



УДК 579.66; 578.81

ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БАКТЕРИОФАГОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *PSEUDOMONAS*

* Пилипчук Т.А., Герасимович А.Д., Ананьева И.Н., Коломиец Э.И.

Институт микробиологии НАН Беларуси
ул. Купревича, 2, г. Минск, 220141, Республика Беларусь
* tanya.pilipchuk@tut.by

АБСТРАКТ

Изучены технологические параметры культивирования бактериофагов, отобранных по литической активности к штамму-хозяину *Pseudomonas helmanticensis* БИМ В-582 Д. Показано, что оптимальными условиями культивирования индикаторной культуры и лизиса ее фагами *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д, БИМ BV-46 Д, БИМ BV-47 Д, БИМ BV-50 Д, БИМ BV-53 Д, БИМ BV-61 Д в лабораторных условиях (ферментерах АНКУМ-3М) являются следующие: питательная среда – ГРМ-бульон, температура – 28°C, скорость вращения мешалки – 160 об/мин, уровень аэрации – 1 л воздуха/л среды в минуту. Полученный в оптимизированных условиях фаговый препарат, содержащий шесть перечисленных фагов, обладает высокой литической активностью не только к штамму-хозяину, но и к фитопатогенным бактериям *Pseudomonas syringae*.

Ключевые слова: бактериофаги, параметры культивирования, питательная среда, температура

ВВЕДЕНИЕ

Pseudomonas syringae – вид фитопатогенных бактерий, являющийся опасным возбудителем заболеваний сельскохозяйственных культур. Вызванные *P. syringae* бактериозы приводят к повреждениям листьев и плодов, гнилям, пятнистостям, обморожениям, увяданиям и другим признакам болезней растений и наносят масштабный вред агропромышленным комплексам [1-4]. Одним из способов защиты сельскохозяйственных культур от бактериозов является использование биопрепаратов на основе бактериофагов.

Бактериофаги (от лат. *bacteriophage* - пожирающий бактерии) - вирусы, избирательно поражающие бактериальные клетки. Биологические препараты на основе фагов специфично воздействуют на конкретные фитопатогенные бактерии, не влияя на другие биологические объекты, являются естественными компонентами биосистем, не токсичны для человека и животных, рыб, полезных насекомых [5].

В настоящее время бактериофаги исследуются ведущими научными коллективами всего мира, количество публикаций о биологии и практическом использовании фагов для разработки ряда современных передовых технологий постоянно возрастает [6]. Несмотря на то, что на сегодняшний день больше всего публикаций посвящено медицинским аспектам использования бактериофагов, их

применение в качестве средств защиты растений от бактериозов также с каждым годом расширяется. Тем не менее, ассортимент зарегистрированных фаговых препаратов сельскохозяйственного назначения сравнительно небольшой.

Нами создана коллекция бактериофагов с выраженной литической активностью в отношении бактерий рода *Pseudomonas*. В настоящей работе представлены результаты оптимизации технологических параметров культивирования наиболее активных фагов, представляющих интерес в качестве основы препарата для защиты овощных культур от бактериозов.

Материалы и методы

Микроорганизмы. Объектами исследования служили 6 штаммов бактериофагов, активных в отношении индикаторного штамма *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д и фитопатогенных бактерий *P. syringae*, из которых 3 – коллекционные штаммы (*Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д, БИМ BV-46 Д, БИМ BV-47 Д) и 3 – выделенные из образцов плодовых и овощных культур с признаками бактериального поражения и депонированные в БКМ (*Pseudomonas phage* БИМ BV-50 Д, БИМ BV-53 Д, БИМ BV-61 Д).

Используемый в качестве индикаторной культуры непатогенный коллекционный штамм *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д, характеризуется высокой скоростью роста, чувствительностью к широкому спектру бактериофагов (более 30 коллекционных штаммов). Высокий титр фагов (10^9 - 10^{10} БОЕ/мл), получаемый при лизисе данной культуры, обуславливает ее перспективность для получения вирусных препаратов против фитопатогенных псевдомонад. До 2017 г. штамм хранился в коллекции под видовым названием *Pseudomonas fluorescens*, затем, путем проведения анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК, его таксономическая принадлежность была уточнена, и в настоящее время штамм депонирован как *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д.

Среды для микроорганизмов. Питательный бульон для культивирования микроорганизмов на основе гидролизата рыбной муки (ГРМ-бульон), г/л: панкреатический гидролизат рыбной муки – 8,0; пептон ферментативный – 8,0; натрия хлорид – 4,0; вода дистиллированная – до 1 л, рН – 7,0-7,4.

Усовершенствованная среда Мейнелла, г/л: меласса – 30,0; $K_2HPO_4 \times 3H_2O$ – 7,0; KH_2PO_4 – 3,0; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,1; $(NH_4)_2SO_4$ – 1,0; Na-цитрат – 0,5; вода дистиллированная – до 1 л, рН – 6,2-7,2 [7].

Мясо-пептонный бульон (МПБ), г/л: бульон МПБ – 200,0; NaCl – 4,0; вода дистиллированная – до 1 л, рН – 6,2-7,5.

Глицериновая среда, г/л: глицерин – 11,0; дрожжевой автолизат – 0,15; $Na_2HPO_4 \times 12H_2O$ – 6,5; $K_2HPO_4 \times 2H_2O$ – 1,6; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 1,5; $FeCl_3$ – 0,01, вода дистиллированная – до 1 л, рН – 6,2-7,5 [8].

Питательный агар для культивирования микроорганизмов на основе гидролизата рыбной муки (ГРМ-агар), г/л: панкреатический гидролизат рыбной муки – 12,0; пептон ферментативный – 12,0; натрия хлорид – 6,0; агар бактериологический – $10 \pm 2,0$; вода дистиллированная – до 1 л, рН – 7,1-7,5.

Агар микробиологический (0,7%), г/л: агар микробиологический – 0,7; вода дистиллированная – до 1 л.

Подбор питательной среды для культивирования бактериофагов. В качестве питательных сред испытаны ГРМ-бульон, МПБ, глицериновая среда, усовершенствованная среда Мейнелла. Культивирование бактерий-хозяев и наработку бактериофагов осуществляли на шейкере-инкубаторе Biosan ES-20 (Латвия) при 180 об/мин и температуре 28°C. В колбы со стерильными питательными средами различного состава добавляли 16-18 часовую культуру

бактерий *P. helmanticensis* БИМ-582 Д в количестве 10% от объема среды, культивирование осуществляли до достижения логарифмической стадии роста (ОП₅₉₀ 0,6–0,7). Бактериофаги добавляли в соотношении 1:100. Лизис бактерий фагами считали завершенным при снижении показателя ОП с 0,6 до 0,2. Результаты фиксировали при помощи спектрофотометра Shimadzu UV-2401РС (Япония). Количество образовавшихся фагов определяли методом агаровых слоев по А. Грация [9].

Влияние температуры на скорость лизиса бактерий *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д фагами. Индикаторный штамм *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д культивировали на шейкере-инкубаторе Biosan ES-20 (Латвия) при 180 об/мин и температуре 28-30°C до ОП₅₉₀ 0,6–0,7. Далее в культуру вносили фаг с множественностью заражения 1:100 и инкубировали на качалке при температурах 20, 24, 28, 32, 36°C в зависимости от условий эксперимента. Каждые 30 мин отбирали 1 мл культуральной жидкости и измеряли оптическую плотность при длине волны 590 нм (ОП₅₉₀). Лизис бактерий фагами считали завершенным при снижении показателя ОП₅₉₀ с 0,6 до 0,2. Результаты фиксировали при помощи спектрофотометра Shimadzu UV-2401РС (Япония).

Оптимизация режима массообмена при культивировании *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д и бактериофагов в лабораторном ферментере. Для оптимизации режима массообмена индикаторный штамм *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д культивировали совместно с бактериофагами на ГРМ-бульоне в ферментерах АНКУМ-3М при скорости вращения мешалки 160 и 200 об/мин и аэрации 0,5, 1,0 и 1,5 л воздуха/л среды в минуту. Тестируемые показатели – оптическая плотность культуральной жидкости, скорость лизиса индикаторного штамма бактериофагами и их титр.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Office 2016.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При подборе питательной среды для культивирования бактерии-хозяина *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д и лизиса ее фагами использовали ГРМ-бульон, усовершенствованную среду Мейнелла, МПБ и глицериновую среду.

Необходимую оптическую плотность (ОП 0,6-0,7) культура бактериального штамма *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д достигала за 2,75 ч на глицериновой среде, за 2,5 ч – на МПБ, а на ГРМ-бульоне и усовершенствованной среде Мейнелла – за 2,0 ч (рисунок 1).

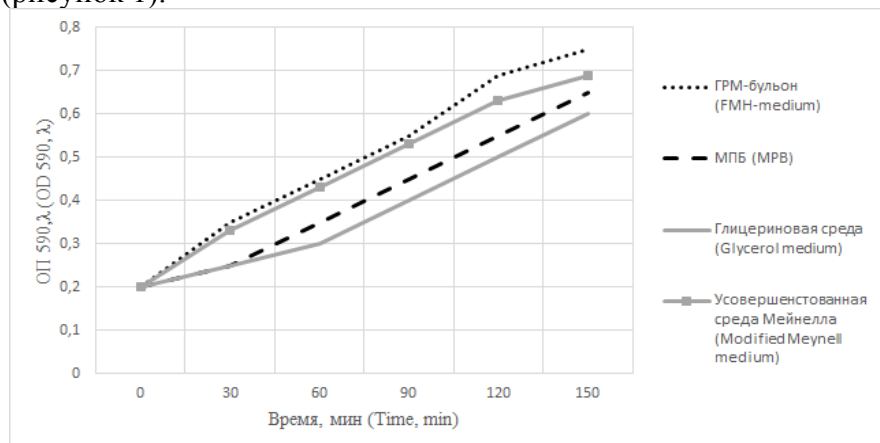


Рис. 1. Влияние различных питательных сред на интенсивность накопления биомассы индикаторной культуры *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д

Наиболее быстрый лизис бактерий *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д наблюдался после 2 ч культивирования на ГРМ-бульоне и усовершенствованной среде Мейнелла, через 2,5 ч – на остальных средах (рисунок 2).

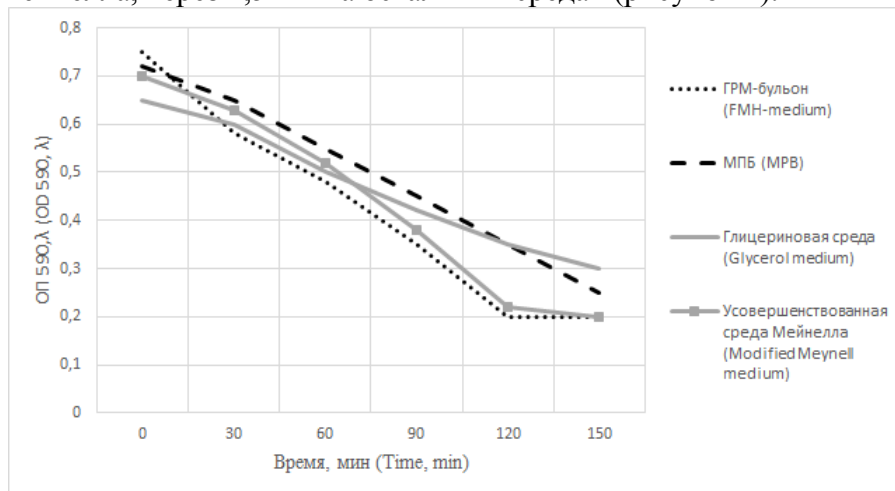


Рис.2. Влияние различных питательных сред на скорость лизиса клеток бактериальной культуры при добавлении бактериофага БИМ ВV-45

Наиболее высокие титры фага наблюдались на ГРМ-бульоне и усовершенствованной среде Мейнелла – $(2,0 \pm 1,5) \times 10^9$ БОЕ/мл и $(1,0 \pm 0,9) \times 10^9$ БОЕ/мл, соответственно. На глицериновой среде и МПБ титр был на порядок ниже (таблица 1).

Таблица 1. Влияние различных питательных сред на показатели роста индикаторной культуры *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д и литической активности бактериофага БИМ ВV-45 Д

Среды	Продолжительность культивирования штамма <i>P. helmanticensis</i> БИМ В-582Д до достижения оптической плотности 0,7 (ОП590), ч	Время лизиса бактериального штамма <i>P. helmanticensis</i> БИМ В-582 Д фагом, ч	Титр бактериофага, БОЕ/мл
ГРМ-бульон	2,0	2,0	$(2,0 \pm 1,5) \times 10^9$
Усовершенствованная среда Мейнелла	2,0	2,0	$(1,0 \pm 0,9) \times 10^9$
МПБ	2,5	2,5	$(2,5 \pm 1,3) \times 10^8$
Глицериновая среда	2,75	2,5	$(1,0 \pm 0,9) \times 10^8$

Схожие результаты были получены и для остальных культур фагов: *Pseudomonas phage* БИМ ВV-46 Д, БИМ ВV-47 Д, БИМ ВV-50 Д, БИМ ВV-53 Д, БИМ ВV-61 Д. При смешивании бактериофагов и хранении консорциума в течение 4 месяцев титр фагов на усовершенствованной среде Мейнелла снижался на порядок и составлял $(1,8 \pm 1,3) \times 10^8$ БОЕ/мл, тогда как титр на ГРМ-бульоне оставался прежним – $(1,6 \pm 1,1) \times 10^9$ БОЕ/мл.

Таким образом, исходя из показателей роста индикаторного штамма *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д, скорости лизиса его монокультурами фагов и

сохранности титра бактериофагов, оптимальной средой для наработки фагов консорциума является бульон на основе гидролизата рыбной муки.

Изучение влияния температуры на скорость лизиса бактерий *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д фагами проводили при 20, 24, 28, 32 и 36°C (рисунок 3).

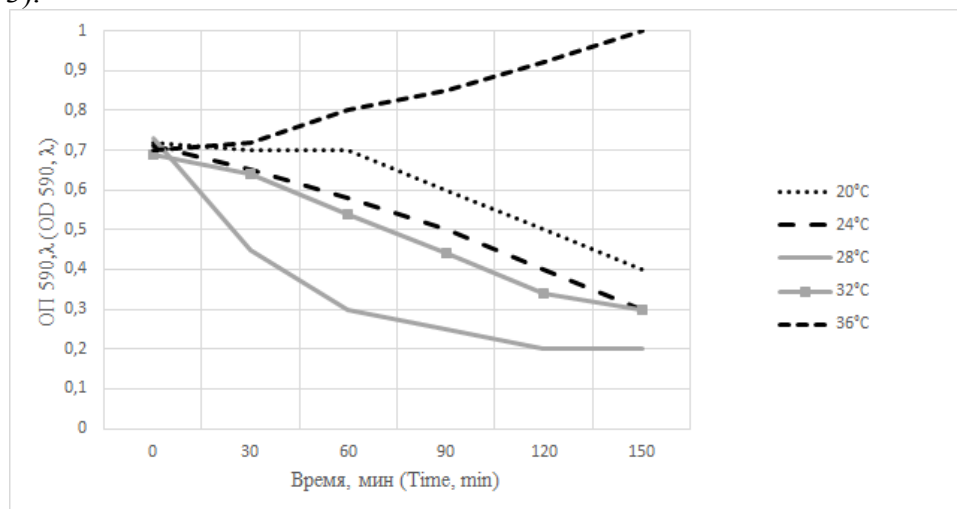


Рис. 3. Влияния температуры на скорость лизиса бактерий *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д фагом БИМ ВV-45 Д

Как видно из графика, наиболее быстрый лизис (через 1,5–2 ч) наблюдался при культивировании микроорганизмов при 28°C. При 32°C, 24°C и 20°C литическое действие фагов снижалось, а при 36°C – полностью прекращалось. Аналогичные данные наблюдались и на остальных исследуемых культурах фагов.

Таким образом, согласно полученным результатам, оптимальной температурой инфицирования бактерий *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д культурами бактериофагов является 28°C.

Для оптимизации режима перемешивания культивирование бактериальной культуры осуществляли при скорости вращения мешалки 160 и 200 об/мин, аэрации – 1,0 л воздуха/л среды в минуту и температуре – 28°C. Установлено, что в изученном диапазоне скоростей вращения мешалки не отмечено существенного изменения интенсивности накопления биомассы бактерий *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д. Необходимая оптическая плотность (ОП₅₉₀ 0,6–0,7) достигалась за 2 ч культивирования (рисунок 4).

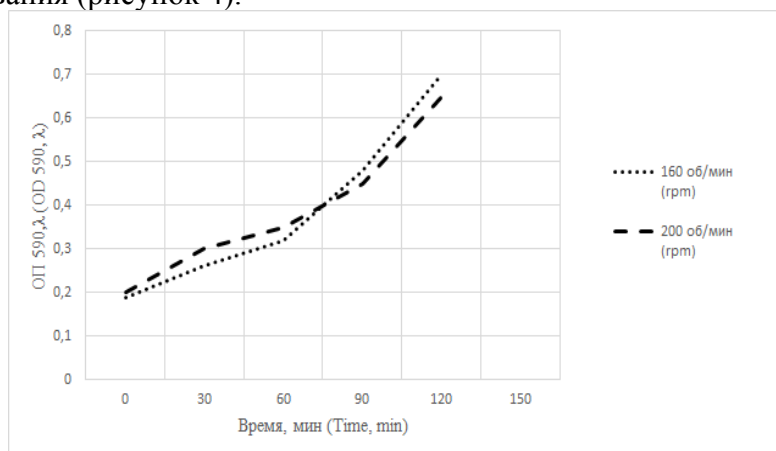


Рис. 4. Влияние частоты вращения мешалки в ферментере АНКУМ-3М на интенсивность накопления биомассы бактерий *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д

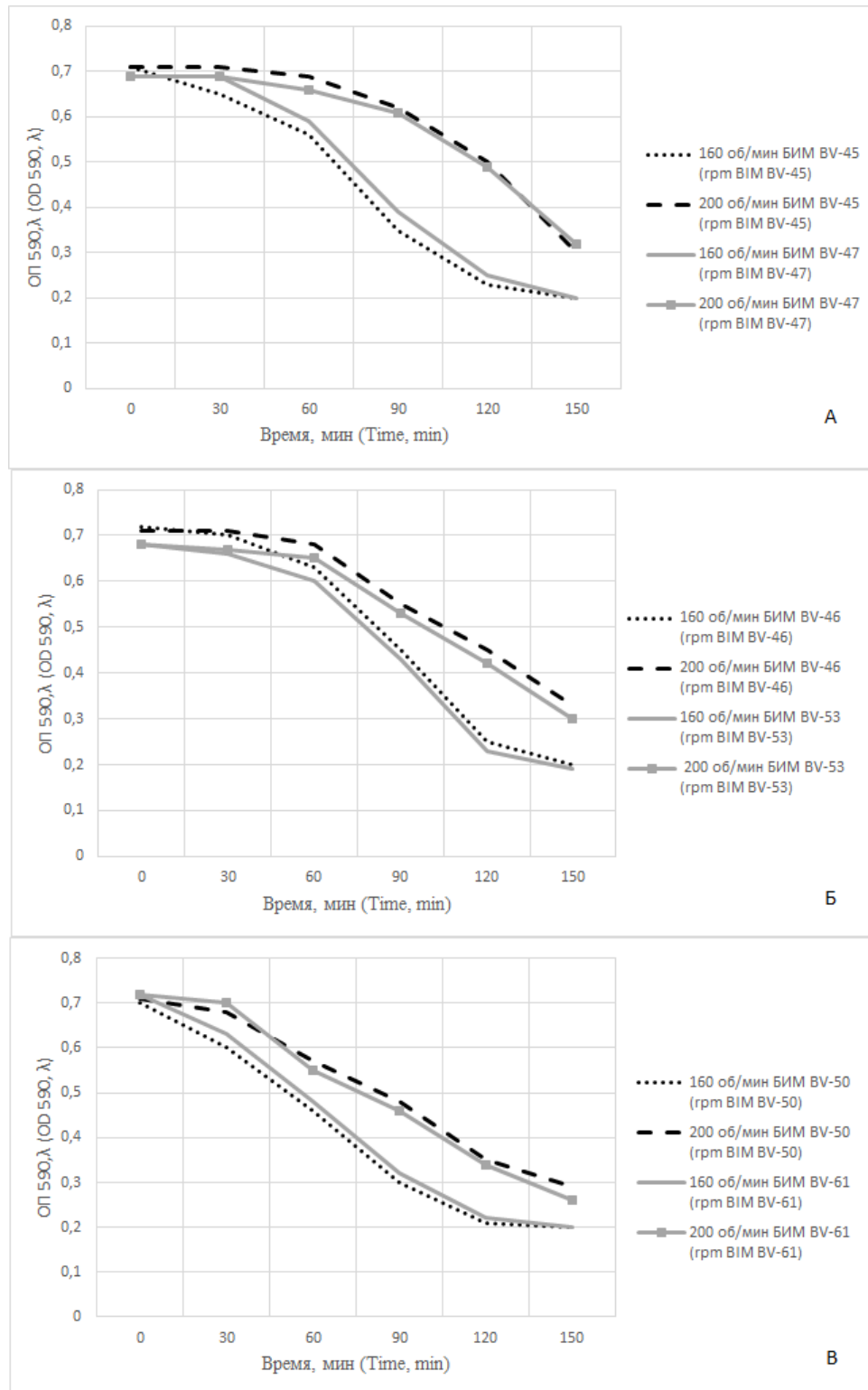


Рис. 5. Влияние частоты вращения мешалки на скорость лизиса клеток бактериальной культуры при добавлении монокультур фагов

Вместе с тем, как видно из рисунка 5 (А, Б, В), лизис бактерий фагами при 160 об/мин происходил быстрее (2 ч), чем при 200 об/мин (2,5-3 ч).

Для определения оптимального уровня аэрации культивирование бактерий *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д и лизис его фагами осуществляли при 0,5; 1,0 и 1,5 л воздуха/л среды в минуту при скорости вращения мешалки 160 об/мин и температуре – 28°C. Выявлено, что наибольшая скорость роста бактериальной культуры отмечалась при уровнях аэрации 1,0 и 1,5 л воздуха/л среды в минуту, обеспечивающих высокий титр бактерий – $1,9 \times 10^8$ КОЕ/мл и $1,6 \times 10^8$ КОЕ/мл, соответственно (рисунок 6).

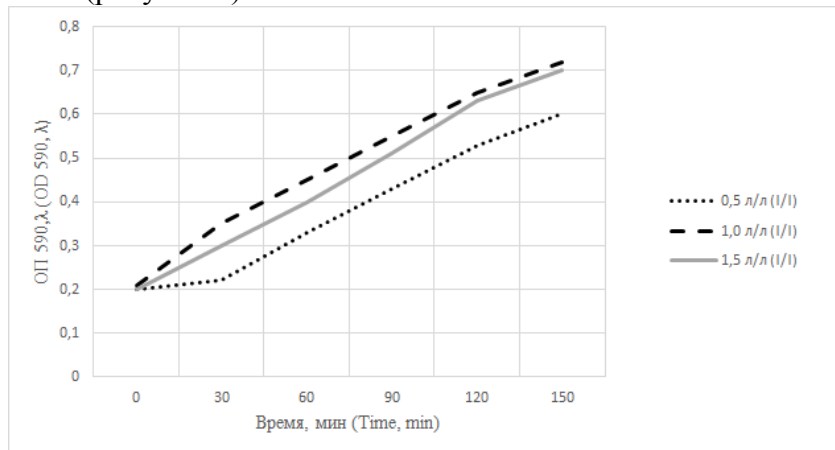


Рис. 6. Влияние уровня аэрации в ферментере на интенсивность накопления биомассы бактерий *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д

Что касается скорости лизиса индикаторного штамма *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д, то в диапазоне интенсивностей аэрации 0,5-1,5 л воздуха/л среды в минуту она практически не изменялась (рисунок 7).

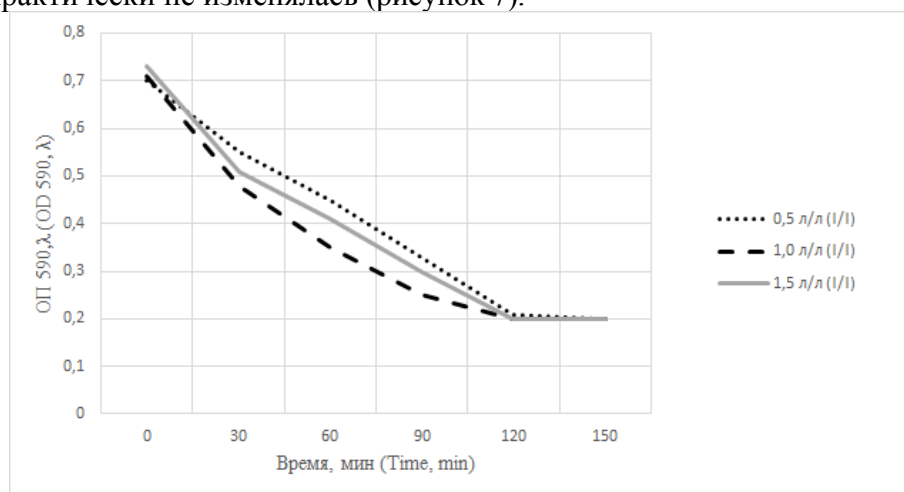


Рис. 7. Влияние уровня аэрации в ферментере на скорость лизиса клеток индикаторной культуры при добавлении фага БИМ ВV-45 Д

Аналогичная зависимость получена и в отношении титров испытанных фагов, усредненные значения которых, незначительно отличались при изменении интенсивности аэрации и составляли $(2,3 \pm 1,7) \times 10^9$ БОЕ/мл, $(2,5 \pm 1,6) \times 10^9$ БОЕ/мл и $(1,8 \pm 1,0) \times 10^9$ БОЕ/мл при 0,5, 1,0, 1,5 л воздуха/л среды в минуту, соответственно. Исходя из полученных данных и экономической целесообразности для культивирования *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д выбран режим аэрации 1,0 л воздуха/л среды в минуту.

Консорциум, содержащий смесь 6 бактериофагов (в соотношении 1:1:1:1:1:1), выращенных в оптимизированных условиях, наряду с высокой литической активностью к бактерии-хозяину, характеризуется также способностью лизировать фитопатогенные бактерии *Pseudomonas syringae*



(таблица 2), что свидетельствует о перспективности его применения в интегрированной системе защиты растений.

Таблица 2. Спектр литического действия консорциума, включающего 6 исследованных бактериофагов в соотношении 1:1:1:1:1:1

	<i>P. helmanticensis</i> БИМ В-582 Д	Фитопатогенные бактерии <i>P. syringae</i> из БКМ			
		БИМ В-268	БИМ В-1229	БИМ В-1140	БИМ В-1144
Титр консорциума фагов, БОЕ/мл	$(4,5\pm 0,7)\times 10^9$	$(3,3\pm 0,7)\times 10^9$	$(2,5\pm 1,8)\times 10^9$	$(2,3\pm 1,7)\times 10^9$	$(3,8\pm 1,3)\times 10^9$

ВЫВОДЫ

В лабораторных условиях установлено, что оптимальные показатели скорости роста и лизиса штамма-хозяина *P. helmanticensis* БИМ В-582 Д бактериофагами *Pseudomonas phage* БИМ ВV-45 Д, БИМ ВV-46 Д, БИМ ВV-47 Д, БИМ ВV-50 Д, БИМ ВV-53 Д, БИМ ВV-61 Д достигаются в лабораторном ферментер АНКУМ-3М на питательной среде ГРМ-бульон, при температуре 28°C, скорости вращения мешалки 160 об/мин и интенсивности аэрации 1 л воздуха/л среды в минуту.

Финансирование

Работа выполнена в рамках задания 3.33 «Выделение, селекция и изучение фагов фитопатогенных бактерий и штаммов микроорганизмов с гербицидной активностью с целью разработки экологически безопасных средств защиты растений» подпрограммы «Микробные биотехнологии» государственной программы научных исследований «Биотехнологии» № 20190614.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дьяков Ю. Т. Микроорганизмы – паразиты растений // Фундаментальная фитопатология / под ред. Ю. Т. Дьякова. – Изд. стереотип.: М., 2017. - Гл. 2. - С. 31-53.
2. Марков И. Бактериальные болезни томата и меры по ограничению их распространения // Овощеводство. - 2013. - № 8. -С. 10.
3. Xin X.-F. *Pseudomonas syringae*: what it takes to be a pathogen // Nature Rev. Microbiology. - 2018. -Vol. 16, № 5. - P. 316–328.
4. Gutierrez-Barranquero J. A. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* associated with mango trees, a particular pathogen within the «Hodgepodge» of the *Pseudomonas syringae* complex // Frontiers in Plant Science. - 2019. - Vol. 10. - P. 570.
5. Weitz J. S. Phage-bacterial infection networks // Trends in Microbiology. - 2013. - Vol. 21, № 2. - P. 82-91.
6. Аккерман Х.В. и др. Бактериофаги: биология и практическое применение: пер. с англ. / под ред. Э. Каттер, А. Сулаквелидзе; науч. ред. А. В. Летаров. - М.: Науч. мир, 2012. - 636 с.
7. Чикилева А.Е. Динамика роста и спорообразования бактерий *Bacillus subtilis* 12А – антагониста фитопатогенной микрофлоры в глубинной культуре // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии: материалы Междунар. конф., г. Минск, 26-28 мая 2004 г. - С .121-123



8. Лабинская А. С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований: учеб. пособие - М. : Медицина, 2004. - 576 с.
9. Adams, H. M. Bacteriophages. // New York; London: Inter-science Publ.-1959. – XVIII. - 592 p.

REFERENCES

1. D'jakov Ju. T. Mikroorganizmy – parazity rastenij. *Fundamental'naja fitopatologija* / pod red. Ju. T. D'jakova. – Izd. stereotip.: M., 2017, gl. 2, c. 31-53.2.
2. Markov I. Bakterial'nye bolezni tomata i mery po ogranicheniju ih rasprostraneniya. *Ovoshhevodstvo*, 2013, no. 8, s. 10.
3. Xin, X.-F., Kvitko B., He S.Y. *Pseudomonas syringae*: what it takes to be a pathogen. *Nature Rev. Microbiology*, 2018, vol. 16, no. 5, pp. 316-328. PMID: 29479077, doi: 10.1038/nrmicro.2018.17
4. Gutierrez-Barranquero, J.A., Cazorla F.M., A. de Vicente. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* associated with mango trees, a particular pathogen within the «Hodgepodge» of the *Pseudomonas syringae* complex. *Front. Plant Sci.*, 2019, vol. 10, pp. 570. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00570>
5. Weitz J.S., Poisot T., Meyer J.R., Flores C.O., Valverde S., Sullivan M.B., Hochberg M.E. Phage-bacterial infection networks. *Trends Microbiol.* 2013, vol. 21, no. 2, pp. 82-91. doi: 10.1016/j.tim.2012.11.003
6. Akkerman H.V. i dr. Bakteriofagi: biologija i praktičeskoe primenenie: per. s angl. / pod red. Je. Katter, A. Sulakvelidze; nauch. red. A. V. Letarov. - M.: Nauch. mir, 2012, 636 s.
7. Chikileva A.E. Dinamika rosta i sporoobrazovanija bakterij *Bacillus subtilis* 12A – antagonista fitopatogennoj mikroflory v glubinoj kul'ture // Sovremennoe sostojanie i perspektivy razvitija mikrobiologii i biotehnologii: materialy Mezhdunar. konf., g. Minsk, 26-28 maja 2004 g., S .121-123
8. Labinskaja A. S. Obshhaja i sanitarnaja mikrobiologija s tehnikoj mikrobiologičeskikh issledovanij: ucheb. posobie - M. : Medicina, 2004, 576 s.
9. Adams, H.M. Bacteriophages. New York-London, *Inter-science Publ.*, 1959., vol. XVIII, 592 p.



PSEUDOMONAS TEKTEC ФИТОПАТОГЕНДІ БАКТЕРИЯЛАРДЫ БАҚЫЛАУ ҮШІН ПЕРСПЕКТИВАЛЫ БАКТЕРИОФАГТАРДЫ КУЛЬТИВИРЛЕУДІҢ ТЕХНОЛОГИЯЛЫҚ ПАРАМЕТРЛЕРІН ОҢТАЙЛАНДЫРУ

*Пилипчук Т.А., Герасимович А.Д., Ананьева И.Н., Коломиец Э.И.

Беларусь ҰҒА Микробиология институты
Купревич көш., 2, Минск қ., 220141, Беларусь Республикасы
*tanya.pilipchuk@tut.by

ТҮЙІН

Бактериофагтарды *Pseudomonas helmanticensis* БИМ В-582 Д штамм-қожайынына қатысты литикалық белсенділігі бойынша сұрыптап алынған бактериофагтарды культивирлеудің технологиялық параметрлері зерттелді. Зертхана жағдайларында (АНКУМ-3М ферментертерінде) оның фагтарын *Pseudomonas phage* БИМ BV-45 Д, БИМ BV-46 Д, БИМ BV-47 Д, БИМ BV-50 Д, БИМ BV-53 Д, БИМ BV-61 Д индикаторлық культураны культивирлеу мен лизисін қамтамасыз етудің оңтайлы жағдайлары мыналар табылатыны дәлелденді: қоректік ортасы – құнарлы сорпа, температурасы – 28°C, араластырғыштың айналу жылдамдығы – 160 айн/мин, аэрация деңгейі – минутына ортаға 1 л ауа/л. Оңтайландырылған жағдайларда қол жеткізілген жоғарыда аталған алты фагтарды қамтитын фаг препараты тек қана штамм-қожайынға ғана емес, сондай-ақ *Pseudomonas syringae* фитопатогенді бактерияларға қатысты да литикалық белсенділігі жоғары қабілетке ие.

Негізгі сөздер: бактериофагтар, культивирлеу параметрлері, қоректік орта, температура.

OPTIMIZATION OF PROCESS PARAMETERS FOR CULTIVATION OF BACTERIOPHAGES PROMISING FOR BIOLOGICAL CONTROL OF PHYTOPATHOGENIC BACTERIA OF GENUS *PSEUDOMONAS*

*Pilipchuk T.A., Gerasimovich A.D., Ananyeva I.N., Kolomiets E.I.

Institute of Microbiology, National Academy of Sciences of Belarus
2, Kuprevich str., Minsk, 220141, Republic of Belarus
*tanya.pilipchuk@tut.by

ABSTRACT

Cultural parameters of bacteriophages screened for lytic activity toward host bacterial strain *P. helmanticensis* BIM B-582 D were investigated. The following conditions were shown to be optimal for cultivation of indicator culture and its lysis by *Pseudomonas phages* BIM BV-45 D, BIM BV-46 D, BIM BV-47 D, BIM BV-50 D, BIM BV-53 D, BIM BV-61 D in laboratory fermenters ANKUM-3M: nutrient medium – fish meal hydrolysate broth, temperature – 28°C, stirrer agitation rate – 160 rpm, aeration rate – 1 l air/ l medium per min. Biopreparation produced under optimized conditions and composed of six afore-mentioned phages display high lytic activity both in regard to the host strain and to phytopathogenic bacteria *Pseudomonas syringae*.

Key words: bacteriophages, cultural parameters, nutrient medium, temperature