твердых средах. До сих пор эта процедура использовалась для идентификации грамотрицательных и положительных палочек, грамположительных кокков, требовательных организмов, таких как микобактерии, нocardии и другие актиномицеты, анаэробных бактерий, дрожжей и мицелиальных грибов (26-29). По имеющимся данным, показатели идентификации рода чрезвычайно высоки (97-99 %) и колеблются от 85 % до 97 % на уровне видов (30-35).

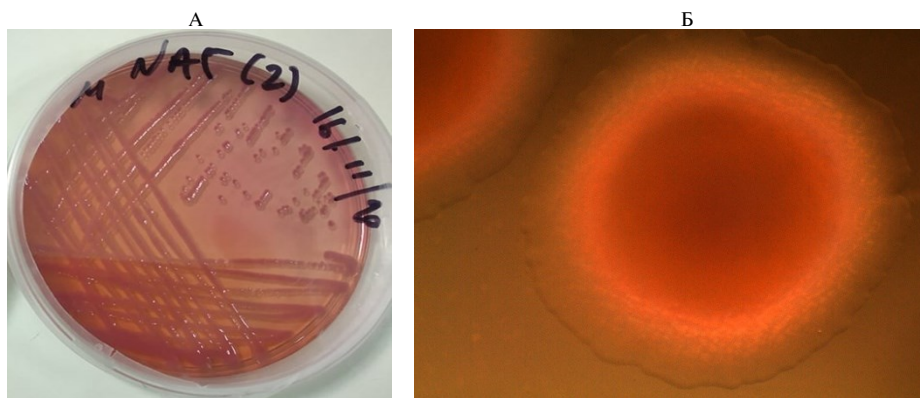


Рис. 2. Рост бактерий группы *Serratia liquefaciens*, выделенных из отложений гуано летучих мышей (пещера Малаки, Фессалия, Эолия, Греция; 48°28'36" с.ш., 20°29'09" в.д.), при инкубации при 28 °С в течение 72 ч на агаре MacConkey: А — ферментация лактозы, Б — пигментация (продукция продигиозина).

Оба микроорганизма (*S. liquefaciens* и *S. proteamaculans*) ферментировали лактозу на среде MacConkey (рис. 2, А). *S. liquefaciens* способна ферментировать лактозу быстрее, чем *S. proteamaculans*. Колонии *S. liquefaciens* круглые, гладкие, с ровными краями, выпуклые, среднего размера, блестяще-красные и непрозрачные, тогда как колонии *S. proteamaculans* круглые, нитевидные, выпуклые, мелкие, оранжево-красные и непрозрачные (см. рис. 2, Б). Красно-оранжевая окраска колоний (оранжевый ореол) свидетельствует о синтезе пигмента продигиозина (см. рис. 2, Б). Его оптимальную продукцию отмечали при температуре 28 °С и длительности инкубации 72 ч (табл. 2).

2. Влияние времени инкубации на продукцию продигиозина штаммами *Serratia*, выделенными из отложений гуано летучих мышей в Греции

Штамм	24 ч	48 ч	72 ч
<i>S. proteamaculans</i>	+/-	++	+++
<i>S. liquefaciens</i>	+/-	+	++

Примечание. Штаммы культивировали на агаре MacConkey при 28 °С; +/- — очень низкая продукция пигмента, + — низкая продукция пигмента, ++ — средняя интенсивность пигментации, +++ — высокий уровень продукции пигмента.

Изоляты *S. proteamaculans* и *S. liquefaciens* продемонстрировали значительный антагонизм по отношению к *F. oxysporum*, *A. alternata*, *B. cinerea*, *S. sclerotiorum* и *R. solani* и в значительной степени ограничивают рост колоний этих фитопатогенов (рис. 3).

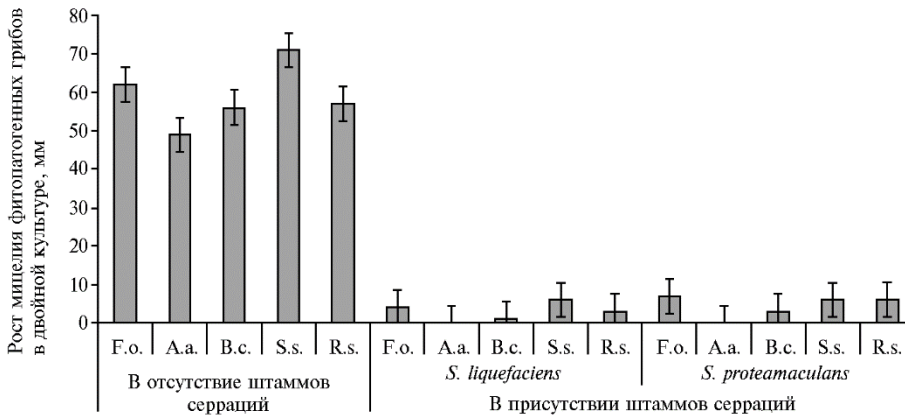


Рис. 3. Рост мицелия (диаметр, мм) фитопатогенных грибов *Fusarium oxysporum* (F.o.), *Alternaria alternata* (A.a.), *Botrytis cinerea* (B.c.), *Sclerotinia sclerotiorum* (S.s.) и *Rhizoctonia solani* (R.s.) в двойных культурах *in vitro*, под влиянием *S. liquefaciens* и *S. proteamaculans*, выделенных из отложений гуано летучих мышей в Греции ($n = 17$, $M \pm SEM$; agar PDA, 25 °C, 5 сут).

Следует отметить высокую фунгистатическую активность в отношении мицелия *A. alternata*, выявленную нами у выделенных из гуано летучих мышей штаммов *S. liquefaciens* и *S. proteamaculans*.

В этом исследовании мы взяли образцы гуано летучих мышей из разных мест подземной карстовой водной экосистемы, которая служит местом гнездования нескольких видов летучих мышей. Выделенные бактерии выращивали на питательном агаре, PDA и агаре MacConkey. В образцах с помощью системы VITEK® 2 мы идентифицировали бактерии группы *Serratia liquefaciens*. Применяв типирование методом времяпролетной масс-спектрометрии с лазерной десорбцией/ионизацией с использованием матрицы (MALDI-TOF MS) мы смогли классифицировать изоляты группы *S. liquefaciens* как *S. liquefaciens* и *S. proteamaculans*. MALDI-TOF MS — простая в использовании, быстрая, надежная, экономичная и безвредная для окружающей среды методология, которая произвела революцию в идентификации патогенов и обнаружении чувствительности/резистентности к противомикробным препаратам в клинических условиях (36). На агаре MacConkey все штаммы после 48 ч инкубации продуцировали пигмент продигозин, как описано и в других исследованиях (37).

Между штаммами, классифицированными как группа *Serratia liquefaciens*, имелись четыре различия в фенотипических характеристиках (см. табл. 1). Штамм *S. proteamacula* характеризовался наличием альфа-глюкозидазы, палатинозы, гамма-глутамила и фосфатазы, тогда как у *S. liquefaciens* эти свойства отсутствовали. Наши данные показывают, что MALDI-TOF MS, если необходимо, может использоваться для идентификации видов в группе *S. liquefaciens*, как это применялось ранее при вспышках внутрибольничных инфекций с распространением других видов *Serratia* (14, 38). В нашем исследовании мы изолировали из гуано летучих мышей сходные виды бактерий, обозначенные как группа *Serratia liquefaciens*. *S. liquefaciens* и *S. marcescens* были описаны как условно-патогенные микроорганизмы для многих видов европейских летучих мышей (4), но до сих пор не было получено

убедительных доказательств присутствия *S. proteamaculans* ни в гуано летучих мышей, ни в составе их бактериальной микрофлоры. Насколько нам известно, в своих работах мы первые сообщаем о выявлении *S. proteamaculans* в гуано летучих мышей.

С момента первого применения в целях идентификации микроорганизмов (39, 40) MALDI-TOF MS предлагали в качестве многообещающей альтернативы для дерепликации бактериальных изолятов (41-43). MALDI-TOF MS использовалась как эффективная альтернатива секвенированию гена 16S рРНК (44-48). Идентификация микроорганизмов методом MALDI-TOF MS включает генерацию масс-спектров (из интактных клеток или внутриклеточного содержимого) с последующим сопоставлением с известными ссылками в базе данных (49, 50).

М.М. Newman с соавт. (51) в своих недавних исследованиях в пещерах Нью-Мексико (США) не представили доказательств выделения или идентификации каких-либо видов *Serratia*. Их исследование было основано на выделении бактерий на среде TSA, кровяном агаре и гуано летучей мыши (BGM) и идентификации с использованием ПЦР-амплификации гена 16S рРНК. Эти авторы исследовали как свежее, так и разлагающееся гуано летучих мышей и обнаружили разные бактериальные таксоны, но не виды *Serratia* (51). Наши данные указывают на то, что у европейских (4, 52, 53), индийских (54, 55) и американских (51) континентальных летучих мышей микробиомы и/или гуано могут различаться по составу бактериальных штаммов. Как европейские, так и индийские исследования гуано местных летучих мышей выявили присутствие *Serratia* spp., но в микробиоме летучих мышей из Америки серрации отсутствовали.

Новый штамм *Serratia* — *Serratia marcescens* B4A продуцирует сильнотоксические антимикотические соединения и подавляет развитие насекомых и патогенов растений, например *Rhizoctonia solani* и *Alternaria raphanin* (56). *Serratia* spp. также отвечают за продукцию вторичных метаболитов — сидерофоров и фитогормонов и защищают растения от инфекций, вызванных патогенами (56). Некоторые штаммы *Serratia* синтезируют галогенированный вторичный метаболит пирролнитрин, который рассматривают как перспективный сельскохозяйственный фунгицид (56, 57). Виды *Serratia* также продуцируют биологически активные соединения и ферменты — нуклеазы, хитиназы, липазы, протеазы, амилазы, серрализин и гемолизин (56). Существует довольно много исследований, посвященных важной роли видов *Serratia* в качестве агентов биоконтроля на клубнике, цветной капусте и оливках. *S. plymuthica* A30 обладает активностью в отношении патогенных бактерий *Dickeya solani*, вызывающих черную ножку и мягкую гниль картофеля (58-60).

В нашем исследовании оба штамма *Serratia* — *S. liquefaciens* и *S. proteamaculans* были способны продуцировать красный пигмент продигиозин и проявлять значительную активность против *F. oxysporum*, *A. alternata*, *B. cinerea*, *S. sclerotiorum* и *R. solani*. Сообщается, что соединение продигиозина, биологическая роль которого четко не выяснена, продуцируют многие виды *Serratia*. Продигиозин (2-метил-3-пентил-6-метоксипродигинин) представляет собой гетероциклический вторичный метаболит красного цвета, принадлежащий к классу трипиррольных соединений (61). Продигиозин появляется на более поздних стадиях роста бактерий, действуя как избыточная продукция вторичных метаболитов с антимикробной активностью широкого спектра действия (11). Биосинтез продигиозина контролируется многими факторами окружающей среды и физико-химическими факторами,

включая температуру, содержание кислорода и рН, при этом максимальные выходы продукции достигаются в отсутствие света (61). Другие виды рода *Serratia*, например *S. plymuthica*, *S. rubidaea* и *S. nematodiphila*, также способны продуцировать недиффундирующий красный пигмент продигиозин как вторичный метаболит (10). Сообщалось, что продигиозин проявляет противомаларийную, антибактериальную, антимикотическую, противопротозойную, противоопухолевую и иммунодепрессивную активность (62). Наши данные — это первое сообщение о том, что *S. liquefaciens* и *S. proteamaculans*, выделенные из гуано летучих мышей, демонстрируют явную и отчетливую противогрибную (фунгистатическую) активность.

Таким образом, наши исследования предоставили новые данные о наличии изолятов *Serratia proteamaculans* и *S. liquefaciens* в гуано летучих мышей. Нами также получена новая информация о присутствии *S. proteamaculans* в гуано летучих мышей из подземной водной экосистемы. Показано, что изоляты *S. proteamaculans* и *S. liquefaciens* способны продуцировать продигиозин. Небольшое количество бактериальных клеток может обладать высокой конкурентоспособностью благодаря соединениям, которые диффундируют в агар и, в частности, проявляют фунгистатические свойства в отношении патогенов растений. Перспективы применения продигиозина и других вторичных метаболитов сerratий в качестве сельскохозяйственных фунгицидов требует дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. García-Fraile P., Chudičková M., Benada O., Pikula J., Kolařík M. *Serratia myotis* sp. nov. and *Serratia vespertilionis* sp. nov., isolated from bats hibernating in caves. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2015, 65(Pt_1): 90-94 (doi: 10.1099/ij.s.0.066407-0).
2. Grimont F., Grimont P.A.D. The genus *Serratia*. In: *The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria*, 3rd edn. /M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.H. Schleifer, E. Stackebrandt (eds.). New York, Springer, 2006: 219-244 (doi: 10.1007/0-387-30746-X_11).
3. Grimont F., Grimont P.A.D. Genus XXXIV. *Serratia* Bizio 1823, 288^{AL}. In: *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 2nd edn., vol. 2, part B /D.J. Brenner, N.R. Krieg, J.T. Staley (eds.), Springer Science and Business Media, New York, NY, 2005: 799-811.
4. Mühldorfer K., Speck S., Kurth A., Lesnik R., Freuling C., Müller T., Kramer-Schadt S., Wibbelt G. Diseases and causes of death in European bats: dynamics in disease susceptibility and infection rates. *PLoS ONE*, 2011, 6: e29773 (doi: 10.1371/journal.pone.0029773).
5. Stock I., Grueger T., Wiedemann B. Natural antibiotic susceptibility of strains of *Serratia marcescens* and the *S. liquefaciens* complex: *S. liquefaciens* sensu stricto, *S. proteamaculans* and *S. grimesii*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2003, 22(1): 35-47 (doi: 10.1016/s0924-8579(02)00163-2).
6. Skerman V.B.D., McGowan V., Sneath, P.H.A. Approved lists of bacterial names. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1980, 30(1): 225-420 (doi: 10.1099/00207713-30-1-225).
7. Bollet C., Grimont P., Gainnier M., Geissler A., Sainty J.M., De Micco P. Fatal pneumonia due to *Serratia proteamaculans* subsp. *quinovora*. *Journal of Clinical Microbiology*, 1993, 31(2): 444-445 (doi: 10.1128/jcm.31.2.444-445.1993).
8. Mahlen S.D. *Serratia* infections: from military experiments to current practice. *Clinical Microbiology Reviews*, 2011, 24(4): 755-791 (doi: 10.1128/CMR.00017-11).
9. Ajithkumar B., Ajithkumar V.P., Iriye R., Doi Y., Sakai T. Spore-forming *Serratia marcescens* subsp. *sakuensis* subsp. nov., isolated from a domestic wastewater treatment tank. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2003, 53(1): 253-258 (doi: 10.1099/ij.s.0.02158-0).
10. Su C., Xiang Z., Liu Y., Zhao X., Sun Y., Li Z., Li L., Chang F., Chen T., Wen X., Zhou Y., Zhao F. Analysis of the genomic sequences and metabolites of *Serratia surfactantfaciens* sp. nov. YD25^T that simultaneously produces prodigiosin and serrawettin W2. *BMC Genomics*, 2016, 17: 865 (doi: 10.1186/s12864-016-3171-7).
11. Clements T., Ndlovu T., Khan W. Broad-spectrum antimicrobial activity of secondary metabolites produced by *Serratia marcescens* strains. *Microbiological Research*, 2019, 229: 126329 (doi: 10.1016/j.micres.2019.126329).
12. Harris A.K.P., Williamson N.R., Slater H., Cox A., Abbasi S., Foulds I., Simonsen H.T.,

- Leeper F.J., Salmond G.P.C. The *Serratia* gene cluster encoding biosynthesis of the red antibiotic, prodigiosin, shows species- and strain-dependent genome context variation. *Microbiology*, 2004, 150(11): 3547-3560 (doi: 10.1099/mic.0.27222-0).
13. Hahn M. The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study. *Journal of Chemical Biology*, 2014, 7(4): 133-141 (doi: 10.1007/s12154-014-0113-1).
 14. Rodel J., Mellmann A., Stein C., Alexi M., Kipp F., Edel B., Dawczynski K., Brandt C., Seidel L., Pfister W., Lüffler B., Straube E. Use of MALDI-TOF mass spectrometry to detect nosocomial outbreaks of *Serratia marcescens* and *Citrobacter freundii*. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2019, 38: 581-591 (doi: 10.1007/s10096-018-03462-2).
 15. Moehario L.H., Tjoa E., Putranata H., Joon S., Edbert D., Robertus T. Performance of TDR-300B and VITEK®2 for the identification of *Pseudomonas aeruginosa* in comparison with VITEK®-MS. *Journal of International Medical Research*, 2021, 49(2): 30006052198989 (doi: 10.1177/0300060521989893).
 16. Strejcek M., Smrhova T., Junkova P., UhlikFront O. Whole-cell MALDI-TOF MS versus 16S rRNA gene analysis for identification and dereplication of recurrent bacterial isolates. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1294 (doi: 10.3389/fmicb.2018.01294).
 17. Crowley E., Bird P., Fisher K., Goetz K., Boyle M., Benzinger M.J., Jr, Juenger M., Agin J., Goins D., Johnson R., Collaborators. Evaluation of the VITEK 2 Gram-Negative (GN) Microbial Identification Test Card: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 2012, 95(3): 778-785 (doi: 10.5740/jaoacint.CS2011_17).
 18. Vagelas I., Sugar I.R. Potential use of olive mill wastewater to control plant pathogens and post harvest diseases. *Carpathian Journal of Food Science & Technology*, 2020, 12(4): 140-145 (doi: 10.34302/crpjfst/2020.12.4.14).
 19. Vagelas I.K., Giurgiulescu L. Bioactivity of olive oil mill wastewater against grey mould disease. *Carpathian Journal of Food Science & Technology*, 2019, 11(4): 161-164 (doi: 10.34302/2019.11.4.15).
 20. Vagelas I.K. *Efficacy of Pseudomonas oryzihabitans as a biocontrol agent of root pathogens. Thesis (PhD)*. University of Reading, UK, 2002.
 21. Vagelas I., Kalorizou H., Papachatzis A., Botu M. Bioactivity of olive oil mill wastewater against plant pathogens and post-harvest diseases. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2009, 23(2): 1217-1219 (doi: 10.1080/13102818.2009.10817641).
 22. Agarry O.O., Akinyosoye F.A., Adetuyi F.C. Antagonistic properties of microorganisms associated with cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) products. *African Journal of Microbiology*, 2005, 4(7): 627-632 (doi: 10.5897/AJB2005.000-3114).
 23. Georgiakakis P., Papadatou E. Chiroptera. In: *Deliverable 7, C-Phase of Study 7: "Monitoring and evaluation of conservation status mammal species of Community interest in Greece" /G. Papamichael, T. Arapis, K. Petkidi, I. Fytou, V. Chatirvasanis*. Ministry of Environment, Energy and Climatic Change, Athens, Scholars Partnership and Consultancy Firms "ARAPIS THOMAS EY-AGGELOY, GEOANALYSI S.A. and PAPACHARISI ALEXANDRA THEODORA", Athens. 2015 (in Greek).
 24. Posteraro B., De Carolis E., Vella A., Sanguinetti M. MALDI-TOF mass spectrometry in the clinical mycology laboratory: identification of fungi and beyond. *Expert Review of Proteomics*, 2013, 10(2): 151-164 (doi: 10.1586/epr.13.8).
 25. Carroll K., Patel R. Systems for identification of bacteria and fungi. In: *Manual of clinical microbiology, 11th edition /J.H. Jorgensen, K.C. Carroll, G. Funke, M.A. Pfaller, M.L. Landry, S.S. Richter, D.W. Warnock* (eds.). ASM Press N.W., Washington, 2015: 29-43 (doi: 10.1128/9781555817381.ch4).
 26. Nomura F. Proteome-based bacterial identification using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS): A revolutionary shift in clinical diagnostic microbiology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics*, 2015, 1854(6): 528-537 (doi: 10.1016/j.bbapap.2014.10.022).
 27. Ford B.A., Burham C.A. Optimization of routine identification of clinically relevant gram-negative bacteria by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry and the Bruker Biotyper. *Journal of Clinical Microbiology*, 2013, 51(5): 1412-1420 (doi: 10.1128/JCM.01803-12).
 28. Hotta Y., Sato J., Sato H., Hosoda A., Tamura H. Classification of the genus *Bacillus* based on MALDI-TOF MS analysis of ribosomal proteins coded in S10 and *spc* operons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(10): 5222-5230 (doi: 10.1021/jf2004095).
 29. Seng P., Drancourt M., Couriet F., La Scola B., Fournier P-E., Rolain J.M., Raoult D. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clinical Infectious Diseases*, 2009, 49(4): 543-551 (doi: 10.1086/600885).
 30. Cherkaoui A., Hibbs J., Emonet S., Tangomo M., Girard M., Francois P., Schrenzel J. Comparison of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry methods with conventional phenotypic identification for routine identification of bacteria to the species level. *Journal of Clinical Microbiology*, 2010, 48(4): 1169-1175 (doi: 10.1128/jcm.01881-09).

31. Marko D.C., Saffeert R.T., Cunningham S.A., Hyman J., Walsh J., Arbefeville S., Howard W., Pruessner J., Safwat N., Cockerill F.R., Bossier A.D., Patel R., Richter S.S. Evaluation of the Bruker Biotyper and Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems for identification of nonfermenting gram-negative bacilli isolated from cultures from cystic fibrosis patients. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012, 50(6): 2034-2039 (doi: 10.1128/jcm.00330-12).
32. Mancini N., De Carolis E., Infurmari L., Vella A., Clementi N., Vaccaro L., Ruggeri A., Posteraro B., Burioni R., Clementi M., Sanguinetti M. Comparative evaluation of the Bruker Biotyper and Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry systems for identification of yeasts of medical importance. *Journal of Clinical Microbiology*, 2013, 51(7): 2453-2457 (doi: 10.1128/jcm.00841-13).
33. Mather C.A., Rivera S.F., Butler-Wu S.M. Comparison of the Bruker Biotyper and Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems for identification of mycobacteria using simplified extraction protocols. *Journal of Clinical Microbiology*, 2014, 52(1): 130-138 (doi: 10.1128/JCM.01996-13).
34. Alby K., Gilligan P., Miller M. Comparison of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry platforms for the identification of gram-negative rods from patients with cystic fibrosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 2013, 51(11): 3852-3854 (doi: 10.1128/JCM.01618-13).
35. Kärpänoja P., Haruju I., Rantakokko-Jalava K., Haanperä M., Sarkkinen H. Evaluation of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems for identification of viridans group streptococci. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2014, 33: 779-788 (doi: 10.1007/s10096-013-2012-8).
36. Sanguinetti M., Posteraro B. Mass spectrometry applications in microbiology beyond microbe identification: progress and potential. *Expert Review of Proteomics*, 2016, 13(10): 965-977 (doi: 10.1080/14789450.2016.1231578).
37. Ramesh Babu N.G., Simrah Fathima K.A., Nandhini V., Nandhini V. Extraction of prodigiosin from *Serratia marcescens* and its application as an antibacterial spray. *IP International Journal of Medical Microbiology and Tropical Diseases*, 2019, 5(4): 207-209 (doi: 10.18231/j.ijmmt.2019.047).
38. Batah R., Loucif L., Olaitan A.O., Boutefnouchet N., Allag H., Rolain, J.M. Outbreak of *Serratia marcescens* coproducing ArmA and CTX-M-15 mediated high levels of resistance to aminoglycoside and extended-spectrum beta-lactamases, Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 2015, 21(4): 470-476 (doi: 10.1089/mdr.2014.0240).
39. Claydon M.A., Davey S.N., Edwards-Jones V., Gordon D.B. The rapid identification of intact microorganisms using mass spectrometry. *Nature Biotechnology*, 1996, 14: 1584-1586 (doi: 10.1038/nbt1196-1584).
40. Holland R.D., Wilkes J.G., Rafii F., Sutherland J.B., Persons C.C., Voorhees K.J., Lay J.O., Jr. Rapid identification of intact whole bacteria based on spectral patterns using matrix-assisted laser desorption/ionization with time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1996, 10(10): 1227-1232 (doi: 10.1002/(SICI)1097-0231(19960731)10:10<1227::AID-RCM659>3.0.CO;2-6).
41. Dieckmann R., Graeber I., Kaesler I., Szewzyk U., von Döhren H. Rapid screening and dereplication of bacterial isolates from marine sponges of the Sula Ridge by Intact-Cell-MALDI-TOF mass spectrometry (ICM-MS). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2005, 67: 539-548 (doi: 10.1007/s00253-004-1812-2).
42. Ghyselincx J., van Hoorde K., Hoste B., Heylen K., De Vos P. Evaluation of MALDI-TOF MS as a tool for high-throughput dereplication. *Journal of Microbiological Methods*, 2011, 86(3): 327-336 (doi: 10.1016/j.mimet.2011.06.004).
43. Spitaels F., Wieme A.D., Vandamme P. MALDI-TOF MS as a novel tool for dereplication and characterization of microbiota in bacterial diversity studies. In: *Applications of mass spectrometry in microbiology: from strain characterization to rapid screening for antibiotic resistance* /P. Demirev, T.R. Sandrin (eds.). Springer, Cham, 2016: 235-256 (10.1007/978-3-319-26070-9_9).
44. Mellmann A., Cloud J., Maier T., Keckevoet U., Ramminger I., Iwen P., Dunn J., Hall G., Wilson D., LaSala P., Kostrzewa M., Harmsen D. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry in comparison to 16S rRNA gene sequencing for species identification of nonfermenting bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 2008, 46(6): 1946-1954 (doi: 10.1128/JCM.00157-08).
45. Uhlík O., Střežek M., Junková P., Šanda M., Hroudová M., Vlček C., Mackova M., Macek T. Matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI)-time of flight mass spectrometry- and MALDI Biotyper-based identification of cultured biphenyl-metabolizing bacteria from contaminated horseradish rhizosphere soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(19): 6858-6866 (doi: 10.1128/AEM.05465-11).
46. Koubek J., Uhlík O., Ječná K., Junková P., Vrkoslavová J., Lipov J., Kurzawova V., Macek T., Mackova M. Whole-cell MALDI-TOF: rapid screening method in environmental microbiology. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2012, 69: 82-86 (doi: 10.1016/j.ibiod.2011.12.007).

47. Wieser A., Schneider L., Jung J., Schubert S. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics – identification of microorganisms and beyond (mini review). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 93: 965-974 (doi: 10.1007/s00253-011-3783-4).
48. Seng P., Abat C., Rolain J.M., Colson P., Lagier J.-C., Gouriet F., Fournier P.E., Drancourt M., La Scola B., Raoult D. Identification of rare pathogenic bacteria in a clinical microbiology laboratory: impact of MALDI-TOF mass spectrometry. *Journal of Clinical Microbiology*, 2013, 51(7): 2182-2194 (doi: 10.1128/JCM.00492-13).
49. Fenselau C., Demirev P.A. Characterization of intact microorganisms by MALDI mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*, 2001, 20(4): 157-171 (doi: 10.1002/mas.10004).
50. Lay J.O. Jr. MALDI-TOF mass spectrometry of bacteria. *Mass Spectrometry Reviews*, 2001, 20(4): 172-194 (doi: 10.1002/mas.10003).
51. Newman M.M., Kloepper L.N., Duncan M., McInroy J.A., Kloepper J.W. Variation in bat guano bacterial community composition with depth. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 914 (doi: 10.3389/fmicb.2018.00914).
52. Veikkolainen V., Vesterinen E.J., Lilley T.M., Pulliainen A.T. Bats as reservoir hosts of human bacterial pathogen, *Bartonella mayotimonensis*. *Emerging Infectious Diseases*, 2014, 20(6): 960-967 (doi: 10.3201/eid2006.130956).
53. Wolkers-Rooijackers J., Rebmann K., Bosch T., Hazeleger W. Fecal bacterial communities in insectivorous bats from the Netherlands and their role as a possible vector for foodborne diseases. *Acta Chiropterologica*, 2019, 20: 475 (doi: 10.3161/15081109acc2018.20.2.017).
54. Banskar S., Bhute S.S., Suryavanshi M.V., Puneekar S., Shouche Y.S. Microbiome analysis reveals the abundance of bacterial pathogens in *Rousettus leschenaultii* guano. *Scientific Reports*, 2016, 6: 36948 (doi: 10.1038/srep36948).
55. Selvin J., Lanong S., Syiem D., De Mandal S., Kayang H., Kumar N.S., Kiran G.S. Culture-dependent and metagenomic analysis of lesser horseshoe bats' gut microbiome revealing unique bacterial diversity and signatures of potential human pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 2019, 137: 103675 (doi: 10.1016/j.micpath.2019.103675).
56. AL-Ghanem M.M. Serratia A novel source of secondary metabolites. *Advances in Biotechnology & Microbiology*, 2018, 11(3): 555814 (doi: 10.19080/AIBM.2018.11.555814).
57. Bhadra B., Ro P., Chakraborty R. *Serratia ureilytica* sp. nov., a novel urea-utilizing species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55(5): 2155-2158 (doi: 10.1099/ijs.0.63674-0).
58. Frankowski J., Lorito M., Scala F., Schmid R., Berg G., Bahl H. Purification and properties of two chitinolytic enzymes of *Serratia plymuthica* HRO-C48. *Archives of Microbiology*, 2001, 176(6): 421-426 (doi: 10.1007/s002030100347).
59. Czajkowski R., Wolf J.M. Draft genome sequence of the biocontrol strain *Serratia plymuthica* A30, isolated from rotting potato tuber tissue. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194: 6999-7000 (doi: 10.1128/jb.01699-12).
60. Petersen L.M., Tisa L.S. Friend or foe? A review of the mechanisms that drive *Serratia* towards diverse lifestyles. *Canadian Journal of Microbiology*, 2013, 59(9): 627-640 (doi: 10.1139/cjm-2013-0343).
61. Kimyon Ö., Das T., Ibugo A.I., Kutty S.K., Ho K.K., Tebben J., Kumar N., Manefield M. *Serratia* secondary metabolite prodigiosin inhibits *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development by producing reactive oxygen species that damage biological molecules. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 972 (doi: 10.3389/fmicb.2016.00972).
62. Stankovic N., Senerovic L., Ilic-Tomic T., Vasiljevic B., Nikodinovic-Runic J. Properties and applications of undecylprodigiosin and other bacterial prodigiosins. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(9): 3841-3858 (doi: 10.1007/s00253-014-5590-1).

¹*Department of Ichthyology and Aquatic Environment,
School of Agricultural Sciences,
University of Thessaly,*

Fytokou St., Volos 384 46 Magnesia, Greece,
e-mail: geomichail@uth.gr ✉;

²*Volos Natural History Museum,*

Mikrassiaton 1, Volos, 383 33, Greece,
e-mail: reizopoulou@gmail.com;

³*Department of Agriculture Crop Production
and Rural Environment,
University of Thessaly,*

Fytokou St., N. Ionia, 384 46 Magnesia, Greece,
e-mail: vagelas@uth.gr

*Поступила в редакцию
19 января 2021 года*

EVALUATION OF THE BIOCONTROL EFFICACY
OF *Serratia proteamaculans* AND *S. liquefaciens* ISOLATED
FROM BATS GUANO PILE FROM A SUBTERRESTRIAL CAVE
(GREECE)

G. Michail¹ ✉, A. Reizopoulou², I. Vagelas³

¹Department of Ichthyology and Aquatic Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly, Fytokou St., Volos 384 46 Magnesia, Greece, e-mail geomichail@uth.gr (✉ corresponding author);

²Volos Natural History Museum, Mikrassiaton 1, Volos, 383 33, Greece, e-mail reizopoulou@gmail.com;

³Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment, University of Thessaly, Fytokou St., N. Ionia, 384 46 Magnesia, Greece, e-mail vagelas@uth.gr

ORCID:

Michail G. orcid.org/0000-0003-1676-936X

Vagelas I. orcid.org/0000-0002-6102-8432

Reizopoulou A. orcid.org/0000-0003-4314-4373

The authors declare no conflict of interests

Received January 19, 2021

doi: 10.15389/agrobiol.2022.3.566eng

Abstract

Members of the genus *Serratia* are of great research interest because they are almost ubiquitous and exhibit emulsifying, surfactant, antifouling, antitumor and antimicrobial properties. Water is a natural habitat for several species of serrations. This paper reports on the first isolation of *S. proteamaculans* from bats guano. The aim of the present study is to evaluate the biocontrol activity of *Serratia* strains isolated from bats guano pile from a subterrestrial cave of Thessaly region (Aeolia), Greece. *Serratia* strains initial designated as strains SI2, SI4 and were able to ferment glucose (D-glucose), other carbohydrates (i.e. D-mannitol, D-mannose), and saccharose/sucrose as a source of carbon and sugars. Both strains have an optimal growth at 28 °C whereas strain SI4 were able to grow and at 4 °C. Bacteria strains SI2 and SI4 were classified within the *Serratia liquefaciens* group by the VITEK® 2 system (bioMérieux SA, France) and were accurately identified at the species level by MALDI-TOF MS (bioMérieux SA, France). MALDI-TOF MS classified SI2 strain as *S. proteamaculans* and SI4 strain as *S. liquefaciens*. To the best of our knowledge, this paper is the first to report the detection and classification in detail of the *S. proteamaculans* in bat guano. Both *Serratia* strains produced prodigiosin at 28 °C with optimum prodigiosin production recorded 72 h after incubation. Further the antifungal activity of *S. liquefaciens* and *S. proteamaculans* strains were investigated in vitro against plant pathogenic fungi (*Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*). This is the first report that *S. liquefaciens* and *S. proteamaculans* strains isolated from bat guano were able to produce freely diffusible compounds with fungistatic activity in vitro. Studies on the interaction between pathogen and bacteria confirmed the biocontrol efficacy of both *Serratia* strains (*S. liquefaciens* and *S. proteamaculans*).

Keywords: *Serratia* spp., bat guano, subterranean aquatic environment, secondary metabolites, biocontrol.