

DOI 10.33952/2542-0720-2019-4-20-96-110

УДК 579(873.71+64)

Рябова О. В.

PGPR-СВОЙСТВА РИЗОСФЕРНОГО ИЗОЛЯТА *STREPTOMYCES SP. A-4*

ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия»

Реферат. Стрептомицеты известны как продуценты различных биологически активных соединений, в том числе с антифунгальной и фиторегуляторной активностями. В связи с этим их можно рассматривать в качестве источника новых биопрепаратов для использования в растениеводстве. Цель исследования – изучение спектра и механизмов антагонистического действия, фиторегуляторной и колонизирующей способности ризосферного изолята *Streptomyces sp. A-4*. Исследования проводили в лабораторных условиях: изучение антагонистической активности *Streptomyces sp. A-4* – в 2008–2011 гг.; колонизирующей активности – 2009 г.; фиторегуляторной – 2012 г.; молекулярно-генетический анализ – 2019 г. Принадлежность штамма к роду *Streptomyces* (кладе *Streptomyces violaceusniger*) установлена на основании культурально-морфологических признаков, а также результатов секвенирования фрагмента гена 16S рРНК. Изучаемый изолят подавлял рост (зона 14–50 мм) фитопатогенных грибов *Fusarium sp.*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium sporotrichiella*, *Bipolaris sorokiniana*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria sp.* и бактерии *Streptomyces scabiei*. При этом он не ингибировал бактерии родов *Pseudomonas*, *Azospirillum* и *Rhizobium*, являющихся представителями нормальной ризосферной микробиоты. Подавление фитопатогенных грибов стрептомицетом обусловлено сочетанием фунгистатической (ингибирование прорастания конидий микромицетов, ограничение роста мицелия, в том числе благодаря продукции летучих антифунгальных метаболитов) и фунгицидной (лизис грибного мицелия) активностей. Установлена способность изучаемого изолята к синтезу ауксинов (до 18 мкг/мл) и стимуляции роста растений. В частности, на примере пшеницы продемонстрировано увеличение высоты побега (на 38–66 %) и длины корней (на 23–25 %) проростков под влиянием метаболитов стрептомицета. В модельных экспериментах стрептомицет колонизировал корни растений: уровень его численности на корнях в нестерильной почве в течение четырех недель наблюдений не опускался ниже 10^5 КОЕ/г корней, что свидетельствует о достаточно высоких конкурентных свойствах этого изолята. Совокупность указанных характеристик *Streptomyces sp. A-4* позволяет отнести его к группе *plant growth-promoting rhizobacteria* (PGPR).

Ключевые слова: стрептомицеты, *Streptomyces sp.*, антагонизм, фитопатогены, биопрепараты, ауксины, колонизация корней растений.

Введение

На сегодняшний день одним из наиболее экологичных способов повышения продуктивности и улучшения фитосанитарного состояния агроэкосистем является использование биопрепаратов на основе ризосферных бактерий, оказывающих положительное влияние на растения. Такие бактерии принято называть PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria), то есть стимулирующие рост растений ризобактерии [1]. Можно выделить основные признаки, по которым ризосферные бактерии относят к группе PGPR: антагонистическая активность по отношению к патогенным для растений микроорганизмам, продукция биологически активных веществ (фитогормоны, витамины и др.), способность колонизировать корни растений [1, 2].

Наиболее известные PGPR – бактерии родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Flavobacterium* и ряд других представителей филумов *Firmicutes*, *Proteobacteria* и *Bacteroides* [1, 3]. На их основе разработаны такие эффективные средства как «Фитоспорин-М», «Алирин-Б», «Псевдобактерин-2», «Ризоплан», «Флавобактерин», «Азобактерин» и др. [4–6]. Вместе с тем, требуется расширение и постоянное обновление списка возможных биологических агентов для разработки новых биопрепаратов. В этой связи определенный интерес представляет изучение стрептомицетов – мицелиальных актинобактерий, характеризующихся способностью продуцировать различные биологически активные соединения [7, 8]. Среди них известны представители, проявляющие сильную антагонистическую активность в отношении различных фитопатогенных микроорганизмов [7, 9, 10]. Некоторые изоляты способны синтезировать фитогормоны и стимулировать рост растений [7, 9, 11]. Однако термин PGPR к стрептомицетам применяется гораздо реже, чем к перечисленным выше бактериям. Вместе с тем следует отметить увеличение в последнее время количества публикаций, в основном зарубежных, посвященных скринингу актиномицетов, обладающих полезными для растений свойствами [7, 9, 11–13], что свидетельствует об актуальности изучения этих микроорганизмов с целью использования в сельскохозяйственной практике.

Цель исследований – изучение спектра и механизмов антагонистического действия, фиторегуляторной и колонизирующей способности ризосферного изолята *Streptomyces sp.* A-4.

Материалы и методы исследований

Исследования осуществлены на базе ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» и ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого». Объект исследования – штамм *Streptomyces sp.* A-4, выделенный автором в 2004 г. из ризосферы овса (*Avena sativa* L., сорт Аргамак) на кислой ($pH_{\text{кол.}} = 4,5$) дерново-подзолистой почве Северо-Востока европейской части России (г. Киров, 58°35'47"N, 49°39'37"E) и проявлявший высокую антагонистическую активность в отношении некоторых фитопатогенных грибов [14].

Идентификацию штамма проводили по морфологическим и культуральным свойствам с использованием информационных источников [15, 16], а также на основе секвенирования фрагмента гена 16S рРНК. Молекулярно-генетический анализ выполнен в 2019 г. в ЦКП «Биотехнология» ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (г. Москва). Выделение геномной ДНК проводили коммерческим набором «Проба-Экспресс» (Синтол, РФ). ПЦР-анализ и последующее секвенирование нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК проведены с использованием универсальных праймеров 16SF75 (agtggcggacgggtgagtaa) и 16SR1100 (ttactagcattccgactca) с помощью BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, USA). Секвенирование осуществляли по методике Сенгера [17] на генетическом анализаторе ABI3130xl (Thermo Fisher Scientific, USA).

Первичный сравнительный анализ полученных нуклеотидных последовательностей с репрезентативными последовательностями базы данных GenBank проводили с помощью программы NCBI Blast [18]. Множественное выравнивание последовательностей и построение филогенетического дерева осуществляли в программе MAFFT version 7 [19]. Для построения дендрограммы использовали метод объединения «ближайших соседей» – neighbor-joining method. Статистическую достоверность порядка ветвления определяли с помощью «bootstrap»-анализа 1000 альтернативных деревьев. В качестве референсного, не

принадлежащего к роду *Streptomyces*, организма использован штамм *Bifidobacterium bifidum* КСТС 3202.

Изучение антагонистической активности Streptomyces sp. A-4 (2008–2011 гг.). Спектр антимикробного действия изучаемого изолята определяли методом агаровых блоков [20]. Блоки со стрептомицетом помещали на поверхность питательной среды одновременно с засевом ее тест-культурой. Через 2–5 суток определяли диаметр стерильной зоны вокруг блока. В качестве тест-культур использовали штаммы фитопатогенных грибов и бактерий, предоставленные руководителем лаборатории иммунитета и защиты растений ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого» (г. Киров) Т. К. Шешеговой, а также выделенные автором из больных растений. Кроме того, оценивали влияние изучаемого изолята на штаммы ассоциативных бактерий из коллекций ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии» (г. Санкт-Петербург) и 46-го Центрального научно-исследовательского института Министерства обороны РФ (г. Киров), а также симбиотических бактерий *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*, выделенных автором из клубеньков *Trifolium pratense* L. Названия тест-культур представлены в разделе «Результаты и их обсуждение».

Способность стрептомицета к лизису мицелия грибов также изучали методом агаровых блоков, однако в этом случае блоки с культурой *Streptomyces sp. A-4* помещали на поверхность выросшего после пяти суток культивирования на плотной питательной среде грибного мицелия. Диаметр зоны лизиса грибного мицелия вокруг блока оценивали через шесть недель культивирования.

Способность стрептомицета к продукции летучих антифунгальных метаболитов определяли в «бесконтактных» системах: герметизированных пленкой Parafilm в чашках Петри. На одной поверхности производили посев стрептомицета, на другой – тестируемого гриба. Длительность эксперимента – 10 суток. По его окончании рассчитывали радиальную скорость роста (Kr) колоний грибов в присутствии и отсутствии (контроль) *Streptomyces sp. A-4* по формуле [21]:

$$Kr = (d_2 - d_1) / (t_2 - t_1)$$

где Kr – скорость роста колоний грибов, мм/ч;

d₁ и d₂ – диаметр колоний в начальный и конечный момент измерения соответственно, мм;

t₁ и t₂ – время начального и конечного измерения, ч.

В указанных опытах культивирование *Streptomyces sp. A-4*, а также возбудителя парши обыкновенной картофеля (*Streptomyces scabiei* П-5) осуществляли на среде ISP-3 [16], ассоциативных бактерий – плотной среде RHM [22], клубеньковых бактерий – маннитно-дрожжевом агаре [23] при температуре 27 ± 2 °С в течение 2–5 суток. Фитопатогенные грибы выращивали на агаре Чапека-Докса [24] при 22 ± 2 °С в течение пяти суток.

Влияние *Streptomyces sp. A-4* на прорастание спор грибов определяли следующим способом: из культуральной жидкости (опыт) изучаемого изолята, полученной путем культивирования последнего в жидкой среде ISP-3 на качалке (180 об./мин) при 27 ± 2 °С, и стерильной воды (контроль) готовили препараты «висячая капля», в которые помещали конидии грибов. Через четыре часа путем микроскопирования препаратов (микроскоп «Биомед 6-ЛЮМ», Россия) подсчитывали долю проросших спор микромицетов в обоих вариантах.

Изучение фиторегуляторной активности Streptomyces sp. A-4 (2012 г.). Определение ауксинов в культуральной жидкости *Streptomyces sp. A-4* осуществляли колориметрическим методом с реактивом Сальковского [25, 26]. Для постановки

эксперимента стрептомицет культивировали на качалке (180 об./мин) при 27 ± 2 °С в 100 мл жидкой среды RHM с добавлением 200 мкг/мл DL-триптофана и заменой аммонийного азота его нитратной формой [26].

Фиторегуляторную активность изучали методом рулонной культуры на яровой пшенице (*Triticum aestivum* L., сорт Приокская). Перед закладкой опыта семена пшеницы замачивали на 24 ч в суспензии стрептомицета, выращенного как описано выше для методики определения ауксинов. Варианты опыта: 1 – контроль (вода); 2 – контроль (питательная среда); 3 – суспензия *Streptomyces* sp. А-4 в разведении 1:10. Проклюнувшиеся семена раскладывали на увлажнённую дистиллированной водой фильтровальную бумагу, закатывали в рулоны (по 25 шт. в каждом). Рулоны устанавливали вертикально в химические стаканы с водой и помещали в камеру искусственного климата ILKA (Германия) при температуре 25/18 °С (день/ночь), освещённости – 10 клк и фотопериоде – 16 ч. Через шесть суток определяли линейные размеры проростков.

Изучение колонизирующей активности Streptomyces sp. А-4 (2009 г.)
В модельных лабораторных экспериментах на примере растений озимой ржи (*Secale cereale* L., сорт Вятка 2) и овса (*Avena sativa* L., сорт Аргамак) изучали способность *Streptomyces* sp. А-4 колонизировать ризосферу растений. Исследования проводили в стерильных и нестерильных условиях. В первом случае суспензией спор (10^6 – 10^7 на 1 г семян) *Streptomyces* sp. А-4 инокулировали поверхностно стерилизованные в течение 15 минут смесью 3 % пероксида водорода и 96 % этилового спирта (1:1) семена озимой ржи. Семена высевали в стеклянные пробирки ПБ2 (21 × 200 мм), на треть заполненные увлажненной до 80 % от полной влагоемкости стерильной дерново-подзолистой почвой со следующими агрохимическими показателями: рН_{сол.} = 4,5; подвижный алюминий – 0,58 мг/100 г почвы; обменная кислотность – 0,11 мг-экв./100 г почвы; Р₂О₅ – 154 мг/кг почвы; К₂О – 168 мг/кг почвы; гумус – 2,7 %. Во втором случае использовали нестерильные семена озимой ржи и овса, которые высевали в пластиковые сосуды (1 л), на треть заполненные той же увлажненной до 80 % от полной влагоемкости дерново-подзолистой почвой, не подвергавшейся стерилизации. В этом случае семена обрабатывали суспензией спор (10^6 – 10^7 на 1 г семян) изучаемого стрептомицета, предварительно маркированного по устойчивости к стрептомицину, подавлявшему в концентрации от 10 и выше мкг/мл питательной среды рост всех актиномицетов, высеваемых из использованной в исследовании почвы. Устойчивый к стрептомицину штамм (*Streptomyces* sp. А-4 200 str^r) получали путем отбора спонтанных мутантов в ходе пересевов *Streptomyces* sp. А-4 на плотной питательной среде Гаузе 1 [16] с последовательным увеличением содержания в ней стрептомицина до 200 мкг/мл. В качестве контроля использовали неинокулированные *Streptomyces* sp. А-4 200 str^r семена.

Растения выращивали в камере искусственного климата ILKA (Германия) при температуре 25/18 °С (день/ночь), освещённости – 10 клк и фотопериоде 16 ч в течение 27 суток.

В экспериментах определяли численность изучаемого изолята в прикорневой зоне, для чего проводили поверхностный посев из разведений образцов ризосферы на плотную среду Гаузе 1. В опыте, осуществляемом в нестерильных условиях, в среду добавляли 100 мкг/мл стрептомицина для исключения роста других актиномицетов.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программ Microsoft Excel 7.0 и Statgraphics plus 2.1. Данные представлены в виде средних арифметических значений с доверительными интервалами. Статистическую значимость различий определяли по Стьюденту ($p < 0,05$). Графики построены в

программе Microsoft Excel 7.0.

Результаты и их обсуждение

Идентификация Streptomyces sp. A-4. Ранее [14] на основании морфологических и культуральных свойств с помощью определителя Гаузе с соавторами [16] изучаемый изолят отнесен нами к виду *Streptomyces hygrosopicus*. Проведенная генотипическая идентификация штамма, основанная на анализе фрагмента гена 16S рРНК, показала, что он действительно является представителем рода *Streptomyces*. Ближайшими родственниками (показатель сходства более 98,7 % [27]) изучаемого изолята в базе GenBank были 13 штаммов (приведены на рисунке 1), относящиеся к семи видам. Все они – представители клады *S. violaceusniger* [28, 29].

Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 16S рРНК позволило установить, что все штаммы стрептомицетов, за исключением представителей вида *S. yatensis*, образуют одну филогенетическую группу с достоверностью кластеризации 77 % (рисунок 1).

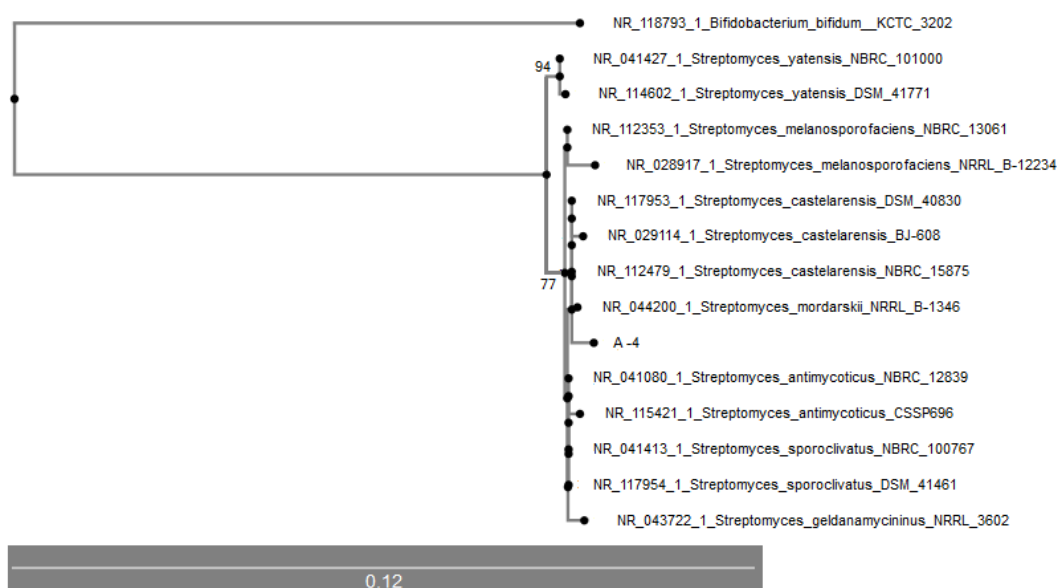


Рисунок 1 – Филогенетическое дерево, построенное на основе анализа последовательностей генов 16S рРНК, принадлежащих *Streptomyces sp. A-4* и наиболее близким ему коллекционным штаммам

Примечание. Указаны величины достоверности кластеризации для узлов, характеризующихся значениями выше 60 %. Масштаб соответствует двенадцати заменам на 100 пар оснований.

Наиболее близки к изучаемому изоляту представители видов *S. castelarensis* и *S. mordarskii*. Заметим, что эти виды выделены в статус новых в результате реклассификации некоторых коллекционных штаммов, ранее считавшихся представителями вида *S. hygrosopicus* [29]. Однако достоверность их кластеризации со *Streptomyces sp. A-4* не превысила 54 %. Культурально-морфологические свойства штаммов, объединяющихся в кластер с достоверностью кластеризации 77 %, существенно не различаются и являются типичными для представителей клады *S. violaceusniger* (таблица 1). Таким образом, результаты проведенного анализа не позволяют однозначно установить видовую принадлежность штамма А-4.

Антагонистическая активность Streptomyces sp. A-4. В опыте с фитопатогенными микромицетами установлено, что *Streptomyces sp. A-4* подавлял рост всех изученных в работе тест-культур. Зона ингибирования роста

мицелиальных грибов варьировала от 24 до 50 мм в зависимости от вида микромицета (рисунок 2). Наиболее высокую ингибирующую активность в наших экспериментах выявили в отношении гриба *Fusarium avenaceum* 7/2. В работе, проведенной сотрудниками лаборатории иммунитета и защиты растений Федерального аграрного научного центра Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого [30], куда штамм передавали для дополнительных исследований, установлена также его высокая антагонистическая активность (зона ингибирования 46 мм) в отношении конидиальной стадии возбудителя спорыньи – *Sphacelia segetum*, для борьбы с которым в России не зарегистрировано ни одного биофунгицида.

Таблица 1 – Культурально-морфологические свойства *Streptomyces sp. A-4* и родственных видов [15, 16, 28, 29]

Вид	Морфология спороносцев	Цвет споровой массы	Автолиз (увлажнение и почернение) воздушного мицелия	Цвет субстратного мицелия	МП
<i>Streptomyces sp. A-4</i>	S	серый	+	бесцветный до светло-желтого	-
<i>S. castelarensis</i>	S	серый	+	желто-серый	-
<i>S. mordarskii</i>	S	серый	+	серо-желтый	-
<i>S. antimycoticus</i>	S	серый	+	бесцветный до зеленовато-желтого	-
<i>S. sporoclivatus</i>	S	серый	+	бесцветный	-
<i>S. geldanamycininus</i>	S	серый	н	бесцветный до коричневого	-
<i>S. melanosporofaciens</i>	S	серый	+	светло-желтый до желто-серовато-оливкового	-

Примечания: «S» – спиральные цепочки спор; МП – меланоидные пигменты; «+» – наличие признака; «-» – отсутствие признака; «н» – не описано.

Следует отметить, что в литературе имеется информация о проявлении высокой противогрибковой активности [31, 32], в том числе в отношении фитопатогенных грибов [31], изолятами, наиболее близкими, также как и *Streptomyces sp. A-4*, по нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК к видам *S. castelarensis* и *S. mordarskii*. Таким образом, представители клады *S. violaceusniger*, генотипически близкие к указанным видам, можно рассматривать в качестве возможных продуцентов новых биофунгицидов.

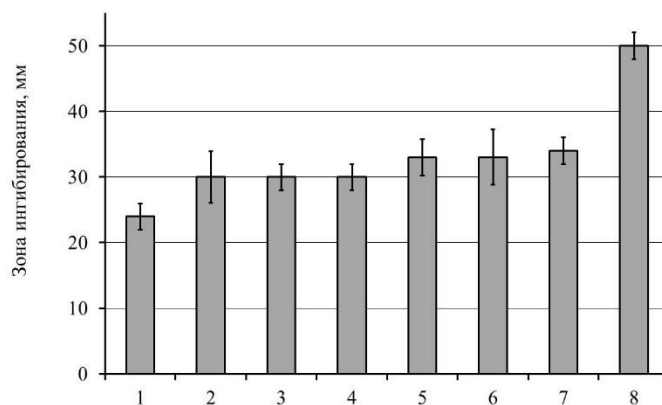


Рисунок 2 – Антагонистическая активность *Streptomyces sp. A-4* в отношении фитопатогенных грибов

Примечание. 1. *Fusarium culmorum* T-8; 2. *Fusarium oxysporum* C-099-k; 3. *Fusarium sp.*; 4. *Bipolaris sorokiniana*; 5. *Rhizoctonia solani* R-1; 6. *Alternaria sp.* T-1; 7. *Fusarium sporotrichiella* K- 8999-k; 8. *Fusarium avenaceum* 7/2.

Антифунгальная активность микроорганизмов к фитопатогенным грибам может быть обусловлена различными механизмами: ингибированием прорастания спор, ограничением роста и/или деградацией грибного мицелия. Во многом это обусловлено продукцией антагонистами антибиотиков, литических ферментов, а также летучих соединений [33].

Изучение механизмов антифунгальной активности *Streptomyces sp.* А-4 позволило установить, что продукты его жизнедеятельности препятствуют прорастанию конидий использованных в работе тест-культур грибов. Так, если доля проросших в течение четырех часов во влажной среде в отсутствии метаболитов актиномицета (контроль) грибных спор составила 33 % для *F. culmorum* Т-8 и 52 % для *F. avenaceum* 7/2, то в их присутствии (опыт) она была соответственно на 29 и 52 % ниже (таблица 2). Ингибирование прорастания спор грибов метаболитами, продуцируемыми представителями клады *S. violaceusniger*, отмечено также в работе [34].

Таблица 2 – Механизмы антагонистической активности *Streptomyces sp.* А-4 в отношении фитопатогенных грибов

Механизм	Показатель	Тест-культура	Опыт	Контроль
Ингибирование прорастания грибных конидий (фунгистатическая активность)	доля проросших спор, %	<i>Fusarium culmorum</i> Т-8	4	33
		<i>Fusarium avenaceum</i> 7/2	0	52
Ингибирование роста колоний грибов летучими метаболитами (фунгистатическая активность)	скорость роста гриба (Kr), мм/ч	<i>Fusarium culmorum</i> Т-8	0,18 ± 0,15	0,81 ± 0,20
		<i>Fusarium avenaceum</i> 7/2	0,17 ± 0,10	0,22 ± 0,10
		<i>Alternaria sp.</i> Т-1	0,14 ± 0,06	0,35 ± 0,10
Лизис грибного мицелия (фунгицидная активность)	зона лизиса, мм	<i>Fusarium culmorum</i> Т-8	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
		<i>Fusarium avenaceum</i> 7/2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
		<i>Alternaria sp.</i> Т-1	19,5 ± 0,9	0,0 ± 0,0
		<i>Fusarium oxysporum</i> И-1	18,3 ± 0,8	0,0 ± 0,0
		<i>Rhizoctonia solani</i> R-1	22,5 ± 0,8	0,0 ± 0,0

Фунгистатическое действие изучаемого изолята проявлялось также в задержке роста колоний грибов, обусловленной продукцией им летучих метаболитов. Скорость роста всех изучаемых тест-культур грибов в присутствии *Streptomyces sp.* А-4 (опыт) была достоверно ($p < 0,05$) ниже по сравнению с таковой в его отсутствии (контроль) (см. таблицу 2). Подавление роста грибов летучими метаболитами стрептомицетов также продемонстрировано в ряде работ зарубежных авторов [35, 36]. Отмечено, что стрептомицеты, продуцирующие летучие антифунгальные соединения, могут быть весьма эффективны в ограничении активности фитопатогенных микромицетов в гетерогенных субстратах [35], каковыми являются почва и ризосфера.

В отношении трех из пяти тест-культур фитопатогенных грибов (*Alternaria sp.* Т-1, *Rhizoctonia solani* R-1 и *Fusarium oxysporum* И-1) изучаемый изолят проявлял литическую активность: зона лизиса грибного мицелия в зависимости от тест-культуры составляла 18–23 мм (см. таблицу 2). Можно предположить, что данный вид активности связан с продукцией стрептомицетом внеклеточных гидролитических ферментов, таких как хитиназа и 1,3-β-глюканаза, разрушающих соответственно хитин и 1,3-β-глюкан в составе клеточных стенок грибов. Так, сочетание у представителей клады *S. violaceusniger* продукции данных гидролаз с противогрибковой активностью установлено в работах [37, 38].

Спектр антибактериальной активности *Streptomyces sp.* А-4 был уже, чем антифунгальной. Под влиянием стрептомицета наблюдали подавление роста только

одной из четырех тест-культур грамотрицательных бактерий – *Flavobacterium sp.* L.30 (ВНИИСХМ) (таблица 3). Грамположительные бактерии (*Arthrobacter simplex* Dr-12 (ВНИИСХМ), *Bacillus subtilis* и *Streptomyces scabiei* П-5) были более чувствительны к метаболитам актиномицета. Подавление роста возбудителя парши обыкновенной может быть использовано на практике для контроля численности данного фитопатогена в посадках картофеля. Примечательно, что *Streptomyces sp.* А-4 не проявлял антибактериальной активности в отношении ассоциативных бактерий родов *Pseudomonas*, *Azospirillum* и клубеньковых бактерий клевера, что свидетельствует о возможности их совместного использования в агротехнологиях.

Таблица 3 – Антагонистическая активность *Streptomyces sp.* А-4 в отношении бактерий

Зона ингибирования тест-культур, мм							
ассоциативные и симбиотические				фитопатогенные			
граммотрицательные				грамположительные			
1	2	3	4	5	6	7	8
0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	34,5 ± 1,0	34,8 ± 1,2	43,0 ± 2,5	0,0 ± 0,0	14,0 ± 1,8

Примечание. 1. *Pseudomonas fluorescens* 540 (ИМ МО РФ); 2. *Azospirillum brasilense* Sp-7 (ВНИИСХМ); 3. *Rhizobium leguminosarum* bv.trifolii Ч-7; 4. *Flavobacterium sp.* L.30 (ВНИИСХМ); 5. *Arthrobacter simplex* Dr-12 (ВНИИСХМ); 6. *Bacillus subtilis*; 7. *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* K-3-2; 8. *Streptomyces scabiei* П-5.

Фиторегуляторная активность *Streptomyces sp.* А-4. Влияние бактерий группы PGPR на растения не ограничивается только защитными свойствами. Важной их функцией является регуляция роста растений. Исследование фиторегуляторной активности метаболитов *Streptomyces sp.* А-4 выявило их ростстимулирующий эффект: в опытном варианте, в отличие от контрольных, у проростков пшеницы наблюдали достоверное увеличение значений высоты побега на 38–66 % и длины корней на 23–25 % (таблица 4). Аналогичный эффект отмечен у изолята *Streptomyces sp.* N3-3b, выделенного в Индии из ризосферы черного риса, и имевшего наибольшее генотипическое сходство с представителями видов *S. castelarensis* и *S. mordarskii* [31]. Авторами установлено, что одним из механизмов стимуляции роста растений является продукция стрептомицетом ауксинов. В нашем исследовании также выявлена способность *Streptomyces sp.* А-4 продуцировать ауксины, максимальный выход которых (18 мкг/мл) в культуральной жидкости наблюдали на 4–5 сутки роста культуры (рисунок 3). Очевидно, эти фитогормоны могли обуславливать стимуляцию роста проростков пшеницы, семена которой были обработаны культуральной жидкостью изучаемого изолята, выращенного в присутствии предшественника ауксинов – триптофана.

Таблица 4 – Фиторегуляторная активность *Streptomyces sp.* А-4 в отношении *Triticum aestivum* L., сорт Приокская

Вариант	Высота побега, мм	Длина корня, мм	Доля невсхожих семян, %
Контроль 1	38,5 ± 5,5	79,7 ± 9,6	7,0 ± 5,3
Контроль 2	31,9 ± 5,5	81,1 ± 9,6	12,0 ± 5,3
<i>Streptomyces sp.</i> А-4	53,0 ± 5,5*	99,4 ± 9,6*	8,0 ± 5,3

Примечание. * – Достоверно отличается от контроля при $p < 0,05$ (однофакторный дисперсионный анализ).

Колонизация *Streptomyces sp.* А-4 корней растений. Важным этапом на пути создания биопрепаратов на основе живых микробных клеток является доказательство способности микроорганизмов заселять местообитание, в которое

они интродуцируются. Только способность размножаться непосредственно в прикорневой зоне растений может обеспечить PGPR подавление развития фитопатогенов и стимуляцию роста растений [39].

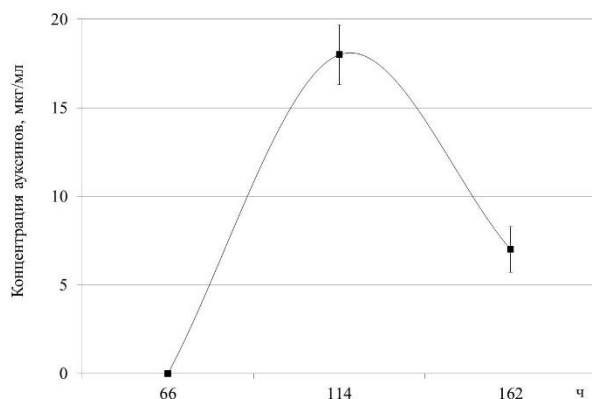


Рисунок 3 – Динамика синтеза ауксинов *Streptomyces sp. A-4*

Анализ динамики численности *Streptomyces sp. A-4* в ризосфере растений, выращиваемых в стерильных условиях, показал, что актиномицет в отсутствие других микроорганизмов способен активно заселять данное местообитание: уже на шестые сутки эксперимента его численность составляла $2,5 \times 10^6$ КОЕ/г, постепенно увеличиваясь к окончанию опыта до $5,5 \times 10^7$ КОЕ/г (рисунок 4).

Однако положительные результаты, полученные в стерильных условиях, не всегда подтверждаются при выращивании растений в естественной среде, что в первую очередь связано с активным развитием в прикорневой зоне аборигенной микробиоты, препятствующей заселению корней полезными интродуцированными микроорганизмами. Поэтому в ходе работы необходимо было подтвердить способность изучаемых штаммов актиномицетов колонизировать ризосферу в нестерильных условиях.

Проследить за динамикой численности стрептомицетов в нестерильной почве, где обитает большое количество различных микроорганизмов, в том числе других актиномицетов, невозможно без предварительной их маркировки. Наиболее доступным и простым методом маркировки микроорганизмов является повышение их резистентности к антибиотикам.

Для получения маркированного актиномицетного штамма нами выбран стрептомицин, к которому многие микроорганизмы весьма чувствительны. *Streptomyces sp. A-4* также являлся высокочувствительным к стрептомицину (диаметр зоны ингибирования – 49 ± 2 мм), что позволило использовать этот антибиотик для его последующей маркировки, в результате которой получен штамм *Streptomyces sp. A-4 200str^r*.

Численность *Streptomyces sp. A-4 200str^r* в ризосфере нестерильных растений на первых этапах эксперимента (шестые сутки) составляла $4,4 \times 10^6$ КОЕ/г (рисунок 4), что сопоставимо с численностью *Streptomyces sp. A-4* в этот период в стерильных условиях. Однако к четырнадцатым суткам количество актиномицетных зачатков в прикорневой зоне существенно снизилось. К окончанию эксперимента (двадцать седьмые сутки) вновь наблюдали некоторое повышение численности *Streptomyces sp. A-4 200str^r* (до $3,0 \times 10^5$ КОЕ/г), хотя величина этого показателя оставалась на более низком уровне по сравнению с таковым для *Streptomyces sp. A-4* в стерильных условиях ($5,5 \times 10^7$ КОЕ/г). Более низкий уровень численности стрептомицета в ризосфере растений, выращенных в нестерильных условиях по сравнению со

стерильными обусловлен, по всей видимости, конкуренцией со стороны аборигенной микробиоты.

В ризосфере четырехнедельных проростков овса, выращенных в нестерильных условиях, уровень численности *Streptomyces sp. A-4* 200str^r был сопоставим с таковым в ризосфере озимой ржи и составил $2,2 \times 10^5$ КОЕ/г. Таким образом, доказана способность изучаемого штамма выживать в жестких условиях ризосферы.

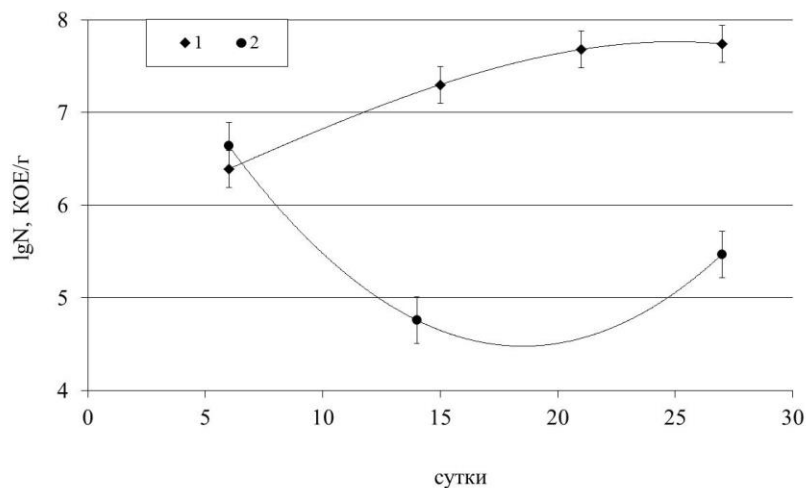


Рисунок 4 – Динамика численности *Streptomyces sp. A-4* и маркированного *Streptomyces sp. A-4* 200str^r в ризосфере озимой ржи Вятка 2 соответственно в стерильной (1) и нестерильной (2) почве

Учитывая собственные результаты, а также данные других авторов [31], можно рекомендовать использование представителей клады *S. violaceusniger* [28, 29] близких по нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК к видам *S. castelarensis* и *S. mordarskii*, в качестве основы новых биопрепаратов для стимуляции роста и защиты растений.

Выводы

На основании изучения культурально-морфологических признаков и анализа фрагмента гена 16S рРНК ризосферный изолят А-4 отнесен к роду *Streptomyces* (клада *S. violaceusniger*).

Streptomyces sp. A-4 проявлял основные свойства PGPR: способность подавлять развитие фитопатогенов, продуцировать ауксины (до 18 мкг/мл), стимулировать рост (увеличение значений высоты побега на 38–66 % и длины корней на 23–25 %) и колонизировать корни (уровень численности в нестерильной ризосферной почве 10^5 – 10^6 КОЕ/г) растений.

Антифунгальная активность изолята обусловлена сочетанием таких механизмов как ингибирование прорастания грибных спор, ограничение роста и лизис мицелия грибов, ограничение развития грибов благодаря летучим соединениям.

Литература

1. Феоктистова Н. В., Марданова А. М., Хадиева Г. Ф., Шарипова М. Р. Ризосферные бактерии // Ученые записки Казанского университета. Серия «Естественные науки». 2016. Т. 158. Кн. 2. С. 207–224.

2. Saharan B. S., Nehra V. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review // Life Sciences and Medicine Research. 2011. Vol. 2011. LSMR-21. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://pdfs.semanticscholar.org/4bd8/7791af3a7e8cb1cd165e22bd6b67b47c7aca.pdf> (дата обращения 28.07.2019).
3. Сиунова Т. В., Анохина Т. О., Сизова О. И., Соколов С. Л., Сазонова О. И., Кочетков В. В., Боронин А. М., Patil S. G., Chaudhari A. B. Штаммы PGPR *Pseudomonas*, перспективные для создания биопрепаратов для защиты и стимуляции роста растений // Биотехнология. 2017. Т. 33. № 2. С. 56–67. DOI: 10.21519/0234-2758-2017-33-2-56-67.
4. Гамзаева Р. С. Влияние биопрепаратов Флавобактерин и Мизорин на физиолого-биохимические показатели различных сортов ячменя // Известия Санкт-Петербургского аграрного государственного университета. 2015. № 40. С. 38–41.
5. Михайловская Н. А. Азоспириллы и их влияние на злаковые культуры (обзор литературы) // Почвоведение и агрохимия. 2015. № 2 (55). С. 167–181.
6. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. М.: Минсельхоз России, 2017. 938 с.
7. Sousa J. A. J., Olivares F. L. Plant growth promotion by streptomycetes: ecophysiology, mechanisms and applications // Chemical and Biological Technologies in Agriculture. 2016. Vol. 3:24. P. 1–12. DOI: 10.1186/s40538-016-0073-5.
8. Harir M., Bendif H., Bellahcene M., Fortas Z., Pogni R. *Streptomyces* secondary metabolites // Basic Biology and Applications of Actinobacteria. Chapter 6 // Ed. by Enany S. IntechOpen. 2018. P. 99–122. DOI: 10.5772/intechopen.7989.
9. Gangwar M., Rani S., Sharma N. Investigating endophytic actinomycetes diversity from rice for plant growth promoting and antifungal activity // International Journal of Advanced Life Sciences. 2012. Vol. 1. P. 10–21.
10. El-Safey E. M., Atta H. M., Al Jaralah K. M. Antibiotic production by *Streptomyces hygrosopicus*, M 121 isolated from Kingdom of Saudi Arabia // Life Science Journal. 2013. Vol. 10. No. 2. P. 1157–1163.
11. Rashad F. M., Hayam F. M., El-Zayat A. S. Isolation and characterization of multifunctional *Streptomyces* species with antimicrobial, nematicidal and phytohormone activities from marine environments in Egypt // Microbiological Research. 2015. Vol. 175. P. 34–47.
12. Singh M. G., Padmavathy S. Isolation, screening and characterization of endophytic PGPR actinomycetes presents commonly Inneem & Tulsi leaves – *in vitro* study (tomato) // International Journal of Recent Scientific Research. 2014. Vol. 5. Iss. 3. P. 574–579.
13. Anwar S., Ali B., Sajid I. Screening of rhizospheric actinomycetes for various *in-vitro* and *in-vivo* plant growth promoting (PGP) traits and for agroactive compounds // Frontiers in Microbiology. 2016. Vol. 7. P. 1–11. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01334.
14. Рябова О. В., Широких И. Г. Рост и антифунгальная активность стрептомицетов на фоне повышенной кислотности среды // Сельскохозяйственная биология. 2014. Т. 49. № 3. С. 100–107.
15. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 5 // ed. by Goodfellow M., Kämpfer P., Busse H.-J., Trujillo M. E., Suzuki K., Ludwig W., Whitman W. B. New York: Springer-Verlag, 2012. 2028 p. DOI: 10.1007/978-0-387-68233-4.
16. Гаузе Г. Ф., Преображенская Т. П., Свешникова М. А., Терехова Л. П., Максимова Т. С. Определитель актиномицетов. М.: Наука, 1983. 245 с.
17. Sanger F., Air G. M., Barrell B. G., Brown N. L., Coulson A. R., Fiddes C. A., Hutchison C. A., Slocombe P. M., Smith M. Nucleotide sequence of bacteriophage phi X174 DNA // Nature. 1977. Vol. 265 (5596). P. 687–695.
18. Basic local alignment search tool. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата обращения 28.07.2019).
19. MAFFT version 7. Multiple alignment program for amino acid or nucleotide sequences [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/> (дата обращения 28.07.2019).
20. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках. М.: Наука, 2004. 528 с.
21. Зенова Г. М., Оборотов Г. Ф., Норовсурэн Ж., Федотова А. В., Яковлева Л. В. Галофильные и алкалофильные актиномицеты засоленных почв // Почвоведение. 2007. № 11. С. 1347–1351.
22. Belimov A. A., Dietz K.-J. Effect of associative bacteria on element composition of barley seedlings grown in solution culture at toxic cadmium concentrations // Microbiological Research. 2000. Vol. 155. P. 113–121.
23. Методы общей бактериологии. Т. 2 // под ред. Герхарда Ф. М.: Мир, 1983. 469 с.
24. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии // под ред. Муромцева Г. С. М.: Колос, 1983. 296 с.
25. Цавкелова Е. А., Чердынцева Т. А., Нетрусов А. И. Образование ауксинов бактериями, ассоциированными с корнями орхидей // Микробиология. 2005. Т. 74. № 1. С. 55–62.

26. Мерзаева О. В., Широких И. Г. Образование ауксинов эндофитными актинобактериями озимой ржи // Прикладная биохимия и микробиология. 2010. Т. 46. № 1. С. 51–57.
27. Kim M., Oh H. S., Park S. C., Chun J. Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2014. Vol. 64. P. 346–351.
28. Goodfellow M., Kumar Y., Labeda D. P., Sembiring L. The *Streptomyces violaceusniger* clade: a home for streptomycetes with rugose ornamented spores // Antonie van Leeuwenhoek. 2007. Vol. 92. P. 173–199. DOI: 10.1007/s10482-007-9146-6.
29. Kumar Y., Goodfellow M. Five new members of the *Streptomyces violaceusniger* 16S rRNA gene clade: *Streptomyces castelarensis* sp. nov., comb. nov., *Streptomyces himastatinicus* sp. nov., *Streptomyces mordarskii* sp. nov., *Streptomyces rapamycinicus* sp. nov. and *Streptomyces ruanii* sp. nov. // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2008. Vol. 58. P. 1369–1378. DOI: 10.1099/ijs.0.65408-0.65408G.
30. Шешегова Т. К., Щеклеина Л. М. Некоторые приемы и средства защиты озимой ржи от спорыньи // Достижения науки и техники АПК. 2014. № 3. С. 47–50.
31. Ningthoujam D. S., Chanu S. B., Tamreihao K., Lynda R., Devi K. A., Jeeniita N. Plant growth promotion and biocontrol potential of a *Streptomyces* sp. strain N3-3b isolated from the rhizosphere of Chakhao, a black rice variety of Manipur, India // British Microbiology Research Journal. 2016. Vol. 16. No. 2. P. 1–11. DOI:10.9734/BMRJ/2016/27422.
32. Mojićević M., Grahovac J., Petković M., Vučković I., Dodić J., Dodić S., Vojnović S. Production of nigericin and niphimycin by soil isolate *Streptomyces* sp. MS1: anti-*Candida* bioassay guided response surface methodology for the optimized culture medium // FACTA UNIVERSITATIS. Series “Physics, Chemistry and Technology”. 2017. Vol. 15. No. 1. P. 1–16. DOI: 10.2298/FUPCT1701001M.
33. Noumavo P. A., Agbodjato N. A., Baba-Moussa F., Adjanohoun A., Baba-Moussa L. Plant growth promoting rhizobacteria: beneficial effects for healthy and sustainable agriculture // African Journal of Biotechnology. 2016. Vol. 15 (27). P. 1452–1463. DOI: 10.5897/AJB2016.15397.
34. Igarashi Y., Iwashita T., Fujita T. Clethramycin, a new inhibitor of pollen tube growth with antifungal activity from *Streptomyces hygroscopicus* TP-A0623II. Physico-chemical properties and structure determination // The J. of Antibiotics. 2003. Vol. 56. No. 8. P. 705–708.
35. Schöller C. E. G., Gürtler H., Pedersen R., Molin S., Wilkins K. Volatile metabolites from actinomycetes // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002. Vol. 50. No. 9. P. 2615–2621.
36. Cordovez V., Carrion V., Etalo D. W., Mumm R., Zhu H., Van Wezel G. P., Raaijmakers J. M. Diversity and functions of volatile organic compounds produced by *Streptomyces* from a disease-suppressive soil // Frontiers in Microbiology. 2015. Vol. 6. P. 1–13. DOI: 10.3389/fmicb.2015.01081.
37. Prapagdee B., Kuekulvong C., Mongkolsuk S. Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi // International Journal Biological Science. 2008. Vol. 4 (5). P. 330–337.
38. Haggag W. M., Abdallah E. G. Purification and characterization of chitinase produced by endophytic *Streptomyces hygroscopicus* against some phytopathogens // Journal of Microbiology Research 2012. Vol. 2 (5). P. 145–151.
39. Ahmad F., Husain F. M., Ahmad I. Rhizosphere and root colonization by bacterial inoculants and their monitoring methods: a critical area in PGPR research // Microbes and Microbial Technology: Agricultural and Environmental Applications. Chapter 14 // ed. by Ahmad I. F., Pichtel A. J. Springer Science+Business Media, LLC, 2011. P. 363–391. DOI: 10.1007/978-1-4419-7931-5_14.

References

1. Feoktistova N. V., Mardanova A. M., Hadiyeva G. F., Sharipova M. R. Rhizosphere bacteria // Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki (Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series). 2016. Vol. 158. No. 2. P. 207–224.
2. Saharan B. S., Nehra V. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review // Life Sciences and Medicine Research. 2011. Vol. 2011. LSMR-21. [Electronic resource]. Access point: <https://pdfs.semanticscholar.org/4bd8/7791af3a7e8cb1cd165e22bd6b67b47c7aca.pdf> (reference's date 28.07.2019).
3. Siunova T. V., Anokhina T. O., Sizova O. I., Sokolov S. L., Sazonova O. I., Kochetkov V. V., Boronin A. M., Patil S. G., Chaudhari A. B. PGPR *Pseudomonas* strains promising for the development of bioformulations for plant protection and stimulation // Biotekhnologiya (Biotechnology). 2017. Vol. 33. No. 2. P. 56–67. DOI: 10.21519/0234-2758-2017-33-2-56-67.
4. Gamzaeva R. C. Influence biopreparations "Flavobakterin" and "Mizorin" on physiological and biochemical indicators of various varieties of barley // Izvestiya Saint-Petersburg State Agrarian University 2015. No. 40. P. 38–41.

5. Mikhailovskaya N. A. *Azospirillum* spp. and their influence on grain crop (review) // Pochvovedenie i agrokhimiya. 2015. No. 2 (55). P. 167–181.
6. State catalogue of pesticides and agrochemicals approved for use at the Russian Federation. Moscow: Ministry of Agriculture of Russia, 2017. 938 p.
7. Sousa J. A. J., Olivares F. L. Plant growth promotion by streptomycetes: ecophysiology, mechanisms and applications // Chemical and Biological Technologies in Agriculture. 2016. Vol. 3:24. P. 1–12. DOI: 10.1186/s40538-016-0073-5.
8. Harir M., Bendif H., Bellahcene M., Fortas Z., Pogni R. *Streptomyces* secondary metabolites // Basic Biology and Applications of Actinobacteria. Chapter 6 // ed. by S. Enany. Intech Open, 2018. P. 99–122. DOI: 10.5772/intechopen.7989.
9. Gangwar M., Rani S., Sharma N. Investigating endophytic actinomycetes diversity from rice for plant growth promoting and antifungal activity // International Journal of Advanced Life Sciences. 2012. Vol. 1. P. 10–21.
10. El-Safey E. M., Atta H. M., Al Jaralah K. M. Antibiotic production by *Streptomyces hygroscopicus*, M 121 isolated from Kingdom of Saudi Arabia // Life Science Journal. 2013. Vol. 10. No. 2. P. 1157–1163.
11. Rashad F. M., Hayam F. M., El-Zayat A. S. Isolation and characterization of multifunctional *Streptomyces* species with antimicrobial, nematicidal and phytohormone activities from marine environments in Egypt // Microbiological Research. 2015. Vol. 175. P. 34–47.
12. Singh M. G., Padmavathy S. Isolation, screening and characterization of endophytic PGPR actinomycetes presents commonly Inneem & Tulsi leaves – *in vitro* study (tomato) // International Journal of Recent Scientific Research. 2014. Vol. 5. Iss. 3. P. 574–579.
13. Anwar S., Ali B., Sajid I. Screening of rhizospheric actinomycetes for various *in-vitro* and *in-vivo* plant growth promoting (PGP) traits and for agroactive compounds // Frontiers in Microbiology. 2016. Vol. 7. P. 1–11. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01334.
14. Ryabova O. V., Shirokikh I. G. Growth and antifungal activity of streptomycetes influenced by acidic conditions // Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya (Agricultural Biology). 2014. Vol. 49. No. 3. P. 100–107.
15. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 5 // Ed. by Goodfellow M., Kämpfer P., Busse H.-J., Trujillo M. E., Suzuki K., Ludwig W., Whitman W. B. New York: Springer-Verlag, 2012. 2028 p. DOI: 10.1007/978-0-387-68233-4.
16. Gauze G. F., Preobrazhenskaya T. P., Sveshnikova M. A., Terekhova L. P., Maksimova T. S. Manual of Actinomycetes. Moscow: Nauka, 1983. 245 p.
17. Sanger F., Air G. M., Barrell B. G., Brown N. L., Coulson A. R., Fiddes C.A., Hutchison C. A., Slocombe P. M., Smith M. Nucleotide sequence of bacteriophage phi X174 DNA // Nature. 1977. Vol. 265 (5596). P. 687–695.
18. Basic local alignment search tool. [Electronic resource]. Access point: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> (reference's date 28.07.2019).
19. MAFFT version 7. Multiple alignment program for amino acid or nucleotide sequences [Electronic resource]. Access point: <https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/> (reference's date 28.07.2019).
20. Egorov N. S. Fundamentals of the doctrine of antibiotics. Moscow: Nauka, 2004. 528 p.
21. Zenova G. M., Oborotov G. F., Norovsuren Zh., Fedotova A.V., Yakovleva L. V. Halophilic and alcaliphilic actinomycetes in salt-affected soils // Eurasian Soil Science. 2007. No. 11. P. 1347–1351.
22. Belimov A. A., Dietz K.-J. Effect of associative bacteria on element composition of barley seedlings grown in solution culture at toxic cadmium concentrations // Microbiological Research. 2000. Vol. 155. P. 113–121.
23. Methods of general bacteriology. Vol. 2 // ed. by Gerhard F. Moscow: Mir, 1983. 469 p.
24. Segi Y. Methods of soil microbiology // ed. by Muromtsev G. S. Moscow: Kolos, 1983. 296 p.
25. Tsavkelova E. A., Cherdyntseva T. A., Netrusov A. I. Auxin production by bacteria associated with orchid roots // Microbiology. 2005. Vol. 74. No. 1. P. 55–62.
26. Merzaeva O. V., Shirokikh I. G. The production of auxins by the endophytic bacteria of winter rye // Applied Biochemistry and Microbiology. 2010. Vol. 46. No. 1. P. 51–57.
27. Kim M., Oh H. S., Park S. C., Chun J. Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2014. Vol. 64. P. 346–351.
28. Goodfellow M., Kumar Y., Labeda D. P., Sembiring L. The *Streptomyces violaceusniger* clade: a home for streptomycetes with rugose ornamented spores // Antonie van Leeuwenhoek. 2007. Vol. 92. P. 173–199. DOI: 10.1007/s10482-007-9146-6.
29. Kumar Y., Goodfellow M. Five new members of the *Streptomyces violaceusniger* 16S rRNA gene clade: *Streptomyces castelarensis* sp. nov., comb. nov., *Streptomyces himastatinicus* sp. nov., *Streptomyces mordarskii* sp. nov., *Streptomyces rapamycinicus* sp. nov. and *Streptomyces ruanii* sp. nov. //

- International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2008. Vol. 58. P. 1369–1378. DOI: 10.1099/ijs.0.65408-0.65408 G.
30. Sheshegova T.K., Shchekleina L.M. Some ways and means of ergot protection of winter rye// Dostizheniya nauki i tekhniki APK (Achievements of Science and Technology of AIC). 2014. No. 3. P. 47–50.
 31. Ningthoujam D. S., Chanu S. B., Tamreihao K., Lynda R., Devi K. A., Jeeniita N. Plant growth promotion and biocontrol potential of a *Streptomyces* sp. strain N3-3b isolated from the rhizosphere of Chakhao, a black rice variety of Manipur, India // British Microbiology Research Journal. 2016. Vol. 16. No. 2. P. 1–11. DOI:10.9734/BMRJ/2016/27422.
 32. Mojićević M., Grahovac J., Petković M., Vučković I., Dodić J., Dodić S., Vojnović S. Production of nigericin and niphimycin by soil isolate *Streptomyces* sp. MS1: anti-Candida bioassay guided response surface methodology for the optimized culture medium // Facta Universitatis Series “Physics, Chemistry and Technology”. 2017. Vol. 15. No. 1. P. 1–16. DOI: 10.2298/FUPCT1701001M.
 33. Noumavo P. A., Agbodjato N. A., Baba-Moussa F., Adjanohoun A., Baba-Moussa L. Plant growth promoting rhizobacteria: beneficial effects for healthy and sustainable agriculture // African Journal of Biotechnology. 2016. Vol. 15 (27). P. 1452–1463. DOI: 10.5897/AJB2016.15397.
 34. Igarashi Y., Iwashita T., Fujita T. Clethramycin, a new inhibitor of pollen tube growth with antifungal activity from *Streptomyces hygroscopicus* TP-A0623II. Physico-chemical properties and structure determination // The J. of Antibiotics. 2003. Vol. 56. No. 8. P. 705–708.
 35. Schöller C. E. G., Gürtler H., Pedersen R., Molin S., Wilkins K. Volatile metabolites from actinomycetes // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002. Vol. 50. No. 9. P. 2615–2621.
 36. Cordovez V., Carrion V., Etalo D. W., Mumm R., Zhu H., Van Wezel G. P., Raaijmakers J. M. Diversity and functions of volatile organic compounds produced by *Streptomyces* from a disease-suppressive soil // Frontiers in Microbiology. 2015. Vol. 6. P.1–13. DOI: 10.3389/fmicb.2015.01081.
 37. Prapagdee B., Kuekulvong C., Mongkolsuk S. Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi // International Journal Biological Science. 2008. Vol. 4(5). P. 330–337.
 38. Haggag W. M., Abdallah E. G. Purification and characterization of chitinase produced by endophytic *Streptomyces hygroscopicus* against some phytopathogens // Journal of Microbiology Research. 2012. Vol. 2(5). P. 145–151.
 39. Ahmad F., Husain F. M., Ahmad I. Rhizosphere and root colonization by bacterial inoculants and their monitoring methods: a critical area in PGPR research // Microbes and Microbial Technology: Agricultural and Environmental Applications. Chapter 14 // ed. by Ahmad I. F., Pichtel A. J. Springer Science+Business Media, LLC, 2011. P. 363–391. DOI: 10.1007/978-1-4419-7931-5_14.

UDC 579(873.71+64)

Ryabova O. V.

PGPR-PROPERTIES OF THE RHIZOSPHERE ISOLATE *STREPTOMYCES* SP. A-4

Summary. *Streptomyces* – are bacteria able to synthesize wide variety of different bioactive compounds. Accordingly, they can be rated as a source of new bio-based products for use in a plant-growing. The goal of the research is to study variety and mechanisms of the antagonistic action, phyto regulatory and the colonizing ability of a rhizospheric isolate *Streptomyces* sp. A-4. All studies are carried out in a laboratory setting. The affiliation of a strain with the *Streptomyces* genus (clade *Streptomyces violaceusniger*) is based on the cultural-morphological characteristics and results of the piece of the 16S rRNA gene sequencing. The studied strain inhibited growth (14–50 mm area) of the plant pathogenic fungi *Fusarium* sp., *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. avenaceum*, *F. sporotrichiella*, *Bipolaris sorokiniana*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria* sp. and bacteria *Streptomyces scabiei*. In addition, it did not inhibit bacteria of *Pseudomonas*, *Azospirillum* and *Rhizobium* genera, that are representatives of normal rhizospheric flora. The suppression of pathogenic fungi by the *Streptomyces* is caused by a combination of fungistatic (an inhibition of micromycetes' conidial germination, a limitation of mycelial growth partly owing to the production of fungal volatile metabolites) and fungicidal (lysis of a floccus) activities. The ability of the studied isolate to synthesize auxins (till 18 mcg/ml) and initiate the growth of plants was established. In particular, the increase in shoot length (38–66 %) and the roots elongation (23–25 %) of germs under the influence of the *Streptomyces* metabolites were

demonstrated using wheat as an example. In a model experiments the Streptomyces colonized roots of plants. Its population on plant roots in non-sterile soil did not go below the level of 10⁵ CFU/g of roots, it indicates quite high competitive properties of the isolate. The combination of reported Streptomyces sp. A-4 characteristics allows us to place it into the plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) group.

Keywords: *streptomycetes, antagonism, phytopathogens, biologic drugs, auxins, colonization of plant roots.*

Рябова Ольга Вениаминовна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, 2; e-mail: olga06.03@mail.ru.

Ryabova Olga Veniaminovna, Cand. Sci. (Biol.), Assoc. Prof., Department of microbiology, Perm State Pharmaceutical Academy; 2, Polevaya str., Perm, 614990, Russia; e-mail: olga06.03@mail.ru.

Дата поступления в редакцию – 14.09.2019.

Дата принятия к печати – 24.09.2019.