

Биологические особенности различных штаммов стрептомицетов как потенциальных агентов биоконтроля фитопатогенов

© 2024. А. В. Бакулина¹✉, Е. В. Товстик¹, Е. А. Бессолицына¹,
Н. В. Новоселова¹, Н. С. Жемчужина²

¹ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», г. Киров, Российская Федерация

²ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии», р. п. Большие Вяземы, Российская Федерация

В статье представлены результаты изучения биологических особенностей (антагонистическая и целлюлазная активность, устойчивость к антибиотикам, продукция индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), наличие генов поликетид-синтаз и целлюлаз) 13 бактериальных штаммов рода *Streptomyces*. В ходе скрининга выявлен штамм *Streptomyces* sp. 2K10 с высоким уровнем антифунгальной активности в отношении патогена *Fusarium proliferatum*, три штамма (RPLN23, 1N8, 3N2) – антагониста возбудителя септориоза пшеницы (*Parastagonospora nodorum*). В качестве агента биоконтроля фитопатогенов наиболее перспективным среди изученных стрептомицетов является штамм RPLN23, характеризующийся антифунгальной активностью (диаметр зон ингибирования 24–30 мм), наличием генов PKSII (229 п.н.) и способностью синтезировать ИУК. Для биоконтроля бактериальных и грибных патогенов предлагается использовать штамм *Streptomyces* sp. 3N3. Также в работе выявлены штаммы, способные к эффективной деструкции карбоксиметилцеллюлозы (PILN12, 2K9 и 3K9), и штаммы, имеющие в геноме гены, кодирующие целлюлазы семейства GH74 (RSFN5, RPLN12, 3N2). Ряд стрептомицетов (RSFN5, RPLN5), не проявивших антагонизма к исследуемым культурам грибов и бактерий, в то же время интересны наличием генов PKSII и GH74. Большинство исследованных в работе стрептомицетов чувствительны к антибиотикам различных групп: аминогликозидам, тетрациклину, полипептидам, хлорамфениколам, ансамицинам и макролидам, но не β-лактамам. Полученные данные вносят вклад в раскрытие потенциала стрептомицетов для их практического использования.

Ключевые слова: *Streptomyces*, антагонизм к фитопатогенам, биосинтетический потенциал, антибиотики, поликетид-синтазы, целлюлазы, продукция ИУК

Благодарности: работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Государственного задания ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого» (тема № FNWE-2022-0001).

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в оценку данной статьи.

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Бакулина А. В., Товстик Е. В., Бессолицына Е. А., Новоселова Н. В., Жемчужина Н. С. Биологические особенности различных штаммов стрептомицетов как потенциальных агентов биоконтроля фитопатогенов. Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2024;25(6):1038–1049. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2024.25.6.1038-1049>

Поступила: 28.07.2024

Принята к публикации: 26.11.2024

Опубликована онлайн: 25.12.2024

Biological features of various streptomyces strains as potential agents of phytopathogens biocontrol

© 2024. Anna V. Bakulina¹✉, Eugeniya V. Tovstik¹, Ekaterina A. Bessolitsyna¹,
Nina V. Novoselova¹, Natalya S. Zhemchuzhina²

¹Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, Kirov, Russian Federation

²All-Russian Research Institute of Phytopathology, Bolshye Vyazemy, Russian Federation

The article presents the results of studying the biological characteristics (antagonistic and cellulase activity, antibiotic resistance, indolyl-3-acetic acid (IAA) production, the presence of polyketide synthase and cellulase genes) of 13 bacterial strains of the genus *Streptomyces*. The screening revealed a strain of *Streptomyces* sp. 2K10 with a high level of antifungal activity against the pathogen *Fusarium proliferatum*; three strains (RPLN23, 1N8, 3N2) – antagonist of the causative agent of wheat septoria nodorum blotch (*Parastagonospora nodorum*). As a biocontrol agent of phytopathogens, the most promising strain among the studied streptomycetes is RPLN23, characterized by antifungal activity (diameter of inhibition zones 24–30 mm), the presence of PKS II genes (229 bp) and the ability to synthesize IAA. For biocontrol of bacterial and fungal pathogens, it is proposed to use the strain *Streptomyces* sp. 3N3. The work also revealed strains capable of effective destruction of carboxymethylcellulose (RPLN12, 2K9 and 3K9), and strains with genes encoding cellulases of the GH74 family (RSFN5, RPLN12, 3N2) in the genome. A number of streptomycetes (RSFN5, RPLN5), which did not show antagonism to the studied cultures of fungi and bacteria, are at the same time interesting for the presence of the PKS II and GH74 genes. Most of the streptomycetes studied in the work are sensitive to antibiotics of various groups: aminoglycosides, tetracycline, polypeptides, chloramphenicols,

ansamycins and macrolides, but not β -lactams. The obtained data contribute to the disclosure of the potential of streptomycetes for their practical use.

Keywords: *Streptomyces*, antagonism to phytopathogens, biosynthetic potential, antibiotics, polyketide synthases, cellulases, IAA products

Acknowledgments: the research was carried out under the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the state assignment of the Federal Agricultural Research Center of the North-East named N. V. Rudnitsky (theme no. FNWE-2022-0001).

The authors thank the reviewers for their comments to improve the manuscript for the publication.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citations: Bakulina A. V., Tovstik E. V., Bessolitsyna E. A., Novoselova N. V., Zhemchuzhina N. S. Biological features of various streptomycetes strains as potential agents of phytopathogens biocontrol. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka = Agricultural Science Euro-North-East*. 2024;25(6):1038–1049. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2024.25.6.1038-1049>

Received: 28.07.2024

Accepted for publication: 26.11.2024

Published online: 25.12.2024

Стратегии растениеводства, основанные на взаимодействии растений и микроорганизмов, активно развиваются и считаются наиболее экологически безопасным способом повышения урожайности и качества сельскохозяйственной продукции [1, 2]. Среди разнообразия микроорганизмов, обладающих ценными свойствами с точки зрения ассоциативных взаимодействий с растениями, значительный интерес вызывают мицелиальные бактерии рода *Streptomyces*, способные стимулировать рост растений и осуществлять биоконтроль фитопатогенов [3].

Преимуществом стрептомицетов является высокая метаболическая активность. В базе данных StreptomeDB имеется информация о 6500 метаболитах, продуцируемых около 3300 штаммами стрептомицетов [4]. Представители данного рода синтезируют более чем две трети клинически полезных антибиотиков природного происхождения (например, неомицин и хлорамфеникол) [5]. Однако поиск новых вторичных метаболитов и кластеров генов, ответственных за их биосинтез, продолжается и является основной целью проводимых в настоящее время исследований этой группы микроорганизмов [6].

Стрептомицеты характеризуются разнообразием механизмов, обеспечивающих их антагонизм к фитопатогенам: конкуренция за питательные вещества, синтез антибиотических веществ, литических ферментов. Также большинство стрептомицетов относятся к RGPB (plant growth promotion bacteria) и способны стимулировать рост растений, обеспечивая их элементами минерального питания и продуцируя регуляторы роста [3, 7]. Установлено, что большинство стрептомицетов эффективно колонизируют ризосферу и ризоплану растений, а некоторые из них являются эндофитами [8].

В качестве биопрепаратов для защиты растений используют как непосредственно бактериальные культуры стрептомицетов (*S. lydicus*

WYEC108, *S. violaceusniger* YCED9, *S. griseoviridis* K61, *S. saraceticus* KH400), так и их очищенные метаболиты (например, полиоксин D, стрептомицин, касугамицин). В первом случае биопрепаратом обрабатывают почву, во втором – распыляют на листья растений в качестве фунги- и/или бактерицида [2]. К настоящему времени представители десяти видов рода *Streptomyces* зарегистрированы в качестве коммерческих препаратов, а несколько других находятся на ранних стадиях разработки [3, 9]. Таким образом, доля зарегистрированных биопрепаратов, полученных на основе *Streptomyces* spp. в сравнении с их биосинтетическим потенциалом и видовым разнообразием, очень мала, хотя биоконтроль с помощью RGPB является экологически обоснованным подходом [10].

Цель исследований – изучение отдельных физиолого-биохимических и генотипических характеристик различных штаммов рода *Streptomyces* в связи с оценкой их потенциала как агентов биоконтроля фитопатогенов.

Научная новизна – получены новые данные относительно агробиотехнологически ценных штаммов рода *Streptomyces*, которые перспективны для дальнейшего изучения как в лабораторных, так и полевых условиях с целью их практического применения в сельском хозяйстве.

Материал и методы. Объектом исследования служили 13 бактериальных штаммов рода *Streptomyces*, выделенных ранее из почвы (*Streptomyces* spp. 3N2, 3N3, 1N8, 3K9, 2K10, 1K6, 2K9, 2K1), ризосферы (*Streptomyces* spp. RSFN5, RSFK2) и ризопланы (*Streptomyces* spp. RPLN5, RPLN12, RPLN23) растений на территории Кировской области. Родовая принадлежность исследуемых штаммов установлена на основании изучения культурально-морфологических признаков согласно [11].

Исследование физиолого-биохимических свойств стрептомицетов включало определение

антагонистической и целлюлозолитической активности, устойчивости к антибиотикам и способности к синтезу индолил-3-уксусной кислоты (ИУК).

Антагонистическую активность штаммов определяли методом агаровых блоков [12]. В качестве тест-культур использовали природные изоляты фитопатогенных грибов (*Fusarium culmorum* T-8, *F. proliferatum* AC, *Parastagonospora nodorum* TR-1 и TC) и бактерий (*Erwinia herbicola* ≈ *Pantoea agglomerans*, *Agrobacterium tumefaciens* CT-1), а также штамм *Clavibacter michiganensis* CMM 1519, полученный из Государственной коллекции фитопатогенных микроорганизмов ФГБНУ ВНИИФ (Большие Вяземы, Московская область). Зоны ингибирования более 20 мм, 10–20 мм и менее 10 мм рассматривали как сильное, среднее и слабое ингибирование соответственно. Тест проводили в трех повторностях.

Для оценки потенциальных экологических рисков, обусловленных антибиотикорезистентностью, у стрептомицетов определяли чувствительность к антибиотикам диско-диффузионным методом. Использовали диски (ДИ-ПЛС-50-01, НИЦФ, Санкт-Петербург) из разных групп и классов антибиотиков: β-лактамы (цефазолин 30 мкг (ЦЗ), амоксициллин 20 мкг (АКЦ)), макролиды (эритромицин 15 мкг (ЭРИ)), аминогликозиды (канамицин 30 мкг (КАН)), хлорамфеникол (левомицетин 30 мкг (ЛЕВ)), тетрациклины (тетрациклин 30 мкг (ТЕТ)), ансамицины (рифампицин 5 мкг (РИФ)) и полипептиды (бацитрацин 10 Ед (БЦ)).

Целлюлозолитическую активность штаммов исследовали на плотной питательной среде Гетчинсона (K_2HPO_4 – 1; NaCl – 0,1; $NaNO_3$ – 2,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,3; $CaCl_2$ – 0,1; $FeCl_2$ – 0,01; карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) – 10; агар – 20 г/л; pH = 7,2–7,3). О наличии целлюлозолитической активности судили по появлению зоны просветления около тестируемого изолята после окраски среды 0,1%-ым водным раствором Конго красного [13]. Для выявления наиболее активных штаммов рассчитывали отношение величины зоны гидролиза к ширине роста культуры стрептомицета [14].

Способность к продукции индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) определяли по качественной реакции водного раствора экзометаболитов с реактивом Сальковского (2 мл 0,5 М раствора $FeCl_3$, 100 мл 37%-й $HClO_4$) [15]. Изменение окраски от бледно-розового до насыщенно-малинового свидетельствовало о

продукции ИУК и ее производных исследуемыми изолятами. Культивирование штаммов осуществляли на среде Чапека (K_2HPO_4 – 1; KCl – 0,5; $NaNO_3$ – 2,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,5; $FeSO_4$ – 0,01; сахароза – 30 г/л) с триптофаном (0,2 г/л) в течение 5 сут. Культуральную жидкость, которая содержала комплекс экзометаболитов, отделяли от биомассы центрифугированием и подвергали анализу.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы *Microsoft Excel*. Различия определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), средние значения сравнивали с помощью критерия наименьших значимых различий (LSD) на 5%-ном уровне значимости. Повторность опытов трехкратная.

Помимо изучения физиолого-биохимических свойств, проводили молекулярно-генетический анализ исследуемых стрептомицетов: методом ПЦР определяли наличие генов поликетид-синтаз типа II (PKSII) и целлюлаз семейства GH74 как маркеров, связанных с антагонистической активностью бактерий. Для выявления указанных генов были разработаны следующие пары праймеров, которые синтезировали в НПК «Синтол» (г. Москва) (табл. 1).

Суммарные нуклеиновые кислоты выделяли из культур, предварительно выращенных в жидкой среде Гаузе 1 (крахмал – 20; K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,5; KNO_3 – 1,0; NaCl – 0,5; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,01; агар-агар – 20 г/л; pH – 7,2–7,4), согласно методике [16]. Реакционная смесь (10 мкл) содержала 1 нг ДНК, 200 мкМ dNTPs, 10 пМ каждого праймера, 1×PCR-буфер и 3,75 ед. Taq-полимеразы («СибЭнзим», Россия). ПЦР проводили на программируемом термостате ТП4-ПЦР-01 «Терцик» («НПО ДНК-Технология», Россия) при следующем режиме: 1 цикл 95 °C – 5 мин, 35 циклов 95 °C – 30 сек, T отжига °C (согласно табл. 1) – 30 сек, 72 °C – 1 мин 30 сек, 1 цикл 72 °C – 8 мин. Продукты реакции разделяли методом электрофореза в полиакриламидном (ПААГ) и агарозном гелях, которые окрашивали бромистым этидием [16]. Для анализа ПЦР-продуктов, полученных при амплификации с праймерами PKSII F1/PKSII R1 и GH74 F1/GH74 R1, использовали 2%-й агарозный гель, при использовании пар праймеров PKSII F2/PKSII R2 и GH74 F2/GH74 R2 – 7% ПААГ. Для визуализации результатов электрофореза использовали трансиллюминатор «Квант-312» (Helicon, Россия). Определение размера амплифицированных фрагментов осуществляли с помощью ПО Gel Analyzer.23.1.1.

Таблица 1 – Характеристики праймеров для ПЦР-анализа стрептомицетов /
Table 1 – Characteristics of primers to PCR analysis of streptomycetes

Мишени / Targets	Последовательности праймеров, 5'-3' / Sequences of primers, 5'-3'	Т отжига, °C / Annealing temperature, °C	ПЦР-продукт, п.н. / PCR product, bp.
PKS type II	PKSIIF1: GC(C\G)TGCTTCGA(C\T)GC(C\G)ATC' PKSIIR1: CAT(C\G)GA(C\T)TTGAT(G\C)GAGCTGA	67	414
	PKSIIF2: CCACATGAC(C\G)GG(A/T/C)CTGCG PKSIIR2: GTCGTTCTGC(T/C)(T/G)GGTGCC	55	220
	PKSIIF3: ACCCGCAACGGCTTCGTCC PKSIIR3: CGACTTGATGGAGCTGACGG	57	115
Cellulases of GH74 family	GH74F1: GCTGGGACGACTGGAACCT GH74R1: GCCTGGATCCACCAGCCGA	55	890
	GH74F2: GTTCGGCTGGTGGATCCAG GH74R2: GTGGTACATCACGCCGATGTC	72	216

Результаты и их обсуждение. Бактерии рода *Streptomyces* и их метаболиты обладают значительным потенциалом для использования в качестве агентов биоконтроля различных грибковых и бактериальных фитопатогенов [10].

Для оценки биоконтрольных свойств исследуемых штаммов стрептомицетов изучали их способность проявлять антагонизм к тест-культурам грибов и бактерий (табл. 2).

Таблица 2 – Зоны ингибирования роста тест-культур грибов и бактерий исследуемыми стрептомицетами, мм /
Table 2 – Zones of inhibition of test cultures of fungi and bacteria by the studied streptomycetes strains, mm

Штамм / Strain	Тест-культуры фитопатогенов / Test cultures of phytopathogens						
	мицелиальные грибы / mycelial fungi				бактерии / bacteria		
	<i>F. culmorum</i> T-8	<i>F. proliferatum</i> AC	<i>P. nodorum</i> TR-1	<i>P. nodorum</i> TC	<i>E. herbicola</i>	<i>C. michiganensis</i> CMM 1519	<i>A. tumefaciens</i> CT-1
RSFK2	0	0	18±1 ^{ab}	0	0	29±3 ^b	0
RSFN5	0	0	0	0	0	–	–
RPLN5	0	0	0	0	0	–	–
RPLN12	0	0	21±2 ^{bc}	0	0	0	0
RPLN23	24±3 ^c	0	30±3 ^d	24±2 ^a	0	–	–
1K6	0	0	15±2 ^a	0	0	0	0
3K9	0	21±2 ^b	31±3 ^d	0	0	22±2 ^a	0
1N8	0	22±2 ^b	31±3 ^d	23±2 ^a	0	–	–
3N2	11±1 ^a	16±1 ^a	22±2 ^c	0	26±3	0	0
3N3	15±1 ^a	0	20±2 ^{bc}	0	0	39±3 ^c	0
2K1	20±2 ^b	22±2 ^b	0	0	0	0	0
2K9	0	0	29±3 ^d	25±2 ^a	0	–	–
2K10	0	45±3 ^c	22±2 ^c	0	0	26±3 ^{ab}	0

Примечание: «–» – нет данных; одинаковыми буквами в столбцах отмечены существенно не различающиеся ($p < 0,05$) значения / Note: «–» – No data; the same letters in the columns mark the values, which are not significantly different ($p < 0.05$)

Наибольшая антифунгальная активность выявлена у штаммов стрептомицетов RPLN23, 1N8, 3K9 и 3N2, которые ингибировали рост трех тест-культур фитопатогенных грибов как представителей рода *Fusarium*, (вызывающих гнили и увядания различных сельскохо-

зяйственных культур), так и возбудителя септориоза пшеницы (*P. nodorum*). Не проявили антагонизма к исследуемым грибам два штамма (*Streptomyces* spp. RSFN5 и RPLN5). Остальные стрептомицеты ингибировали рост 1-2 использованных в работе тест-культур грибов. Высокий

уровень антагонизма (диаметр зоны ингибирования 45 мм) в отношении патогена *F. proliferatum* AC был установлен для штамма *Streptomyces* sp. 2K10, в отношении гриба *P. nodorum* TR-1 (диаметр зон ингибирования ≥ 30 мм) – у штаммов RPLN23, 3K9 и 1N8.

Ранее было выявлено, что антагонистическим действием на *F. proliferatum* AC обладает штамм *Streptomyces* sp. 2K1 за счет продукции им летучих органических соединений, которые более чем в 2 раза снижают скорость радиального роста культуры *F. proliferatum* AC [17]. Согласно данным прямого антагонизма культур стрептомицетов 2K1 и 2K10 к патогену *F. proliferatum* AC, диаметр зоны ингибирования роста *F. proliferatum* штаммом 2K10 (45 ± 0 мм) в два раза превышает этот показатель, установленный для штамма 2K1 ($22,0 \pm 2,8$ мм).

Исследуемые штаммы практически не вызывали ингибирования роста грамотрицательных бактерий (*E. herbicola* и *A. tumefaciens*) (табл. 2). Только штамм 3N2 проявил антагонизм к бактерии *E. herbicola*, для патогенных штаммов которой сообщается о способности вызывать заболевания у различных растений [18]. В то же время для ряда штаммов (RSFK2, 3K9, 3N3, 2K10) установлен антагонизм в отношении грамположительной фитопатогенной бактерии *C. michiganensis* CMM 1519. Штамм *Streptomyces* sp. 3N3 характеризуется высоким уровнем антагонизма к фитопатогенной бактерии *C. michiganensis* CMM 1519 (диаметр зоны ингибирования 39 мм) в сочетании с антифунгальной активностью к *F. culmorum* T-8 и *P. nodorum* TR-1 (диаметр зон ингибирования 15 и 20 мм соответственно).

Одним из механизмов, обуславливающих антагонизм стрептомицетов к другим бактериям, является синтез антибиотиков, которые в естественных микробных сообществах служат средством сигналинга, коммуникации и конкурентной защиты [19, 20]. Известно, что продукция метаболитов в значительной степени зависит от условий среды, более того стрептомицеты часто прекращают синтез вторичных метаболитов *in vitro* [21]. В связи с этим преимущество для скрининга ценных штаммов приобретают молекулярно-генетические методы анализа [22]. Гены поликетид-синтаз (PKS) связаны с синтезом антибиотиков, проявляющих антибактериальную, противогрибковую, противовирусную активность.

С целью обнаружения среди исследуемых штаммов *Streptomyces* spp. продуцентов антибиотиков проводили молекулярно-генети-

ческий анализ, включающий выявление в геноме генов PKS. Ввиду высокого полиморфизма нуклеотидных последовательностей генов PKS использовали три пары праймеров (табл. 1), разработанных к консервативным участкам кетосинтазных доменов ферментативных комплексов PKS типа II. В результате локус-специфичной ПЦР с парой праймеров PKSIF1/PKSIR1 в геномах штаммов *Streptomyces* spp. 2K1, 2K9, 2K10, 3N2, RSFN5 (рис. 1, А) и RPLN12 (рис. 1, В) обнаружен целевой ампликон (414 п.н.), что соответствует предварительным расчетам.

У стрептомицета RSFN5 также выявлен ПЦР-продукт размером 524 п.н. (рис. 1, А), свидетельствующий, вероятно, о наличии дополнительного фрагмента гена PKSII.

В ходе ПЦР с праймерами PKSIF2/PKSIR2 у двух штаммов (2K10, RPLN23) обнаружены ампликоны (229 п.н.), близкие по размеру к целевому (220 п.н.) (рис. 2).

У штамма RPLN5 также выявлен ампликон 291 п.н. При использовании праймеров PKSIF3/PKSIR3 ни у одного из штаммов не было получено ПЦР-продуктов.

Согласно данным генетических исследований, для стрептомицетов характерна высокая степень вариабельности кластеров генов, связанных с синтезом вторичных метаболитов, которая может быть обусловлена дубликацией и горизонтальным переносом генов [21]. Выявление у исследованных штаммов стрептомицетов генов PKS позволяет рассматривать их в качестве потенциальных продуцентов ценных метаболитов. Представляется целесообразным продолжить исследования, направленные на изучение биосинтетических генных кластеров данных штаммов.

Значительный интерес для дальнейшего изучения представляет штамм *Streptomyces* sp. 2K10, у которого высокий уровень антагонистической активности в отношении *F. proliferatum* AC и *C. michiganensis* сочетается с наличием в геноме двух фрагментов гена PKSII (229 и 414 п.н.).

Производство антибиотиков различных химических классов имеет важнейшее значение для ингибирующей активности микробов-антагонистов фитопатогенов [23]. Но в то же время микроорганизмы, и стрептомицеты в частности, обладают устойчивостью к антибиотикам, которая в настоящее время рассматривается в качестве фактора формирования и функционирования природных микробных популяций [24].

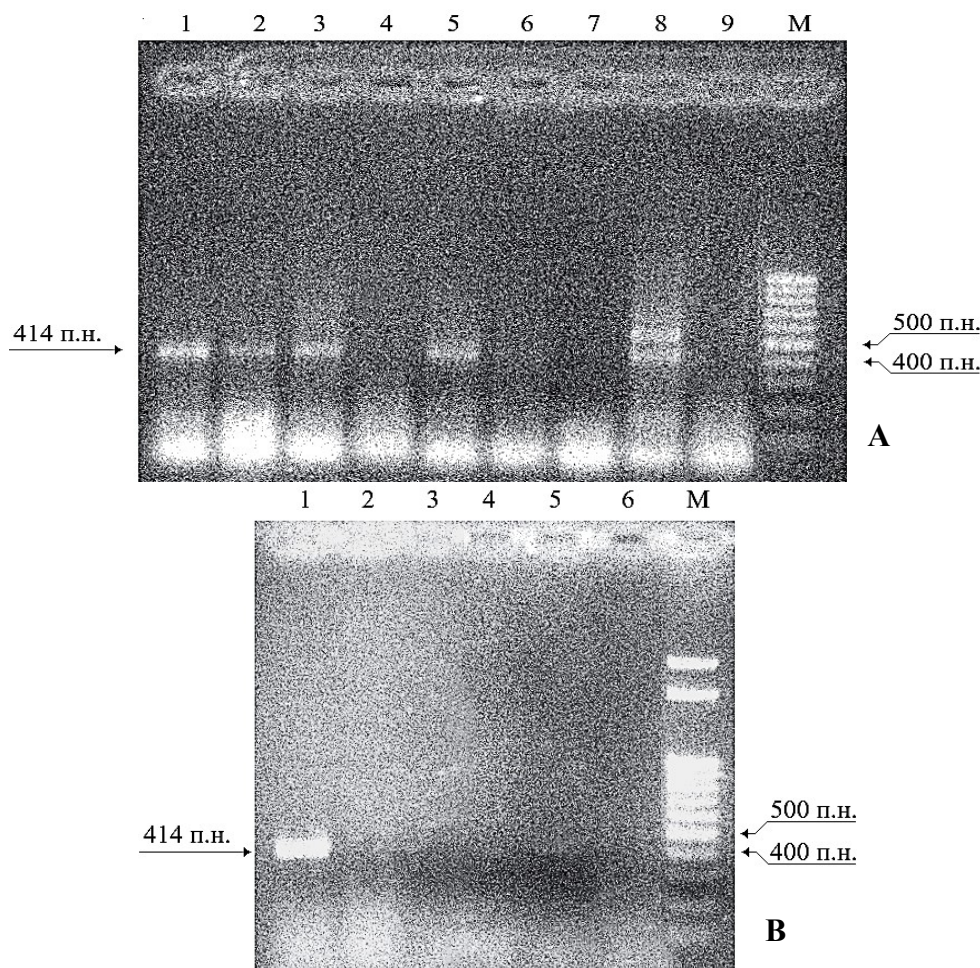


Рис. 1. Электрофореграммы продуктов амплификации последовательностей гена PKSII стрептомицетов при использовании праймеров PKSIIIF1/PKSIIIR1. Дорожки М – маркеры молекулярной массы. Номера дорожек соответствуют ДНК штаммов – А: 1 – 2K1, 2 – 2K9, 3 – 2K10, 4 – 3K9, 5 – 3N2, 6 – 3N3, 7 – RSFK2, 8 – RSFN5, 9 – отрицательный контроль (вода); В: 1 – RPLN12, 2 – RPLN5, 3 – RPLN23, 4 – 1K6, 5 – 1N8, 6 – отрицательный контроль (вода) /

Fig. 1. Electrophoregrams of streptomycetes PKSII gene sequence amplification products using PKSIIIF1/ PKSIIIR1 primers. The M tracks are markers of molecular weight. The number of tracks correspond to the DNA of the strains – A: 1 – 2K1, 2 – 2K9, 3 – 2K10, 4 – 3K9, 5 – 3N2, 6 – 3N3, 7 – RSFK2, 8 – RSFN5, 9 – negative control (water); B: 1 – RPLN12, 2 – RPLN5, 3 – RPLN23, 4 – 1K6, 5 – 1N8, 6 – negative control (water)

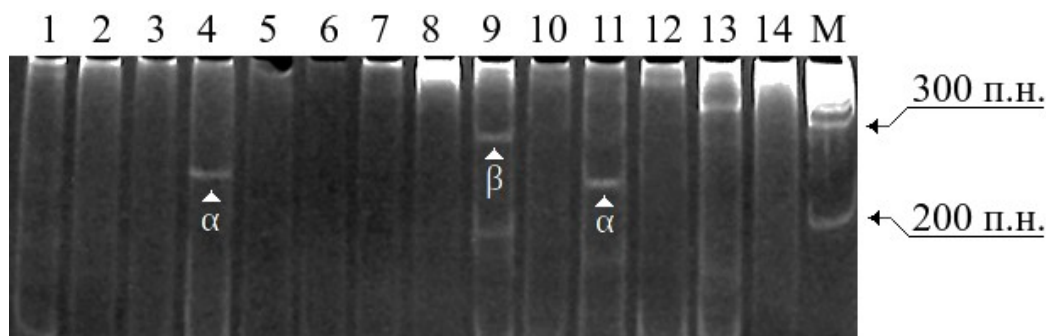


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов амплификации последовательностей гена PKS типа II стрептомицетов при использовании пары праймеров PKSIIIF2/PKSIIIR2. Номера дорожек соответствуют ДНК штаммов: 1 – 1K6; 2 – 2K1; 3 – 2K9; 4 – 2K10; 5 – 3K9; 6 – 1N8; 7 – 3N2; 8 – 3N3; 9 – RPLN5; 10 – RPLN12; 11 – RPLN23; 12 – RSFK2; 13 – RSFN5. Дорожка 14 – отрицательный контроль (вода); дорожка М – маркеры молекулярной массы; ▲ – ампликоны α (229 п.н.) и β (291 п.н.), близкие по размеру к ожидаемому /

Fig. 2. Electrophoregram of the amplification products of streptomycetes type II PKS gene sequences using primer pair PKSIIIF2/PKSIIIR2. The track numbers correspond to the DNA of the strains: 1 – 1K6; 2 – 2K1; 3 – 2K9; 4 – 2K10; 5 – 3K9; 6 – 1N8; 7 – 3N2; 8 – 3N3; 9 – RPLN5; 10 – RPLN12; 11 – RPLN23; 12 – RSFK2; 13 – RSFN5. Track 14 – negative control (water); track M – molecular weight markers; ▲ – amplicons α (229 bp) and β (291 bp), close in size to the expected

Резистентность к антибиотикам вызывает опасения при использовании стрептомицетов в качестве биопрепаратов в сельском хозяйстве в связи с риском распространения генов устойчивости к антибиотикам в природных популяциях бактерий [2, 25]. Таким образом, наличие широкого спектра устойчивости к антибио-

тикам нежелательно для штаммов, которые используются для биоконтроля фитопатогенов. В работе изучали устойчивость стрептомицетов к антибиотикам разных классов и механизмов действия: величина зон ингибирования стрептомицетов восьмью исследуемыми антибиотиками изменялась от 0 до 50 мм (табл. 3).

Таблица 3 – Чувствительность штаммов *Streptomyces* spp. к антибиотикам (зоны ингибирования, мм) / Table 3 – Sensitivity of *Streptomyces* spp. strains to antibiotics (inhibition zones, mm)

Штамм / Strain	РИФ / Rifampicin	АКЦ / Amoxicillin	ЦЗ / Cefazolin	ТЕТ / Tetracyclin	КАН / Kanamycin	ЛЕВ / Levomycetin	БЦ / Bacitracin	ЭРИ / Erythromycin
RSFK2	20±2 ^c	0	0	35±3 ^g	31±3 ^{bc}	35±3 ^f	18±1 ^{cd}	0
RSFN5	25±2 ^d	27±2 ^c	14±1 ^a	18±1 ^{cde}	35±3 ^{cde}	13±1 ^{bc}	24±3 ^{ef}	27±3 ^b
RPLN5	9±1 ^a	20±2 ^a	16±1 ^a	0	41±3 ^{ef}	29±2 ^c	7±1 ^a	40±3 ^c
RPLN12	20±2 ^c	0	0	25±3 ^f	51±5 ^h	40±4 ^g	30±3 ^g	42±4 ^c
RPLN23	15±1 ^b	0	0	18±1 ^{cde}	45±5 ^{fg}	15±1 ^c	20±2 ^d	44±4 ^c
1K6	30±2 ^c	0	16±1 ^a	50±5 ^h	31±2 ^{bc}	13±1 ^{bc}	44±3 ⁱ	17±1 ^a
3K9	0	0	20±2 ^b	17±1 ^{cd}	50±4 ^{gh}	0	37±3 ^h	31±2 ^b
1N8	0	22±2 ^{ab}	0	26±2 ^f	35±3 ^{cde}	12±1 ^{bc}	25±2 ^f	30±2 ^b
3N2	10±1 ^a	24±2 ^{bc}	0	20±2 ^{de}	39±4 ^{de}	30±2 ^c	20±2 ^d	41±3 ^c
3N3	24±2 ^d	0	21±2 ^b	10±1 ^a	34±3 ^{bcd}	11±1 ^{ab}	21±2 ^{de}	20±2 ^a
2K1	19±2 ^c	0	0	21±2 ^c	22±2 ^a	0	14±1 ^b	0
2K9	24±2 ^d	0	0	16±1 ^b	20±2 ^a	9±1 ^a	0	0
2K10	30±2 ^c	0	0	21±2 ^c	29±3 ^b	25±2 ^d	15±1 ^{bc}	0

Примечание: одинаковыми буквами в столбцах отмечены существенно не различающиеся ($p < 0,05$) значения / Note: the same letters in the columns mark the values, which are not significantly different ($p < 0.05$)

Значительная доля (85 %) исследуемых штаммов характеризовалась устойчивостью к β-лактамам: у девяти штаммов выявлена устойчивость к амоксициллину; у восьми – к цефазолину. Наиболее широким спектром устойчивости к антибиотикам обладали штаммы *Streptomyces* spp. 2K1 и 2K9, которые характеризовались резистентностью к четырём из восьми использованным в работе антибиотиков, относящихся к трем группам. Поэтому для дальнейших исследований интерес представляют собственно их метаболиты, но не сами бактерии.

В целом большинство стрептомицетов проявили чувствительность к использованным в работе антибиотикам, за исключением β-лактамов. Стрептомицеты характеризовались высоким уровнем чувствительности к аминогликозидам, тетрациклину, полипептидам, хлорамфениколам и ансамицинам. Все исследуемые штаммы были чувствительны к канамицину. Значительная доля штаммов обладала чувствительностью к рифампицину (85 %) и эритромицину (69 %). Штамм RSFN5 был чувствителен ко всем изучаемым антибиотикам, резистентностью к 1-2 антибиотикам харак-

теризовалось 54 % (RPLN5, RPLN12, RPLN23, 1K6, 1N8, 3N2, 3N3) исследуемых штаммов. Таким образом, полученные данные свидетельствуют об отсутствии значительных экологических рисков, связанных с распространением устойчивости к антибиотикам, в случае использования данных штаммов в окружающей среде.

У стрептомицетов изучали также целлюлозолитическую активность. Продукция целлюлазы рассматривается в качестве ценного свойства для бактерий, при этом разложение целлюлозы связано и с биоконтрольными функциями микроорганизмов. Стрептомицеты могут служить основой для создания почвоулучшающих препаратов, способствующих быстрому разложению растительных остатков и сокращению пула почвенных инфекций в агроценозах [26]. Известно также, что синтезирующие целлюлазы стрептомицеты способны осуществлять биоконтроль таких патогенов, как *Phytophthora* sp. и *Pythium* sp., клеточная стенка которых содержит 17–25 % целлюлозы [27, 28].

Изучение целлюлозолитической активности стрептомицетов в тесте с Конго красным показало, что все штаммы (за исключением

Streptomyces sp. RPLN23) в разной мере способны утилизировать КМЦ (рис. 3). Наибольшую активность проявил штамм *Streptomyces* sp. 3K9,

а также штаммы RPLN12, 2K9, у которых соотношение зоны гидролиза КМЦ к зоне роста варьировало от 7,3 до 9,3.

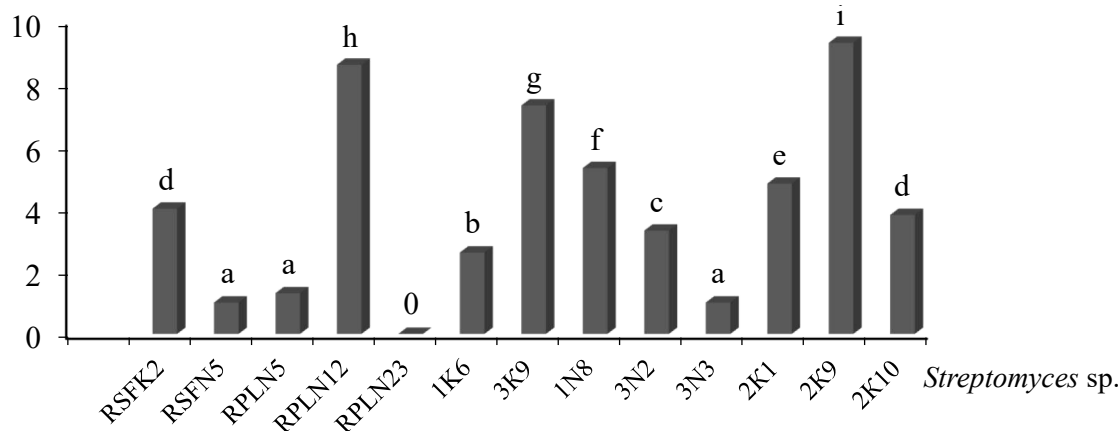


Рис. 3. Соотношение ширины зон деструкции КМЦ и роста стрептомицета (одинаковыми буквами на графике отмечены существенно не различающиеся ($p < 0,05$) значения) /

Fig. 3. The ratio of the width of the zones of CMC destruction and streptomycete growth (the same letters on the graph indicate values that are not significantly different ($p < 0.05$))

Известно, что для стрептомицетов характерно значительное разнообразие генов, кодирующих ферменты, действующие на различных этапах разложения целлюлозы [29]. Среди них наибольший интерес вызывают гликозил-гидролазы (glycoside hydrolase – GH), которые катализируют гидролиз гликозидных связей в молекулах углеводов, приводя к появлению более низкомолекулярных углеводов. Установлено, что отсутствие генов гликозил-гидролаз, принадлежащих к семействам GH9–GH12, GH48 и GH74, оказывает существенное влияние

на способность штаммов стрептомицетов разлагать целлюлозу [30].

В работе осуществляли поиск у стрептомицетов генов гликозил-гидролаз семейства GH74 с помощью ПЦР-анализа со специфичными праймерами (табл. 1). У штамма RSFN5 обнаружены ампликоны, близкие по размеру к ожидаемым как при использовании праймеров GH74F1/GH74R1 (длина ампликона согласно Gel Analyzer 900 п.н.), так и праймеров GH74F2/GH74R2 (ампликон 214 п.н.) (рис. 4 и 5 соответственно).

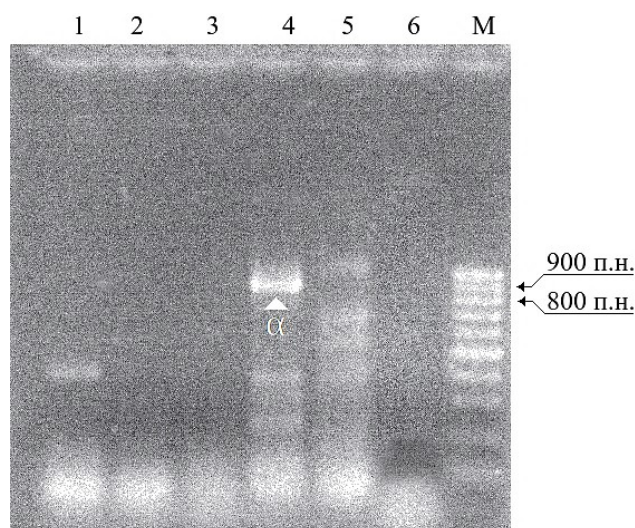


Рис. 4. Электрофореграмма продуктов амплификации последовательностей гена целлюлазы при использовании праймеров GH74F1/GH74R1. Номера дорожек соответствуют ДНК штаммов: 1 – RPLN5; 2 – RPLN12; 3 – RPLN23; 4 – RSFN5; 5 – RSFK2; 6 – отрицательный контроль (вода); дорожка М – маркеры молекулярной массы; ▲ а – ампликон, близкий по размеру к ожидаемому (890 п.н.) /

Fig. 4. Electrophoregram of the products of amplification of cellulase gene sequences using GH74F1/GH74R1 primers. The track numbers correspond to the DNA of the strains: 1 – RPLN5; 2 – RPLN12; 3 – RPLN23; 4 – RSFN5; 5 – RSFK2; 6 – negative control (water); track M – molecular weight markers; ▲ a – amplicon, close in size to the expected (890 bp)

Целевой ампликон (216 п.н.) был получен у стрептомицета 3N2, близкий по размеру ампликон (210 п.н.) выявлен у штамма RPLN12 в ходе амплификации с парой праймеров GH74F2/GH74R2 (рис. 5). Наличие дополнительных ПЦР-продуктов в реакциях с использованными праймерами может свидетельствовать об изменении длины как самого белка, так и гена. По данным литературы, набор гликозил-гидролаз у микроорганизмов зависит от их

экологической ниши и может отличаться даже у штаммов одного вида: эти гены часто подвержены дупликациям, элиминации и горизонтальному переносу [31]. Для повышения эффективности ПЦР-скрининга целлюлозолитических штаммов стрептомицетов, ввиду разнообразия генов целлюлаз и их вариабельности, целесообразным представляется разработка ДНК-мишени, связанной с регуляцией транскрипции данных генов.

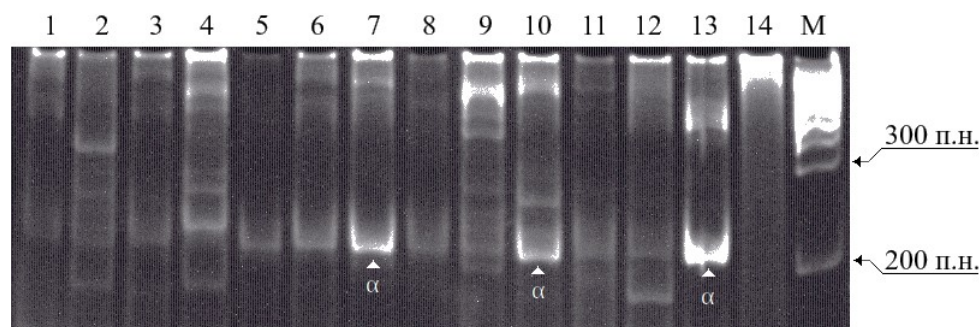


Рис. 5. Электрофореграмма продуктов амплификации последовательностей гена целлюлазы при использовании пар праймеров GH74F2/GH74R2. Номера дорожек соответствуют ДНК штаммов: 1 – 1K6; 2 – 2K1; 3 – 2K9; 4 – 2K10; 5 – 3K9; 6 – 1N8; 7 – 3N2; 8 – 3N3; 9 – RPLN5; 10 – RPLN12; 11 – RPLN23; 12 – RSFK2; 13 – RSFN5. Дорожка 14 – отрицательный контроль (вода); дорожка M – маркеры молекулярной массы; ▲ α – ампликоны, близкие по размеру к ожидаемому (216 п.н.) /

Fig. 5. Electrophoregram of the products of amplification of cellulase gene sequences in a 7% polyacrylamide gel using pairs of GH74F2/GH74R2 primers. The track numbers correspond to the DNA of the strains: 1 – 1K6; 2 – 2K1; 3 – 2K9; 4 – 2K10; 5 – 3K9; 6 – 1N8; 7 – 3N2; 8 – 3N3; 9 – RPLN5; 10 – RPLN12; 11 – RPLN23; 12 – RSFK2; 13 – RSFN5. Track 14 – negative control (water); track M – molecular weight markers; ▲ α – amplicons close in size to the expected (216 bp)

Более эффективному биоконтролю фитопатогенов способствуют также RGPB-свойства стрептомицетов [7]. Как и другие бактерии, *Streptomyces* spp. могут стимулировать рост растений и повышать урожайность, увеличивая доступность питательных веществ или выделяя регуляторы роста. Для оценки RGPB-свойств исследуемых штаммов изучали их способность синтезировать ИУК. По результатам проведенных исследований способность к синтезу ИУК была обнаружена у трех стрептомицетов, выделенных из ризопланы (*Streptomyces* spp. RPLN5 и RPLN23) и почвы (*Streptomyces* sp. 1K6).

Известно, что продукция стрептомицетами данного фитогормона способствует стимуляции роста различных видов растений посредством активизации деления и элонгации клеток, приводя к увеличению биомассы побегов и корней [3, 8, 32]. При этом ИУК также может выступать в качестве молекулы-предшественника для синтеза фермента синтазы АЦК (аминоциклопропан-1-карбоксилловой кислоты), необходимой в свою очередь для синтеза этилена, который участвует в формировании адаптивных ответов растений на биотические и абиотические стрессовые факторы.

Среди изученных стрептомицетов штамм RPLN23, обладающий антифунгальной активностью (диаметр зон ингибирования 24–30 мм), характеризующийся наличием генов PKSII (229 п.н.) и способностью синтезировать ИУК, является наиболее перспективным с точки зрения дальнейшего изучения в качестве агента биоконтроля. Штаммы RPLN5 и 1K6, для которых также установлена способность продуцировать ИУК, требуют исследования их антагонистической активности к другим фитопатогенам.

Заключение. В ходе проведенных исследований установлено, что штаммы стрептомицетов, выделенные из почвы, ризосферы и ризопланы растений на территории Кировской области, в большей степени обладают антифунгальной, чем антибактериальной активностью, что совпадает с результатами предыдущих исследований [26, 33, 34]. При этом более высокую антагонистическую активность наблюдали в отношении гриба *P. nodorum*, чем тест-культур рода *Fusarium*. Штаммы *Streptomyces* spp. RPLN23, 1N8 и 3K9, способные эффективно ингибировать рост гриба возбудителя септориоза пшеницы, включая высокопатогенный местный штамм *P. nodorum* ТС, перспективны для

изучения их антагонистического действия на данный патоген в полевых условиях.

В работе не было установлено связи между антифунгальной и целлюлозолитической активностями (способностью разлагать КМЦ и наличием генов GH74). В то же время выявлены штаммы, способные к эффективной деструкции КМЦ (RPLN12, 2K9 и 3K9), и штаммы, имеющие в геноме гены, кодирующие целлюлазы семейства GH74 (RSFN5, RPLN12, 3N2). Исследования данных штаммов *Streptomyces* spp. будут продолжены в отношении их способности к деструкции других субстратов, т. к. целлюлозолитический потенциал данных бактерий представляет интерес с точки зрения стабилизации фитосанитарного состояния агроценозов. Согласно данным, полученным в работе [26], совместное культивирование штаммов рода *Streptomyces* может синэргетически влиять на уровень целлюлазной и антагонистической активности по отношению к грибным фитопатогенам. В связи с этим планируется оценить возможность создания эффективных комбинаций исследуемых штаммов стрептомицетов.

ПЦР-скрининг представляет собой дополнительный инструмент для оценки биосинтетического потенциала стрептомицетов. Результаты

ПЦР позволили выявить у штаммов *Streptomyces* spp. (RSFN5, RPLN5), не проявивших антагонизма к исследуемым культурам грибов и бактерий, гены PKSII и GH74. Обнаружение у некоторых штаммов ампликонов, отличных по размеру от ожидаемого, также может свидетельствовать об обнаружении фрагментов исследуемых генов, однако требует более глубоких исследований. Дальнейшую работу в этом направлении планируется сосредоточить на расширении количества выявляемых ДНК-мишеней, связанных как с функцией биоконтроля (гены хитиназ), продукцией вторичных метаболитов (гены нерибосомных пептидсинтаз (NRPS)), так и разложением целлюлозы (регулятор транскрипции CebR).

Результаты текущего исследования дополняют имеющиеся данные о потенциале стрептомицетов для их использования в сельском хозяйстве. Изучение этой группы микроорганизмов не теряет своей актуальности, а новые данные, полученные с использованием современных методов биологии, позволяют детальнее исследовать заложенные в генотипе возможности, связанные с продукцией ценных метаболитов и ферментов.

References

1. Максимов И. В., Абизгильдина Р. Р., Пусенкова Л. И. Стимулирующие рост растений микроорганизмы как альтернатива химическим средствам защиты от патогенов (обзор). Прикладная биохимия и микробиология. 2011;47(4):373–385. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=16553165> EDN: NYGBHX
2. Maksimov I. V., Abizgil'dina R. R., Pusenkova L. I. Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens (review). *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2011;47(4):373–385. (In Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=16553165>
3. Rey T., Dumas B. Plenty is no plague: *Streptomyces* symbiosis with crops. *Trends in plant science*. 2017;22(1):30–37. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.10.008>
4. Vurukonda S. S. K. P., Giovanardi D., Stefani E. Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces* spp. as endophytes. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(4):952. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19040952>
5. Moumbock A. F. A., Gao M., Qaseem A., Li J., Kirchner P. A., Ndingkokhar B., et al. StreptomeDB 3.0: an updated compendium of streptomycetes natural products. *Nucleic acids research*. 2021;49(D1):D600–D604. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa868>
6. Gowdar S. B., Deepa H., Amaresh Y. S. A brief review on biocontrol potential and PGPR traits of *Streptomyces* sp. for the management of plant diseases. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2018;7(5):03–07. URL: <https://www.phytojournal.com/archives/2018/vol7issue5/PartA/7-3-57-816.pdf>
7. Hwang K. S., Kim H. U., Charusanti P., Palsson B. Ø., Lee S. Y. Systems biology and biotechnology of *Streptomyces* species for the production of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*. 2014;32(2):255–268. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.10.008>
8. Olanrewaju O. S., Babalola O. O. *Streptomyces*: implications and interactions in plant growth promotion. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2019;103(3):1179–1188. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-09577-y>
9. Sousa J. A. J., Olivares F. L. Plant growth promotion by streptomycetes: ecophysiology, mechanisms and applications. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 2016;3:24. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40538-016-0073-5>
10. Al-Quwaie D. A. The role of *Streptomyces* species in controlling plant diseases: a comprehensive review. *Australasian Plant Pathology*. 2024;53(1):1–14. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13313-023-00959-z>
11. Vurukonda S. S. K. P., Giovanardi D., Stefani E. Growth promotion and biocontrol activity of endophytic *Streptomyces* spp. In: Giampietro L., (ed.) *Prime archives in Molecular Sciences*, 2nd edition. Hyderabad: Vide Leaf; 2021. 55 p. DOI: <https://doi.org/10.37247/PAMOL2ED.2.2021.20>
12. Гаузе Г. Ф., Преображенская Т. П., Свешникова М. А., Терехова Л. П., Максимова Т. С. Определитель актиномицетов: Роды *Streptomyces*, *Streptovorticillium*, *Chainia*. М.: Наука, 1983. 248 с.

- Gauze G. F., Preobrazhenskaya T. P., Sveshnikova M. A., Terekhova L. P., Maksimova T. S. Actinomycetes indicator: genii *Streptomyces*, *Streptovorticillium*, *Chainia*. Moscow: Nauka, 1983. 248 p.
12. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках. М.: Высшая школа, 1979. 455 с.
- Egorov N. S. Fundamentals of the doctrine of antibiotics. Moscow: Vysshaya shkola, 1979. 455 p.
13. Teather R. M., Wood P. J. Use of Congo red-polysaccharide interaction in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria the bovine rumen. Applied and Environmental Microbiology. 1982;43(4):777–780. DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.43.4.777-780.1982>
14. Ariffin H., Abdullah N., Md Shah U. K., Shirai Y., Hassan M. A. Production and characterization of cellulase by *Bacillus pumilus* EB3. International Journal of Engineering and Technology. 2006;3(1):47–53. URL: <https://www.ijet.feic.org/journals/I-2006-V1005.pdf>
15. Meudt W. J., Gaines T. P. Studies on the oxidation of indole-3-acetic acid by peroxidase enzymes. Colorimetric determination of indole-3-acetic acid oxidation products. Plant Physiology. 1967;42(10):1395–1399. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.42.10.1395>
16. Sambrook J., Fritsch T., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1983. 545 p. URL: <https://archive.org/details/molecularcloning0000samb/page/n3/mode/2up>
17. Petukhov D. V., Tovstik E. V., Bakulina A. V., Sazanov M. L., Burkov A. A. Soil *Streptomyces* sp. strain 2K1: phylogenetic position, effect on *Fusarium proliferatum* growth. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya* = Theoretical and Applied Ecology. 2020;(2):111–116. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2020-2-111-116> EDN: KKGIRG
18. Lorenzi A. S., Bonatelli M. L., Chia M. A., Peressim L., Quecine M. C. Opposite sides of *Pantoea agglomerans* and its associated commercial outlook. Microorganisms. 2022;10(10):2072. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10102072>
19. D'Costa V. M., King C. E., Kalan L., Morar M., Sung W. W., Schwarz C., et al. Antibiotic resistance is ancient. Nature. 2011;477:457–461. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature10388>
20. Cytryn E. The soil resistome: the anthropogenic, the native, and the unknown. Soil Biology and Biochemistry. 2013;63:18–23. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.03.017>
21. Lee N., Hwang S., Kim J., Cho S., Palsson B., Cho B. K. Mini review: Genome mining approaches for the identification of secondary metabolite biosynthetic gene clusters in *Streptomyces*. Computational and Structural Biotechnology Journal. 2020;18:1548–1556. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.06.024>
22. Yuan M., Yu Y., Li H. R., Dong N., Zhang X. H. Phylogenetic diversity and biological activity of Actinobacteria isolated from the Chukchi Shelf marine sediments in the Arctic Ocean. Marine Drugs. 2014;12(3):1281–1297. DOI: <https://doi.org/10.3390/md12031281>
23. Duffy B., Schouten A., Raaijmakers J. M. Pathogen self-defense: mechanisms to counteract microbial antagonism. Annual Review of Phytopathology. 2003;41:501–538. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.41.052002.095606>
24. Виноградова К. А., Булгакова В. Г., Полин А. Н., Кожевин П. А. Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам: резистомы, её объём, разнообразие и развитие. Антибиотики и химиотерапия. 2013;58(5-6):38–48. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22477512> EDN: RARWVF
- Vinogradova K. A., Bulgakova V. G., Polin A. N., Kozhevnikov P. A. Microbial Antibiotic Resistance: Resistome, Its Volume, Diversity and Development. *Antibiotiki i khimioterapiya* = Antibiotics and Chemotherapy. 2013;58(5-6):38–48. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22477512>
25. Pacios-Michelena S., Aguilar González C. N., Alvarez-Perez O. B., Rodriguez-Herrera R., Chávez-González M., Arredondo Valdés R., et al. Application of *Streptomyces* antimicrobial compounds for the control of phytopathogens. Frontiers in Sustainable Food Systems. 2021;5:696518. DOI: <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.696518>
26. Боков Н. А., Абубакирова Р. И., Широких И. Г. Изучение агрономически ценных синергетических эффектов в бинарных культурах почвенных стрептомицетов. Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2023;24(5):799–809. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.5.799-809> EDN: UKWTCA
- Bokov N. A., Abubakirova R. I., Shirokikh I. G. Study of agronomically valuable synergistic effects in binary cultures of soil streptomycetes. *Agrarnaya nauka Euro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2023;24(5):799–809. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.5.799-809>
27. Lima L. H. C., De Marco J. L., Felix C. R. Enzimas hidrolíticas envolvidas no controle por micoparasitismo. In: Melo I.S., Azevedo J.L. (eds). Controle biológico. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1998. pp. 263–304.
28. Sakineh A., Sadeghi A., Safaie N. Biocontrol of cucumber damping-off by *Streptomyces* strains producing siderophore and cellulase under extreme condition. Journal of Microbial Biology. 2020;9(33):1–13. URL: https://bjm.ui.ac.ir/article_24672.html
29. Nikolaidis M., Hesketh A., Frangou N., Mossialos D., Van de Peer Y., Oliver S. G., Amoutzias G. D. A panoramic view of the genomic landscape of the genus *Streptomyces*. Microbial Genomics. 2023;9(6):001028. DOI: <https://doi.org/10.1099/mgen.0.001028>
30. Book A. J., Lewin G. R., McDonald B. R., Takasuka T. E., Wendt-Pienkowski E., Doering D. T., et al. Evolution of high cellulolytic activity in symbiotic *Streptomyces* through selection of expanded gene content and coordinated gene expression. PLoS Biology. 2016;14(6):e1002475. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002475>
31. Наумов Д. Г. Иерархическая классификация гликозил-гидролаз. Биохимия. 2011;76(6):764–781. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=16381097> EDN: NUMDXX
- Naumov D. G. Hierarchical classification of glycoside hydrolases. *Biokhimiya*. 2011;76(6):764–781. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=16381097>

32. Al-Tammar F. K., Khalifa A. Y. An update about plant growth promoting *Streptomyces* species. Journal of Applied Biology & Biotechnology. 2023;11(4):1–10. DOI: <https://doi.org/10.7324/JABB.2023.130126>

33. Широких И. Г., Широких А. А. Антагонизм и резистентность к антибиотикам актиномицетов из почв трех особо охраняемых природных территорий. Почвоведение. 2019;(10):1203–1210.

DOI: <https://doi.org/10.1134/S0032180X19100137> EDN: IVXWVR

Shirokikh I. G., Shirokikh A. A. Antagonism and resistance to antibiotics of actinomycetes from soils of three specially protected natural territories. *Pochvovedenie* = Eurasian Soil Science. 2019;(10):1203–1210. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.1134/S0032180X19100137>

34. Широких И. Г., Бакулина А. В., Назарова Я. И., Широких А. А., Козлова Л. М. Влияние *Streptomyces castelarensis* A4 на заболеваемость и урожайность зерновых культур полевого севооборота. Микология и фитопатология. 2020;54(1):59–66. DOI: <https://doi.org/10.31857/S0026364820010080> EDN: AYAJVU

Shirokikh I. G., Bakulina A. V., Nazarova Ya. I., Shirokikh A. A., Kozlova L. M. Effect of *Streptomyces castelarensis* A4 on the lesion by phytopathogenic micromycetes and the yield of grain crops of field rotation. *Mikologiya i fitopatologiya* = Mycology and Phytopathology. 2020;54(1):59–66. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.31857/S0026364820010080>

Сведения об авторах

✉ **Бакулина Анна Владимировна**, кандидат биол. наук, старший научный сотрудник, зав. лабораторией молекулярной биологии и селекции, ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», ул. Ленина, д. 166а, г. Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5171-2476>, e-mail: mol-biol@fanc-sv.ru

Товстик Евгения Владимировна, кандидат биол. наук, доцент, научный сотрудник лаборатории биотехнологических методов селекции сельскохозяйственных растений, ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», ул. Ленина, д. 166а, г. Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1861-6076>

Бессолицына Екатерина Андреевна, кандидат биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и селекции, ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», ул. Ленина, д. 166а, г. Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5582-1709>

Новоселова Нина Владиславовна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и селекции, ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», ул. Ленина, д. 166а, г. Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0638-4258>

Жемчужина Наталья Сергеевна, кандидат биол. наук, старший научный сотрудник, заместитель заведующего государственной коллекцией фитопатогенных микроорганизмов и сортов растений-идентификаторов патогенных штаммов микроорганизмов, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии», ул. Институт, владение 5, р. п. Большие Вяземы, Российская Федерация, 143050, e-mail: vniif@vniif.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6374-403X>

Information about the authors

✉ **Anna V. Bakulina**, PhD in Biological science, senior researcher, Head of the Laboratory of Molecular Biology and Breeding, Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, Lenin str., 166a, Kirov, Russian Federation, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5171-2476>, e-mail: mol-biol@fanc-sv.ru

Evgeniya V. Tovstik, PhD in Biological science, associate professor, researcher, the Laboratory of Biotechnological Methods of Agricultural Plant Breeding, Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, Lenin str., 166a, Kirov, Russian Federation, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1861-6076>

Ekaterina A. Bessolitsyna, PhD in Biological science, senior researcher, the Laboratory of Molecular Biology and Breeding, Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, Lenin str., 166a, Kirov, Russian Federation, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5582-1709>

Nina V. Novoselova, junior researcher, the Laboratory of Molecular Biology and Breeding, Federal Agricultural Research Center of the North-East named N.V. Rudnitsky, Lenin str., 166a, Kirov, Russian Federation, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0638-4258>

Natalya S. Zhemchuzhina, PhD in Biological science, senior researcher, Deputy Head of the State Collection of Phytopathogenic Microorganisms and Plant Varieties-Identifiers of Pathogenic Microorganisms, All-Russian Research Institute of Phytopathology, Institut str., possession 5, Bolshye Vyazemy settlement, Russian Federation, 143050, e-mail: vniif@vniif.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6374-403X>

✉ – Для контактов / Corresponding author