

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И МИКОЛОГИЯ / AGRICULTURAL MICROBIOLOGY AND MYCOLOGY

<https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.4.515-526>
УДК 579.87



Актинобиота корней *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin как потенциальный источник микробиологических препаратов для растениеводства

© 2022. И. Г. Широких¹✉, Я. И. Назарова¹, А.В. Бакулина¹, И. А. Остерман^{2,3}, А. Р. Белик³, Ю. А. Буюклян³, Н. А. Боков¹, А. А. Широких¹

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

²АНООВО «Сколковский институт науки и технологий», г. Москва, Российская Федерация

³Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр генетики и наук о жизни, Краснодарский край, г. Сочи, Российская Федерация

В работе определена численность и структура комплексов актиномицетов, ассоциированных с корнями лекарственного растения – левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin) при длительном возделывании на дерново-подзолистой почве. Общая численность актиномицетов в ризосфере изменялась в пределах $(4,4-13,2) \times 10^5$ КОЕ/г почвы, а в ризоплане – в пределах $(7,6-24,1) \times 10^3$ КОЕ/г корней. Комплекс мицелиальных прокариот представлен родами *Streptomyces*, *Microthopospora*, *Streptosporangium*, *Streptovercillium* и олигоспоровыми формами. Стрептомицеты доминировали как в ризосфере, так и в ризоплане левзеи сафлоровидной. Из этих микрококсов с помощью селективных приемов выделено 30 культур мицелиальных прокариот. Исследованы культурально-морфологические и физиолого-биохимические свойства изолятов. Высокопроизводительный скрининг, проведенный с помощью двойной репортерной системы, выявил среди 19 изолятов, ассоциированных с корнями левзеи, способность продуцировать ингибиторы синтеза белка у четырех (21 %) культур стрептомицетов. ПЦР-детекция генов поликетидсинтез типа II не выявила среди ассоциированных с левзеей стрептомицетов их носителей. Значительная доля (67 %) изолятов стрептомицетов из ризосферы и ризопланы левзеи обладала умеренной и высокой целлюлазной активностью. Установлено, что большинство (92 %) стрептомицетов в комплексе ризопланы продуцируют индольные соединения (ИУК) в количестве $40 \pm 16,1$ мкг/мл, до 61 % изолятов способны к синтезу водорастворимых метаболитов антифунгального действия. Выявлены новые перспективные для дальнейшего изучения штаммы стрептомицетов-антагонистов фитопатогенных грибов, целлюлолитиков и продуцентов ауксинов.

Ключевые слова: левзея сафлоровидная, стрептомицеты, антибиотическая активность, ауксины, деструкция целлюлозы, утилизация сахаров

Благодарности: работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Государственного задания ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого» (тема № FNWE-2022-0005).

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Широких И. Г., Назарова Я. И., Бакулина А. В., Остерман И. А., Белик А. Р., Буюклян Ю. А., Боков Н. А., Широких А. А. Актинобиота корней *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin как потенциальный источник микробиологических препаратов для растениеводства. Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2022;23(4):515-526.

DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.4.515-526>

Поступила: 11.05.2022

Принята к публикации: 01.08.2022

Опубликована онлайн: 25.08.2022

Actinobiota of *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin roots as potential source of microbiological preparations for cropping

© 2022. Irina G. Shirokikh¹✉, Yanina I. Nazarova¹, Anna V. Bakulina¹, Ilya A. Osterman^{2, 3}, Albina R. Belik³, Julia A. Buiuklian³, Nikita A. Bokov¹, Alexander A. Shirokikh¹

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

²Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russian Federation

³Sirius University, Scientific Center of Genetics and Life Sciences, Krasnodar region, Sochi, Russian Federation

The paper determines the number and structure of actinomycete complexes associated with the roots of the medicinal plant – leuzea safflower (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin) during long-term cultivation on sod-podzolic soil. The total number of actinomycetes in the rhizosphere varied within $(4.4-13.2) \times 10^5$ CFU/g of soil, and in the rhizoplane – within $(7.6-24.1) \times 10^3$ CFU/g of roots. The complex of mycelial prokaryotes is represented by the genera *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Streptosporangium*, *Streptoverticillium* and oligospore forms. *Streptomyces* dominated both in the rhizosphere and in the rhizoplane of leuzea safflower. From these microlocuses, 30 cultures of mycelial prokaryotes were isolated using selective techniques. The cultural-morphological and physiological-biochemical properties of the isolates were studied. High-performance screening conducted using a dual reporter system revealed among 19 isolates associated with leuzea roots the ability to produce protein synthesis inhibitors in four (21 %) streptomycetes cultures. PCR detection of type II polyketide synthetase genes did not reveal their carriers among streptomycetes associated with leuzea. A significant proportion (67 %) of streptomycetes isolates from the rhizosphere and rhizoplane of leuzea had moderate and high cellulase activity. It has been established that the majority (92 %) of streptomycetes in the rhizoplane complex produce indole compounds (IUC) in the amount of 40 ± 16.1 mcl/ml, up to 61 % of isolates produce water-soluble metabolites of antifungal action. New strains of streptomycetes antagonists of phytopathogenic fungi, cellulolytics and auxin producers promising for further study have been identified.

Keywords: leuzea safflower, streptomycetes, antibiotic activity, auxins, cellulose destruction, sugar utilization

Acknowledgements: 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 Federal Agricultural Research Center of the North-East named N. V. Rudnitsky (theme No. FNWE-2022-0005)

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

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

For citation: Shirokikh I. G., Nazarova Ya. I., Bakulina A. V., Osterman I. A., Belik A. R., Buiuklian Ju. A., Bokov N. A., Shirokikh A. A. Actinobiota of *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin roots as potential source of microbiological preparations for cropping. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2022;23(4):515-526. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.4.515-526>

Received: 24.03.2022

Accepted for publication: 01.08.2022

Published online: 25.08.2022

Микроорганизмы, обитающие в ризосфере растений, улучшают их снабжение элементами питания, увеличивают устойчивость к абиотическим стрессам и фитопатогенам, за что получили название PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria – ризобактерии, способствующие росту растений). Среди группы PGPR широко представлены актиномицеты, в особенности – виды рода *Streptomyces* [1, 2]. Благодаря синтезу большого количества биоактивных соединений (поликетиды, пептиды, макролиды, аминокликозиды, индолы и терпены), стрептомицеты играют особую роль в метаболизме растения-хозяина. Подобно другим колонизирующим корни ризобактериям, актиномицеты могут проникать в сосудистую систему, а затем успешно развиваться в стеблях, листьях и других органах как эндофиты.

Колонизация внутренних тканей может происходить также из других частей растения, таких как листья, цветки, почки или семена, но большинство эндофитных актиномицетов были выделены именно из корней [3]. Работами последних десятилетий было показано, что особый интерес как продуценты биологически активных соединений для медицины и сельского хозяйства представляют актиномицеты, связанные с лекарственными растениями [4, 5]. Сообщалось об увеличении всхожести семян и усилении роста *Phaseolus vulgaris* (L.) в результате применения двух штаммов *Streptomyces* sp., выделенных из распространенного в странах Юго-Восточной Азии лекарственного растения *Centella asiatica* (L.) Urb. [6]. Стимуляцию роста растений авторы связывают с продукцией эндофитными стреп-

томицетами индолил-3-уксусной кислоты (ИУК). В работе японских ученых в качестве стимуляторов роста растений с ауксиноподобной активностью рассматриваются птеридиновые кислоты А и В, синтезируемые штаммом *Streptomyces hygroscopicus*, который был выделен из папоротника (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn) [7]. Актиномицеты из традиционного в арабских странах лекарственного растения *Achillea fragrantissima* (Forssk.) Sch. Bip. продуцировали хитиназы и сидерофоры, а также проявили антифунгальную активность в отношении фитопатогенов [8]. Продукция сидерофоров описана также у актиномицетов, выделенных из трех лекарственных растений Индии: *Aloe vera* (L.) BURM. F, *Mentha arvensis* (L.) и *Ocimum sanctum* (L.) [9].

Левзея сафлоровидная (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Pjin) – многолетнее лекарственное растение семейства сложноцветных. Из левзеи выделены фитостероиды, среди которых основная массовая доля приходится на 20-гидроксизексидон. Это соединение оказывает тонизирующие и адаптогенное действие. В традиционной медицине народов Сибири и Монголии левзея входит в состав сборов, употребляемых при болезнях легких, почек, желтухе, лихорадке и ангине [10]. Препараты левзеи сафлоровидной занесены в Государственную Фармакопею РФ [11].

Цель исследования – характеристика комплекса актиномицетов, ассоциированных с корнями левзеи сафлоровидной, и поиск среди них новых штаммов, пригодных к использованию в растениеводстве и земледелии.

Научная новизна. Ассоциативные симбиозы лекарственных растений на территории России изучены в настоящее время недостаточно. Ризосферная и эндофитная актиобиота левзеи сафлоровидной ранее не рассматривалась. Поиск новых ценных штаммов для разработки микробиологических препаратов фитостимулирующего и защитного действия, адаптированных к местным региональным условиям, проведен впервые.

Материал и методы. В работе использовали растения левзеи сафлоровидной при её длительном (в течение 12 лет) возделывании на дерново-подзолистой почве в условиях Предуралья. Численность и таксономическую структуру комплекса актиномицетов определяли в ризосфере и ризоплане растений, используя

ранее описанные подходы и приемы [12]. Анализировали пять индивидуальных образцов, каждый из которых был представлен двумя смешанными навесками, массой 2,0 г. Общую численность мицелиальных прокариотов и видовую структуру рода *Streptomyces* характеризовали на казеин-глицериновом агаре (КГА), родовую структуру комплекса актиномицетов – на среде с пропионатом натрия [13]. Из стрептомицетных колоний разных морфотипов, вырастающих на КГА при посеве из разведений почвенных суспензий и корневых гомогенатов, выделяли чистые культуры.

Для характеристики функциональной структуры комплекса у изолятов рода *Streptomyces* определяли спектр утилизации различных источников углерода на среде ISP 9 [14], антибиотическую активность – методом диффузии в агар. Параллельно в НИИ физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского МГУ (г. Москва) проводили высокопроизводительный скрининг штаммов, способных ингибировать синтез белка и вызывать SOS-ответ, с помощью двойной репортерной системы на основе штамма *Escherichia coli dtolC BW25113*, содержащего репортерную конструкцию, закодированную на плазмиде pDualrep2 (PMID 27736765). Принцип работы репортера заключается в том, что соединения, ингибирующие трансляцию, опосредованно приводят к экспрессии дальне-красного флуоресцентного белка Katushka2S, что сопровождается красным свечением. Соединения, повреждающие ДНК, индуцируют SOS-ответ в клетке, что запускает экспрессию красного флуоресцентного белка (RFP) и вызывает свечение зеленого цвета [15].

Для выявления антибиотически активных штаммов стрептомицеты выращивали в течение 10 сут при 20±2 °С на качалке (120 об/мин) в жидкой среде следующего состава (г/л): глюкоза – 10,0; пептон – 6,2; дрожжевой экстракт – 2,0; гидролизат казеина – 2,0; NaCl – 2,75; KNO₃ – 0,06; Na₂CO₃ – 0,7; Na₂S₂O₃ – 0,2. Исходное значение pH устанавливали равным 8,0. Культуральную жидкость (КЖ) освобождали от клеток центрифугированием при 13000 об./мин в течение 12 мин.

Ночную культуру *E. coli dtolC BW2511* разбавляли в десять раз свежей средой LB и выливали в чашки с агаризованной средой LB и канамицином (50 мкг/мл). После высыхания

жидкости на поверхности агара в среде проделывали лунки диаметром 8 мм, в которые вносили по 100 мкл исследуемого образца – КЖ каждого из изолятов. После культивирования в течение 18 часов при температуре 37 °С чашки сканировали с помощью системы гель-документирования ChemiDoc (Bio-Rad) в каналах Cy3 (для детекции RFP) и Cy5 (для детекции Katushka2S).

Для ПЦР-детекции генов поликетидсинтетаз типа II (PKS II) у стрептомицетных изолятов выделение ДНК проводили из мицелия (100 мг) культур, выращенных на овсяном агаре, с помощью набора «ПРОБА-ЦТАБ» («НПО ДНК-Технология», Россия). Концентрацию ДНК в полученных препаратах оценивали, измеряя поглощение света при длине волны 260 нм на спектрофотометре UNICO 2802(S) (США).

Для выявления генов, кодирующих PKS типа II, использовали пару праймеров: f GC(C\G)TGCTTCGA(C\T)GC(C\G)ATC, r CAT (C\G)GA(C\T)TTGAT(G\C)GAGCTGA (длина ампликона 414 п.н.), синтезированные компанией «Синтол» (Россия). Реакцию проводили на программируемом термоциклере «Терцик» («НПО ДНК-Технология», Россия). Реакционная смесь (25 мкл) содержала 1 нг ДНК, 0,1 мМ dNTPs, 0,2 мМ каждого праймера, 1×PCR-буфер и 1 ед. Taq-полимеразы (СибЭнзим, Россия). ПЦР проводили в следующем режиме: 1 цикл 94 °С – 5 мин; 30 циклов – 94 °С – 1 мин, 56 °С – 1 мин, 72 °С – 1 мин; конечная элонгация 72 °С – 5 мин. Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 1%-ном агарозном геле. Для определения длины полученных ампликонов использовали маркер DNA Ladder (СибЭнзим, Россия). Визуализацию результатов электрофореза проводили с помощью трансиллюминатора «Квант-312» (Helicon, Россия).

Способность изолятов продуцировать ауксины определяли в культуральной жидкости с реактивом Сальковского [16]. Бактерии выращивали в жидкой среде, содержащей (г/л): глюкоза – 2; сахароза – 2; пептон – 1; дрожжевой экстракт – 1; K₂HPO₄ – 0,5; NaCl – 0,1; MgSO₄ – 0,2; KNO₃ – 0,75; CaCl₂ – 0,02; FeCl₃ – 0,01; Na₂MoO₄ – 0,002; pH 6,8-7,2. В качестве предшественника индольных соединений в среду добавляли DL-триптофан

(«ДИАЭМ», США) в количестве 0,2 и 2,0 г/л. Инкубировали на качалке (180 об/мин) в течение 4 сут. Культуральную жидкость от клеток освобождали центрифугированием при 6000 g в течение 10 мин. Количество ИУК определяли на фотоэлектроколориметре (ФЭК 56М, Россия) при длине волны 540 нм. Для построения калибровочного графика использовали разведения стандартного раствора ИУК (Fluca, Швейцария). Контролем служила неинокулированная среда с добавлением реактива.

Целлюлазную активность оценивали на среде Гетчинсона с карбоксиметилцеллюлозой (КМЦ) согласно [17]. Учитывая, что продукты деструкции целлюлозы не окрашиваются красителем, о целлюлазной активности судили по величине светлой зоны около тестируемого микроорганизма.

Статистическую обработку данных проводили стандартными методами с использованием программы Excel 5.

Результаты и их обсуждение. Общая численность актиномицетов в ризосфере левзеи сафлоровидной изменялась в пределах $(4,4-13,2) \times 10^5$ колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 г почвы, а в ризоплане – в пределах $(7,6-24,1) \times 10^3$ КОЕ/г корней. Комплекс ассоциированных с левзеей мицелиальных прокариот представлен родами *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Streptosporangium*, *Streptoverticillium* и олигоспоровыми формами. Между ризосферой и ризопланой в таксономической структуре комплекса выявлены незначительные различия в доле соотношении представителей родов *Streptosporangium* и *Streptoverticillium* (рис. 1). Стрептомицеты доминировали как в ризосфере (46 %), так и в ризоплане (44 %) растений, на основании чего были выделены в чистые культуры для дальнейшего изучения.

Исследование культуральных и морфологических свойств изолятов показало, что на корнях наблюдается более высокое разнообразие стрептомицетов, чем в почве (табл.). Так, все выделенные из ризосферы штаммы были отнесены к четырем цветовым сериям одной секции *Cinereus*, тогда как изоляты из корней левзеи распределились между семью сериями трех секций (*Cinereus*, *Albus* и *Helvolo-Flavus*) рода *Streptomyces* [14].

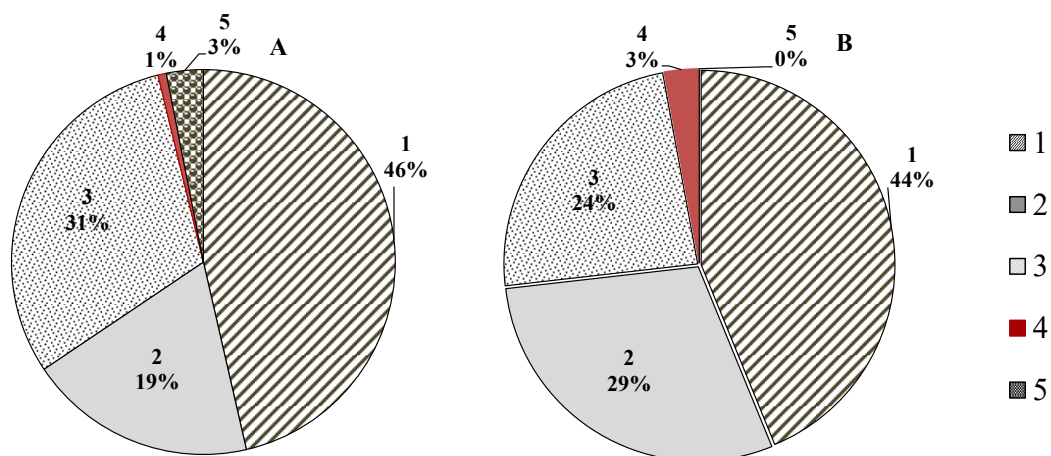


Рис. 1. Долевое соотношение в актиномицетном комплексе левзеи сафлоровидной представителей родов: *Streptomyces* – 1, *Micromonospora* – 2, олигоспоровых форм – 3; *Streptosporangium* – 4, *Streptoverticillium* – 5. А – ризосфера, В – ризоплана /

Fig. 1. The proportion in the actinomycete complex of leuzea safflower representatives of genera: *Streptomyces* – 1, *Micromonospora* – 2, oligosporous forms – 3; *Streptosporangium* – 4, *Streptoverticillium* – 5. A – rhizosphere, B – rhizoplane

Таблица – Культуральные и морфологические свойства бактерий рода *Streptomyces*, ассоциированных с корнями левзеи сафлоровидной /

Table – Cultural and morphological properties of bacteria of the genus *Streptomyces* associated with the roots of leuzea safflower

Штамм / Strain	Цвет / Colour			Цепочка спор / Spore chain	Секция, серия / Section, series
	BM / AM	CM / SM	ПП / RP		
1	2	3	4	5	6
Ризосферная почва / Rhizospheric soil					
2Ls1	Серый / Gray	Серо-зеленый / Gray-green	Нет / No	RF	Cinereus Chrysomallus
2Ls4	Серый / Gray	Бесцветный / Colorless		S	Cinereus Achromogenes
2Ls6	Серый / Gray	Бесцветный до зеленовато- серого / Colorless to greenish-gray		RF	
2Ls7	Светло-серый / Light gray	Бурый до черного / Brown to black	Желтовато- бурый / Yellowish- brown	S	Cinereus Chromogenes
2 Ls8	Темно-серый / Dark gray	Буро-зеленый до черного / Brown-green to black		RF/RA	
2 Ls9	Темно-серый / Dark gray	Бледно-желтый / Pale yellow	Нет / No	RF	Cinereus Aureus
2 Ls10	Светло-серый, мучнистый / Light gray, powdery	Бесцветный / Colorless		RF	Cinereus Achromogenes
2 Ls11	Серый до темно-серого, порошистый / Gray to dark gray, powdery			RF	
2 Ls12	Буровато-серый / Brownish gray	Бесцветный до сероватого / Colorless to grayish		RF/RA	
2 Ls13	Серый, мучнистый / Gray, powdery	Бесцветный / Colorless		RF	
2 Ls14	Темно-серый / Dark gray			RF	
4Ls1	Темно-серый / Dark gray	Желто-зеленый / Yellow-green		RF	Cinereus Aureus
4Ls2	Светло-серый / Light gray	Желтый / Yellow	RF		

Продолжение табл.

1	2	3	4	5	6
4Ls3	Светло-серый / Light gray	Буровато-розовый / Brownish pink	Розово- фиолетовый / Pink-purple	RF	Cinereus Violaceus
4Ls5	От белого до светло-серого / From white to light gray	Желтый / Yellow	Нет / No	RF	Cinereus Aureus
4Ls7	Серый / Gray	Бесцветный / Colorless		RF	Cinereus Achromogenes
4Ls8	Светло-серый мучнистый / Light gray, powdery	Буровато-розовый / Brownish pink	Фиолетово- бурый / Purple-brown	RF	Cinereus Violaceus
4Ls10	Серый с белыми пятнами / Gray with white spots	Бесцветный / Colorless	Нет / No	RF	Cinereus Achromogenes
4Ls11	Серый / Gray	Зеленовато-серый / Greenish-gray		RF	Cinereus Chrysomallus
4Ls12	Кремовый, скудный / Creamy, sparse	Фиолетово-бурый / Purple-brown	Розово- фиолетовый / Pink-purple	RF	Albus Albocoloratus
4Ls13	Палево-желтый, скудный / Pale yellow, sparse	Буровато-розовый / Brownish pink	Нет / No	RF	Helvolo-Flavus Helvolus
4Ls14	Серый / Gray	Бесцветный до зелено-желтого / Colorless to green-yellow		RF	Cinereus Aureus
4Ls15	Темно-серый с беловатыми пятнами / Dark gray with whitish spots	Бесцветный / Colorless	Желтовато- бурый / Yello- wish-brown	RF	Cinereus Chromogenes
4Ls16	Серый, скудный / Gray, sparse	Желто-зеленый / Yellow-green	Нет / No	RF	Cinereus Aureus
4Ls17	Розовато-серый / Pinkish gray	Светло-серый до бурого / Light gray to brown		S	Cinereus Chromogenes
4Ls18	Серый со светло-серыми пятнами / Gray with light gray spots	Бесцветный до сери-желтого / Colorless to gray-yellow		RF	Cinereus Aureus
4Ls19	Серый / Gray	Бесцветный до желтоватого / Colorless to yellowish		RF	Cinereus Achromogenes
4Ls20	Серый, скудный / Gray, sparse	Зеленовато-желтый / Greenish-yellow		RF	Cinereus Aureus
4Ls21	Кремовый, мучнистый / Creamy, powdery	Бесцветный до зеленовато-серого / Colorless to greenish-gray		RF	Helvolo-Flavus Helvolus
4Ls22	Кремовый, мучнистый / Creamy, powdery	Бесцветный до зеленовато-серого / Colorless to greenish-gray		RF	Helvolo-Flavus Helvolus

Примечания: BM – воздушный мицелий; CM – субстратный мицелий; РП – растворимый пигмент.

Цепочки спор: RF – прямые, RA – извитые, S – спиральные /

Notes: VM – air mycelium; SM – substrate mycelium; RP – soluble pigment. Spore chains: RF – straight, RA – twisted, S – spiral

Проверка изолятов на способность к утилизации различных источников углерода показала, что ассоциированные с корнями левзеи сафлоровидной стрептомицеты могут метаболизировать широкий спектр сахаров, целлюлозу и маннит (рис. 2).

В микролокусах ризосферы и ризопланы частота встречаемости культур, способных утилизировать тот или иной источник, различалась. Так, все изоляты из ризосферы левзеи

усваивали глюкозу, маннит и рамнозу (частота встречаемости 100 %), а в ризоплане изоляты, усваивающие маннит и рамнозу, встречались с частотой 85 %, но все культуры, наряду с глюкозой, утилизировали ксилозу (100 %). Значительные различия между комплексами ризосферы и ризопланы наблюдали в отношении потребления стрептомицетами фруктозы и целлюлозы. Среди ризосферных изолятов чаще встречались утилизирующие фруктозу

(75 %) и реже – целлюлозу (25 %), чем среди изолятов, выделенных из ризопланы (69 и 53,8 % соответственно). Разница в спектрах утилизации углеродных субстратов свидетельствует

о специфичности физиологической структуры комплексов стрептомицетов в зависимости от микролокуса.

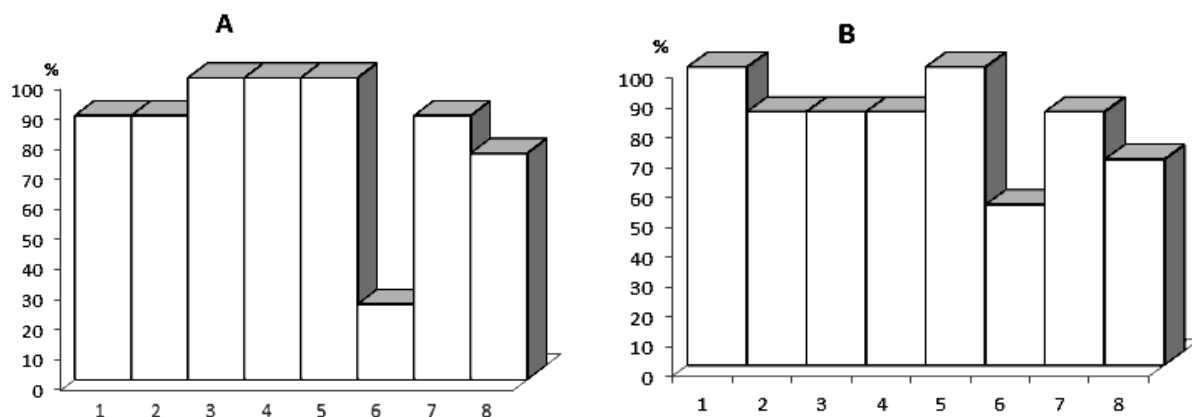


Рис. 2. Частота встречаемости штаммов, утилизирующих различные источники углерода: 1 – ксилозу; 2 – арабинозу; 3 – рамнозу; 4 – маннит; 5 – глюкозу; 6 – целлюлозу; 7 – лактозу; 8 – фруктозу. А – ризосфера, В – ризоплана /

Fig. 2. Frequency of occurrence of strains utilizing various carbon sources: 1 – xylose; 2 – arabinose; 3 – rhamnose; 4 – mannitol; 5 – glucose; 6 – cellulose; 7 – lactose; 8 – fructose. A – rhizosphere, B – rhizoplane

Определение антибиотической активности методом диффузии в агар выявило в стрептомицетных комплексах ризосферы и ризопланы соответственно 2 и 4 культуры, ингибирующие рост грамположительных тест-бактерий *Clavibacter michiganensis* и *Bacillus aryabhattai*. К грамотрицательным тест-бактериям *Curto-bacterium flaccumfaciens*, *Erwinia rhapontici*, *Pseudomonas ceracea* и *Pedobacter agri* ни один из протестированных штаммов не проявил ингибирующего действия.

Антифунгальной активностью, в той или иной степени, обладали все ассоциированные с левзеей культуры стрептомицетов. В зависи-

мости от величины зон ингибирования роста тест-культур, штаммы разделили на группы с низкой, средней и высокой активностью. Суммарная частота встречаемости изолятов со средней и высокой активностью в комплексах ризосферы и ризопланы левзеи зависела от тест-культуры микромицета (рис. 3). Так, в ризосферном комплексе чаще, чем в ризоплане, отмечены стрептомицеты, подавляющие рост фузариозных грибов *F. Avenaceum* и *F. oxysporum*, а антагонисты меланизированных грибов *Alternaria* sp. и *B. Sorokiniana* с большей частотой встречались в стрептомицетном комплексе ризопланы.

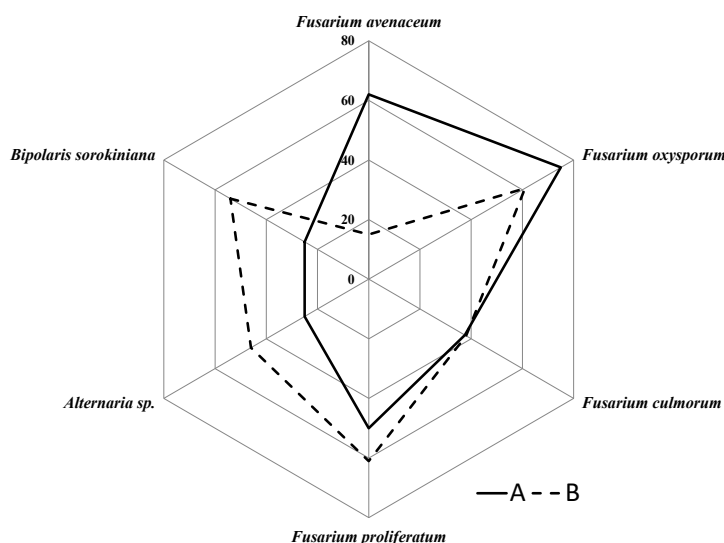


Рис. 3. Суммарная частота встречаемости стрептомицетов со средней и высокой активностью подавления фитопатогенных грибов в ризосфере (А) и ризоплане (В) левзеи сафлоровидной /

Fig. 3. The total frequency of streptomycetes with medium and high activity of suppression of phytopathogenic fungi in the rhizosphere (A) and rhizoplane (B) of leuzea safflower

Наиболее высокой антифунгальной активностью отличался выделенный из ризопланы штамм *Streptomyces* sp. 4Ls13, который с высокой активностью подавлял рост микромицетов *Fusarium avenaceum*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *Alternaria* sp., *Bipolaris sorokiniana*, в средней степени – *F. culmorum*. Проведение скрининга с помощью двойной репортерной системы выявило у этого штамма способность к индукции белка Katushka2s, что указывает на повреждение синтеза белка. Штамм *Streptomyces* sp. 4Ls13 относится к серии Helvolo-Flavus Helvolus, отдельные представители которой продуцируют антибиотики преимущественно пептидной природы [14].

Синтез стрептомицетами антибиотиков обычно происходит с участием больших мультиферментных комплексов, включающих поликетидсинтазы (PKS), нерибосомные пептидсинтазы (NRPS) или их комбинации. Благодаря их активности, осуществляются различные химические модификации, что обеспечивает представителям рода *Streptomyces* производство широкого спектра антибиотиков [18, 19]. Секвенирование генома модельного штамма-продуцента (*Streptomyces coelicolor* A3(2)) показало, что в его геноме закодирован потенциал для синтеза на порядок большего количества антибиотиков, чем производит данный штамм в лабораторных условиях [20]. Это означает, что у микроорганизмов, наряду с функционирующими генами, существуют и другие генные кластеры, которые не всегда экспрессируются и потому известны как «кластеры молчащих биосинтетических генов» [21]. О биосинтетическом потенциале штамма можно узнать посредством обнаружения

этих генов с использованием специфических праймеров [22].

Биосинтетический потенциал стрептомицетов, ассоциированных с корнями левзеи сафлоровидной, оценивали с помощью ПЦР-детекции генов поликетидсинтаз типа II (PKS II), которые ответственны за продукцию ароматических поликетидов. К ним относятся широко используемые в медицинской практике тетрациклины, антрациклины, ангуциклины, антибиотики группы ауреоловой кислоты, тетра-ценомицины и другие группы соединений, имеющие в составе полифенольные и бензохиноновые структуры [23]. В результате ПЦР со специфичными к генам PKS II праймерами в образцах ДНК не выявлено целевых ампликонов длиной 414 п.н. и соответственно положительных по этому признаку культур стрептомицетов (рис. 4). Вместе с тем у ряда ассоциированных с левзеей штаммов *Streptomyces* sp. 4Ls5, 2Ls9, 2Ls3, 4Ls7, 4Ls10, 4Ls3 и 2Ls1 отмечено наличие неспецифических продуктов реакции, что указывает на необходимость их дальнейшего изучения. Доля таких культур в исследованной выборке из 19 штаммов составила 36,8 %. Отсутствие положительных изолятов, имеющих гены PKS II, не противоречит обнаружению среди стрептомицетов, ассоциированных с левзеей, штаммов с биоцидными свойствами, поскольку синтез антибиотиков может быть связан с другими генетическими системами: PKS типа I и PKS типа III и/или NRPS. Кроме того, в ряде работ отмечено отсутствие прямой корреляции между противомикробной активностью и обнаружением у стрептомицетов функциональных генов [24, 25].

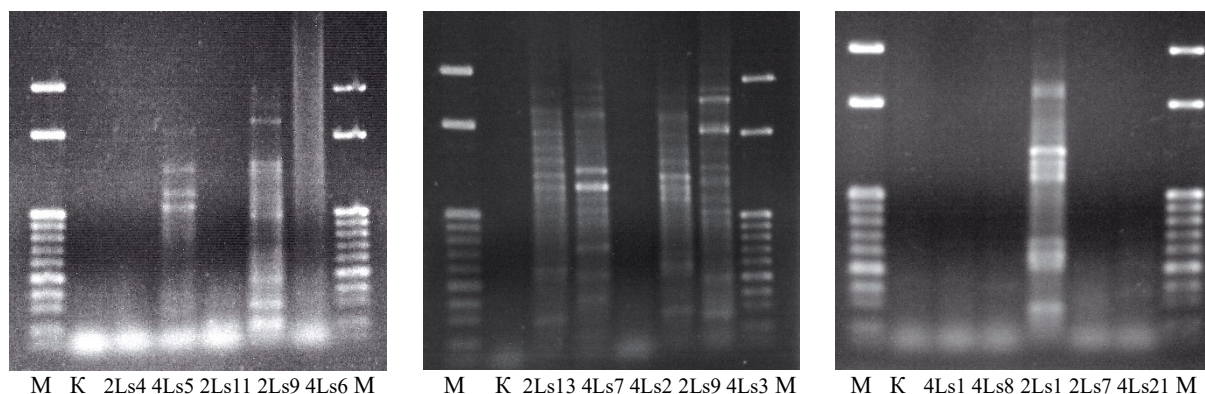


Рис. 4. Электрофореграммы образцов ДНК стрептомицетов после амплификации с праймерами к генам PKS II. Дорожки: М – маркеры молекулярной массы; К – отрицательный контроль; далее – образцы /

Fig. 4. Electrophoregrams of streptomyces DNA samples after amplification with primers to PKS II genes. Tracks: M – markers of molecular weight; K – negative control; then – samples

Важным условием ассоциативного взаимодействия PGPR с растениями является синтез ауксинов, которые играют жизненно важную роль в стимуляции роста и развития растений, регулируют деление клеток, их дифференциацию, влияют на фотосинтез, устойчивость к стрессам [26]. При культивировании в среде с добавлением 2 г/л триптофана практически все исследуемые изоляты продуцировали индолил-3-уксусную кислоту (ИУК) – наиболее распространенный и активный в группе ауксинов фитогормон, широко применяемый в практике растениеводства.

Изоляты из ризопланы левзеи в среднем продуцировали ИУК в больших количествах ($40,20 \pm 16,18$ мкг/мл), чем изоляты из ризосферы ($16,90 \pm 5,75$ мкг/мл). Высокой продукцией ИУК ($48,0-83,6$ мкг/мл) в комплексе ризопланы характеризовалась почти треть (31 %) штаммов, тогда как в стрептомицетном комплексе ризосферы абсолютное большинство изолятов (87,5 %) имело низкую способность к биосинтезу ауксинов, продуцентов ИУК с высокой активностью не выявлено, а умеренную активность проявили лишь 12,5 % изолятов (рис. 5).

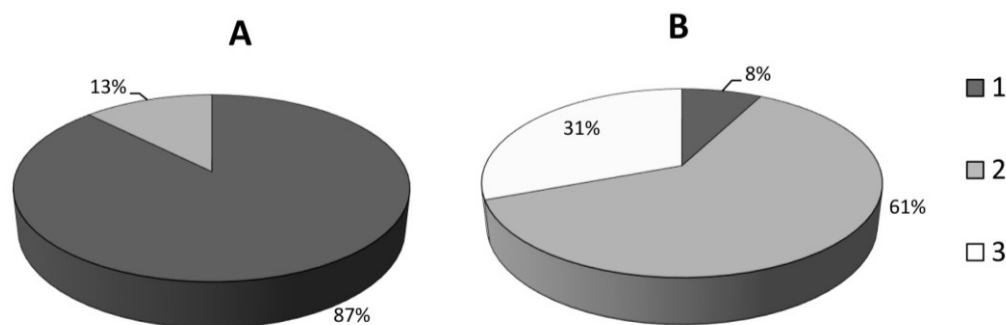


Рис. 5. Долевое соотношение штаммов-ассоциантов левзеи сафлоровидной с различной способностью к продукции ауксинов: 1 – низкая (до 20 мкг/мл); 2 – умеренная (от 21 до 45 мкг/мл); 3 – высокая (более 45 мкг/мл). А – ризосфера, В – ризоплана /

Fig. 5. The proportion of associated strains of leuzea safflower with different ability to produce auxins: 1 – low (up to 20 mcg/ml); 2 – moderate (from 21 to 45 mcg/ml); 3 – high (more than 45 mcg/ml). А – rhizosphere, В – rhizoplane

В среде с пониженным до 0,2 г/л содержанием триптофана наиболее активные штаммы *Streptomyces* sp. 4Ls13, 4Ls16, 4Ls7 и 4Ls5 обеспечили биосинтез ИУК на уровне $19,60 \pm 0,40$, $21,50 \pm 2,49$, $20,40 \pm 2,61$ и $17,60 \pm 2,30$ мкг/мл соответственно.

Экологические функции актиномицетов в природе связаны с разложением трудногидролизуемых биополимеров, значительная доля которых представлена целлюлозой. Целлюлолитическую активность ассоциированных

с левзеей стрептомицетов определяли в тесте с конго красным. В зависимости от величины зоны деструкции КМЦ, изоляты объединяли в группы со слабой (тест-зона не более 20 мм), умеренной (тест-зона изменяется от 21 до 34 мм) и сильной (тест-зона не менее 35 мм) активностью. Стрептомицетные комплексы ризосферы и ризопланы по долевого участию представителей каждой из групп различались незначительно (рис. 6).

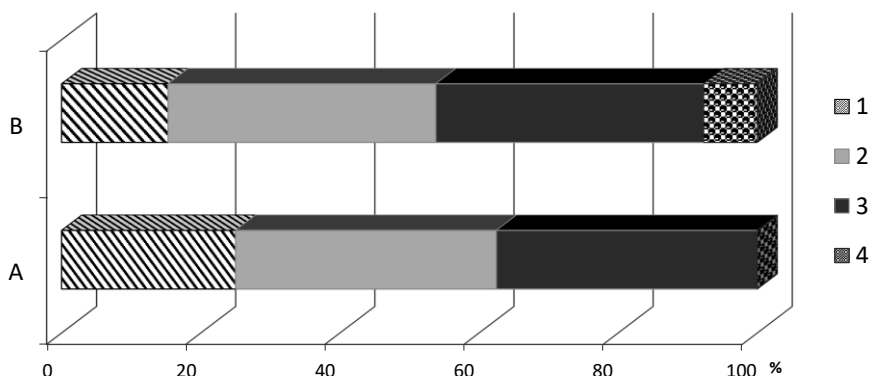


Рис. 6. Долевое соотношение в ризосфере (А) и ризоплане (В) левзеи сафлоровидной стрептомицетов со слабой – 1, умеренной – 2, сильной целлюлолитической активностью – 3 и неактивных – 4 /

Fig. 6. The proportion in the rhizosphere (A) and rhizoplane (B) of the leuzea safflower streptomyces with weak – 1, moderate – 2, strong cellulolytic activity – 3 and inactive – 4

Абсолютное большинство изолятов из обоих микролокусов (по 76 %) проявили умеренную и сильную активность в деструкции КМЦ. Слабой целлюлолитической способностью характеризовались 25 % штаммов, выделенных из ризосферы, и 15,3 % изолятов из ризопланы. Лишь один изолят *Streptomyces* sp. 4Ls13, выделившийся при скрининге продуцентов антифунгальных соединений и ауксинов, дал отрицательный результат в тесте с конго красным.

Заключение. Таким образом, комплекс стрептомицетов, связанных с левзеей сафлоровидной, представляет собой ценный ресурс для получения новых микробных источников биоактивных природных веществ: ауксинов, антифунгальных соединений, ферментов целлюлазного комплекса. Показано, что среди изолятов из ризопланы левзеи чаще, чем среди ризосферных изолятов, встречаются активные продуценты ИУК и антагонисты меланизированных грибов *Alternaria* sp. и *Bipolaris sorokiniana*. Актинобиота корней левзеи сафлоровидной отличается высокой представлен-

ностью целлюлолитически активных стрептомицетов. Выявлены перспективные для химического изучения образуемых антибиотиков штаммы *Streptomyces* sp. 4Ls13, 4Ls1, 2Ls9, 2Ls13, ферментов целлюлазного комплекса – *Streptomyces* sp. 2Ls1, 2Ls4, 2Ls14, 4Ls11, 4Ls19, индольных соединений – *Streptomyces* sp. 4Ls13, 4Ls16, 4Ls7 и 4Ls5, которые могут найти практическое применение в связи с созданием биопрепаратов для стимуляции роста и защиты растений. Очевидно, процесс разработки и внедрения биопрепаратов в сельскохозяйственное производство потребует проведения широкого спектра дополнительных исследований, направленных на решение генно-молекулярных, физиолого-биохимических и технологических задач. Вместе с тем полученные результаты стимулируют интерес к дальнейшему изучению микробиоты, ассоциированной с лекарственными растениями, для лучшего понимания тех возможностей, которые открывает углубленный анализ микробиома в этой специфической экологической нише.

References

1. Hamed J., Mohammadipanah F. Biotechnological application and taxonomical distribution of plant growth promoting actinobacteria. Journal of industrial microbiology & biotechnology. 2015;42(2):157-171. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10295-014-1537-x>
2. Schmidt T. M. Encyclopedia of Microbiology. Academic Press, 2019. pp. 334-345. URL: <https://books.google.ru/books?hl=ru&lr=&id=7fvDDwAAQBAJ&oi>
3. Miliute O., Buzaite D., Baniulis V. Stanys Bacterial endophytes in agricultural crops and their role in stress tolerance: a review. Zemdirbyste-Agriculture. 2015;102(4):465-478. DOI: <https://doi.org/10.13080/z-a.2015.102.060>
4. Wardecki T., Brötz E., De Ford C., von Loewenich F. D., Rebets Y., Tokovenko B., Merfort I. Endophytic Streptomyces in the traditional medicinal plant *Arnica montana* L.: secondary metabolites and biological activity. Antonie van Leeuwenhoek. 2015;108(2):391-402. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10482-015-0492-5>
5. Nalini M. S., Prakash H. S. Diversity and bioprospecting of actinomycete endophytes from the medicinal plants. Letters in applied microbiology. 2017;64(4):261-270. DOI: <https://doi.org/10.1111/lam.12718>
6. Dochhil H., Dkhar M. S., Barman D. Seed germination enhancing activity of endophytic Streptomyces isolated from indigenous ethno-medicinal plant *Centella asiatica*. Int J Pharm Biol Sci. 2013;4(1):256-262.
7. Igarashi Y. Screening of novel bioactive compounds from plant-associated actinomycetes. Actinomycetolog. 2004;18:63-66. DOI: https://doi.org/10.3209/saj.18_63
8. El-Shatoury S., El-Krally O., El-Kazzaz W., Dewedar A. Antimicrobial activities of Actinomycetes inhabiting *Achillea fragrantissima* (Family: Compositae). Egypt J Nat Toxins. 2009;6(2):1-15. URL: https://www.academia.edu/894923/ANTIMICROBIAL_ACTIVITIES_OF_ACTINOMYCETES_INHABITING_ACHILLEA_FRAGRANTISSIMA_FAMILY_COMPOSITAE
9. Gangwar M., Dogra S., Gupta U. P., Kharwar R. N. Diversity and biopotential of endophytic actinomycetes from three medicinal plants in India. African J Microbiol Res. 2014;8(2):184-191. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJMR2012.2452>
10. Тимофеев Н. П. Левзея сафлоровидная: проблемы интродукции и перспективы использования в качестве биологически активных добавок. Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. М.: РАЕН, 2001. С. 108-134. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30640821&pff=1>
- Timofeev N. P. *Leuzea carthamoides*: introduction questions and application prospects as biologically active components. *Netradiitsionnye prirodnye resursy, innovatsionnye tekhnologii i produkty*. Moscow: RAEN, 2001. pp. 108-134. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30640821&pff=1>

11. Белодубровская Г. А. Большой энциклопедический словарь лекарственных растений. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2015. 759 с.
Belodubrovskaya G. A. Big encyclopedic dictionary of medicinal plants. Saint-Petersburg: *SpetsLit*, 2015. 759 p.
12. Широких И. Г., Назарова Я. И., Огородникова С. Ю., Баранова Е. Н. Изменение структуры комплексов актиномицетов в ризосфере трансгенных по гену Fe-COD 1 линий томата (*Solanum lycopersicum* L., SOLANACEAE, SOLANALES). Поволжский экологический журнал. 2016;(3):341-351.
DOI: <https://doi.org/10.18500/1684-7318-2016-3-341-351>
- Shirokikh I.G., Nazarova Y.I., Ogorodnikova S.Yu., Baranova E.N. Changes in the structure of the rhizosphere complexes of actinomycetes of transgenic tomato (*Solanum lycopersicum* L., SOLANACEAE, SOLANALES) with the gene Fe-SOD 1. *Povolzhskiy ekologicheskiy zhurnal* = Povolzhskiy Journal of Ecology. 2016;(3):341-351. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.18500/1684-7318-2016-3-341-351>
13. Зенова Г. М. Почвенные актиномицеты. М.: МГУ, 1992. 78 с.
Режим доступа: <https://bookree.org/reader?file=1222199>
- Zenova G. M. Soil actinomycetes. Moscow: *MGU*, 1992. 78 p. URL: <https://bookree.org/reader?file=1222199>
14. Гаузе Г. Ф. Определитель актиномицетов. Роды *Streptomyces*, *Streptovorticillium*, *Chainia*. М.: Наука, 1983. 248 с. Режим доступа: <https://www.bookvoed.ru/files/3515/10/97/91.pdf>
- Gauze G. F. Determinant of actinomycetes. Genera *Streptomyces*, *Streptovorticillium*, *Chainia*. Moscow: *Nauka*, 1983. 248 p. URL: <https://www.bookvoed.ru/files/3515/10/97/91.pdf>
15. Osterman I. A., Komarova E. S., Shiryayev D. I., Korniltsev I. A., Khven I. M., Lukyanov D. A., Tashlitsky V. N., Serebryakova M. V., Efremenkova O. V., Ivanenkov Ya. A., Bogdanov A. A., Sergiev P. V., Dontsova O. A., Sorting Out Antibiotics' Mechanisms of Action: a Double Fluorescent Protein Reporter for High-Throughput Screening of Ribosome and DNA Biosynthesis Inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(12):7481-7489. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.02117-16>
16. Libbert E., Risch H. Interactions between plants and epiphytic bacteria regarding their auxin metabolism. *Physiologia Plantarum*. 1969;22(1):51-58. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1969.tb07840.x>
17. Teather R. M., Wood P. J. Use of congo-red polysaccharide interaction in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria the bovine rumen. *Appl. Environ Microbiol*. 1982;43(4):777-780.
DOI: <https://doi.org/10.1128/aem.43.4.777-780.1982>
18. Felnagle E. A., Jackson E. E., Chan Y. A., Podevels A. M., Berti A. D., McMahon M. D., Thomas M. G. Nonribosomal peptide synthetases involved in the production of medically relevant natural products. *Mol Pharm*. 2008;5(2):191-211. DOI: <https://doi.org/10.1021/mp700137g>
19. Risdian C., Mozef T., Wink J. Biosynthesis of polyketides in *Streptomyces*. *Microorganisms*. 2019;7(5):124. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7050124>
20. Bentley S. D., Chater K. F., Cerdeno-Tarraga A-M., Challis G. L., Thomson N. R. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*. 2002;417:141-147.
DOI: <https://doi.org/10.1038/417141a>
21. Chiang Y-M., Chang S-L., Oakley B.R., Wang CCC. Recent advances in awakening silent biosynthetic gene clusters and linking orphan clusters to natural products in microorganisms. *Curr Opin Chem Biol*. 2011;15:137-143. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.10.011>
22. Ayuso-Sacido A., Genilloud O. New PCR primers for the screening of NRPS and PKS-I systems in actinomycetes: detection and distribution of these biosynthetic gene sequences in major taxonomic groups. *Microb Ecol*. 2005;49(1):10-24. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00248-004-0249-6>
23. Hertweck C., Luzhetskyy A., Rebets Y., Bechthold A. Type II polyketide synthases: Gaining a deeper insight into enzymatic teamwork. *Nat. Prod. Rep*. 2007;24:162-190. DOI: <https://doi.org/10.1039/b507395m>
24. Qin S., Li J., Chen H. H., Zhao G. Z., Zhu W. Y., Jiang C. L., Li W. J. Isolation, Diversity and antimicrobial activity of rare actinobacteria from medicinal plants of tropical rain forests in Xishuangbanna. *Appl. Environ. Microbiol*. 2009;75(19):6176-6186. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.01034-09>
25. Passari A. K., Mishra V. K., Saikia R., Gupta V. K., Singh B. P. Isolation, abundance and phylogenetic affiliation of endophytic actinobacteria associated with medicinal plants and screening for their *in vitro* antimicrobial biosynthetic potential. *Front. Microbiol*. 2015;6:273. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00273>
26. Веселова С. В., Нужная Т. В., Бурханова Г. Ф., Румянцев С. Д., Касимова А. Р., Максимов И. В. Роль фитогормонов в регуляции взаимодействий между растениями и патогенами, насекомыми-вредителями, вирусами. Экобиотех: мат-лы VII Всеросс. конф. с международ. участием. Уфа: УИБ УФИЦ РАН, 2021. С. 124-128. Режим доступа: <http://ib.anrb.ru/ebt2021/ecobiotech2021.pdf>
- Veselova S. V., Nuzhnaya T. V., Burkhanova G. F., Rumyantsev S. D., Kasimova A. R., Maksimov I. V. The role of phytohormones in regulation of interactions between plants and pathogens, pests and viruses. *Ekobiotech: mat-ly VII Vseross. konf. s mezhduнарод. uchastiem*. Ufa: *UIB UFITS RAN*, 2021. pp. 124-128.
URL: <http://ib.anrb.ru/ebt2021/ecobiotech2021.pdf>

Сведения об авторах

✉ **Широких Ирина Геннадьевна**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, зав. лабораторией, ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», д. 166а, ул. Ленина, г. Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3319-2729>, e-mail: irgenal@mail.ru,

Назарова Янина Иордановна, кандидат биологических наук, научный сотрудник, ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», д. 166а, ул. Ленина, г. Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2945-5282>

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 166а, г. Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5171-2476>

Остерман Илья Андреевич, доктор химических наук, главный научный сотрудник, АНООВО «Сколково-ский институт науки и технологий», д.30, стр.1, Большой бульвар, г. Москва, Российская Федерация, 121205, ведущий научный сотрудник, Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр генетики и наук о жизни, д. 1, пр-кт Олимпийский, пгт Сириус, Краснодарский край, Российская Федерация, 354349, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7748-980X>

Белик Альбина Романовна, Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр генетики и наук о жизни, д. 1, пр-кт Олимпийский, пгт Сириус, Краснодарский край, Российская Федерация, 354349

Буюклян Юлия Андреевна, Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр генетики и наук о жизни, д. 1, пр-кт Олимпийский, пгт Сириус, Краснодарский край, Российская Федерация, 354349

Боков Никита Александрович, магистрант, лаборант-исследователь, ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», ул. Ленина 166а, г. Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1000-1192>

Широких Александр Анатольевич, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого», д. 166а, ул. Ленина, г. Киров, Российская Федерация, 610007, e-mail: priemnaya@fanc-sv.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7808-0376>

Information about the authors

✉ **Irina G. Shirokikh**, DSc in Biological Science, chief researcher, Head of the Laboratory, 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/0000-0002-3319-2729>, e-mail: irgenal@mail.ru

Yanina I. Nazarova, PhD of Biological Science, researcher, 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/0000-0002-2945-5282>

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>

Ilya A. Osterman, DSc in Chemistry, chief researcher, ANOVO "Skolkovo Institute of Science and Technology", 30, p.1, Bolshoy Boulevard, Moscow, Russian Federation, 121205, leading researcher, Sirius University of Science and Technology, Scientific Center of Genetics and Life Sciences, 1, Olympic Avenue, Sirius village, Krasnodar Territory, Russian Federation, 354349, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7748-980X>

Albina Romanovna Belik, Sirius University of Science and Technology, Scientific Center of Genetics and Life Sciences, 1, Olympic Avenue, Sirius village, Krasnodar Territory, Russian Federation, 354349

Buyuklyan Yulia Andreevna, Sirius University of Science and Technology, Scientific Center of Genetics and Life Sciences, 1, Olympic Avenue, Sirius village, Krasnodar Territory, Russian Federation, 354349

Nikita A. Bokov, Master's student, laboratory researcher, 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/0000-0002-1000-1192>

Alexander A. Shirokikh, DSc in Biological Science, 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/0000-0002-7808-0376>

✉ – Для контактов / Corresponding author