

**Идентификация и изучение свойств
Streptomyces geldanamycininus ЗК9, выделенного
из почвы под зарослями борщевика Сосновского**

© 2019. Е. В. Товстик¹, к. б. н., с. н. с., доцент,

А. В. Сазанов¹, к. б. н., руководитель центра компетенций, доцент,

А. В. Бакулина², к. б. н., зав. лабораторией,

И. Г. Широких^{2,3}, д. б. н., зав. лабораторией, в. н. с.,

Т. Я. Ашихмина^{1,3}, д. т. н., профессор, г. н. с., зав. лабораторией,

¹Вятский государственный университет,

610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

²Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого,

610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, д. 166а,

³Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,

167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,

e-mail: tovstik2006@inbox.ru, awsz@mail.ru, drugaeann1@rambler.ru, irgenal@mail.ru

Антагонистически активный бактериальный штамм ЗК9 выделен из почвы под зарослями инвазивного вида *Heracleum sosnowskyi* Manden. Идентификацию штамма ЗК9 проводили с использованием культурально-морфологических признаков, а также на основе анализа фрагмента гена 16S рРНК. Установлено наибольшее сходство (98,54%) нуклеотидной последовательности штамма ЗК9 с последовательностью нуклеотидов *Streptomyces geldanamycininus* NRRL 3602 (шифр NCBI NR_043722.1). Среди спектра продуцируемых штаммом ЗК9 антибиотиков с помощью оптической спектроскопии обнаружены макбецин I (0,50 мкг/л) и валидамицин А (0,78 мкг/л). Установлена способность штамма ЗК9 к синтезу 1-(азабензимидазол-2-ил)-2,5-дигидро-3Н-пирроло[2,1-α]изоиндола – соединения, известного как ингибитор активности белка Hsp90. С помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии в экзометаболитах исследуемого штамма обнаружены пептиды, аминокислоты в количестве 145,00; ликопин – 117,62; лютеин – 19,06; фитоин – 0,97 мкг/л. В лабораторных условиях показано, что продуцируемые штаммом *S. geldanamycininus* ЗК9 вещества (летучие и диффундирующие в агар) ингибируют рост фитопатогенного гриба *Fusarium proliferatum*. В условиях совместного культивирования летучие метаболиты *S. geldanamycininus* ЗК9 замедляют радиальный рост колоний *F. proliferatum* почти в два раза. Помимо антибиотиков, штамм ЗК9 продуцирует внеклеточный фермент, разрушающий целлюлозу. На среде Гетчинсона соотношение ширины зоны роста штамма ЗК9 и образуемой им зоны разрушения карбоксиметилцеллюлозы составляет 2,5. В жидкофазной культуре *S. geldanamycininus* ЗК9 не проявил способности продуцировать ауксины (индолил-3-уксусную кислоту). В ходе исследования чувствительности *S. geldanamycininus* ЗК9 к антибиотикам установлена его резистентность к рифампицину, амоксициллину, нистатину и левомицетицину в клинически значимых концентрациях. Штамм ЗК9 проявляет чувствительность к антибиотикам, ингибирующим синтез белка (тетрациклин, канамицин, эритромицин) и синтез клеточной стенки (цефазолин, бацитрацин). Сделан вывод о том, что *S. geldanamycininus* ЗК9, благодаря наличию антибиотической активности, может противодействовать вторжению патогенных видов микроскопических грибов в прикорневую зону растений борщевика Сосновского и тем самым способствовать повышению его инвазивности.

Ключевые слова: *Streptomyces geldanamycininus*, *Heracleum sosnowskyi*, *Fusarium proliferatum*, молекулярно-генетический анализ, 16S рРНК, макбецин I, валидамицин А, антибиотикорезистентность.

**Identification and study of the properties
of *Streptomyces geldanamycininus* ЗК9, isolated from the soil
under the bush of *Heracleum sosnowskyi***

© 2019. E. V. Tovstik¹ ORCID: 0000-0003-1861-6076, A. V. Sazanov¹ ORCID: 0000-0002-6934-3330²

A. V. Bakulina² ORCID: 0000-0002-5171-2476³, I. G. Shirokikh^{2,3} ORCID: 0000-0002-3319-2729³

T. Ya. Ashikhmina^{1,3} ORCID: 0000-0003-4919-0047³

¹Vyatka State University,

36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

²Federal Agricultural Research Center of North-East named N. V. Rudnitsky,

166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,

³Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Komi Republic, Russia, 167982, e-mail: tovstik2006@inbox.ru, awsz@mail.ru, drugaeann1@rambler.ru, irgenal@mail.ru

The antagonistically active bacterial strain 3K9 was isolated from the soil under the thickets of the invasive *Heracleum sosnowskyi* Manden. species. Identification of the 3K9 strain was performed using cultural morphological traits, as well as based on the analysis of a fragment of the 16S rRNA gene. The greatest similarity (98.54%) of the nucleotide sequence of the 3K9 strain to the nucleotide sequence of *Streptomyces geldanamycininus* NRRL 3602 (Accession number NCBI NR_043722.1) was established. Machbecin I (0.50 µg/L) and validamycin A (0.78 µg/L) were detected among the spectrum of antibiotics produced by the 3K9 strain using optical spectroscopy. The ability of the 3K9 strain to synthesize 1-(azabenzimidazol-2-yl)-2,5-dihydro-3H-pyrrolo[2,1-*a*]isoindole, a compound known as an inhibitor of the activity of the Hsp90 protein, has been established. Using high performance liquid chromatography, peptides, amino acids in the amount of 145.00 µg/L were detected in the exometabolites of the studied strain; lycopene – 117.62; lutein – 19.06; phytoin – 0.97 µg/L. Under laboratory conditions, it was shown that substances produced by *S. geldanamycininus* 3K9 (volatile and agar diffusing) produced by the strain inhibit the growth of the phytopathogenic fungus *Fusarium proliferatum*. Under co-cultivation conditions, the volatile metabolites of *S. geldanamycininus* 3K9 slow down the radial growth of the colonies of *F. proliferatum* almost doubled. In addition to antibiotics, the 3K9 strain produces an extracellular enzyme that destroys cellulose. On the Hetchinson medium, the ratio of the width of the growth zone of the 3K9 strain and the carboxymethylcellulose destruction zone formed by it is 2.5. In a liquid-phase culture, *S. geldanamycininus* 3K9 did not show the ability to produce auxins (indolyl-3-acetic acid). During the study of the sensitivity of *S. geldanamycininus* 3K9 to antibiotics, its resistance to rifampicin, amoxicillin, nystatin and chloramphenicol in their clinically significant concentrations was established. Strain 3K9 shows sensitivity to antibiotics that inhibit protein synthesis (tetracycline, kanamycin, erythromycin) and cell wall synthesis (cefazolin, bacitracin). It is concluded that *S. geldanamycininus* 3K9, due to the presence of antibiotic activity, can counteract the invasion of pathogenic species of microscopic fungi into the root zone of the plants of *Heracleum sosnowskyi* and thereby increase its invasiveness.

Keywords: *Streptomyces geldanamycininus*, *Heracleum sosnowskyi*, *Fusarium proliferatum*, molecular genetic analysis, 16S rRNA, machbecin I, validamycin A, antibiotic resistance.

Наличие взаимных связей между растениями и почвой играет важную роль в функционировании наземных экосистем. Взаимодействие между ними может нести как отрицательный для растений эффект, если речь идёт о патогенных микробах, так и положительный – в случае симбионтов и деструкторов растительных остатков [1, 2].

Известно, что растения посредством корневых экссудатов способны изменять микробное окружение, внося тем самым вклад в формирование микробных сообществ почв [3]. Одновременно отдельные представители этих сообществ могут влиять на рост растений за счёт своей функциональной активности [4, 5].

Большой интерес в связи с этим вызывают вторичные метаболиты актиномицетов, для которых характерен широкий спектр биологической активности, включая фиторегуляторную [6]. Известно, что представители актиномицетов продуцируют более 70% клинически значимых антибиотиков, 80% из которых – вторичные метаболиты рода *Streptomyces* [7]. Широкое разнообразие антибиотиков стрептомицетного происхождения включает ансамицины, аминогликозиды, тетрациклины, β-лактамы, макролиды, пептиды, полиены, антрациклины, полиэферы и др. [8]. Многие из них обладают антифунгальным действием.

Целями данной работы явились идентификация и изучение физиолого-биохимических свойств штамма 3K9, выделенного из почвы под зарослями борщевика Сосновского, для выяснения возможных механизмов его антифунгальной активности.

Объекты и методы

Штамм 3K9 был выделен в чистую культуру из почвы участка массового роста борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* Manden). Местоположение участка пробоотбора – Фалёнский район Кировской области (N 58°21,558' E 51°33,533'). Для изоляции культуры использовали общепринятый метод серийных разведений с последующим высевом почвенной суспензии на казеин-глицериновый агар [9]. Очистку и хранение штамма осуществляли на минеральном агаре Гаузе 1 [10].

Идентификацию штамма 3K9 проводили согласно определителям [10, 11] и руководству [12], а также с помощью молекулярно-генетического анализа. Секвенирование фрагмента гена 16S рРНК проводили в научно-производственной компании «Синтол» (Москва). Полученную нуклеотидную последовательность сопоставляли с материалом,

депонированным в генбанке NCBI с использованием пакета программ BLAST [13]. Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК и построение филогенетического дерева осуществляли с помощью программы MAFFT [14]. Для построения дерева использовали метод объединения «ближайших соседей» – neighbor-joining (NJ). В качестве референсного (не принадлежащего к роду *Streptomyces*) организма был выбран штамм *Rhodococcus rhodochrous* DSM43274T.

Для получения экзометаболитов штамм ЗК9 культивировали в колбах Эрленмейера (250 мл) с минеральной средой Гаузе 1 (объём 50 мл) на шейкере (180–200 об/мин) в течение 7 сут при 22 °С. Культуральную жидкость центрифугировали в течение 10 мин при 7000 об/мин для отделения биомассы клеток. Супернатант однократно экстрагировали, встряхивая жидкость с равным объёмом гексана при комнатной температуре в делительной воронке в вытяжном шкафу. Экстракт (10 мл) концентрировали, реэкстрагирование проводили этиловым спиртом. Очистку и анализ этанольного экстракта проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе GILSON при следующих условиях: колонка – Ultrasil-Si (250–7,8 мм; 10 мкм) и (250–4,6 мм; 5 мкм) соответственно; подвижная фаза – 97,5% гексан + 2,5% изопропанол; скорость протока – 2,0 и 0,5 мл/мин соответственно; объём пробы, наносимый на колонку, – 2 мл и 100 мкл соответственно; детектирование – УФ при 240–280 и 260–280 нм соответственно. УФ-спектры валидамицина А и макбецина I снимали на спектрофотометре SPECORD UV VIS (Германия).

Влияние нелетучих внеклеточных метаболитов штамма ЗК9 на рост *F. proliferatum* определяли методом диффузии в агар. Влияние летучих веществ (ЛВ) штамма ЗК9 на рост гриба *F. proliferatum* исследовали с помощью двойной культуры, создавая физическое разделение между стрептомицетом и микромицетом. Для этого в центр донца чашки Петри на плотную питательную среду Чапека осуществляли однократный посев «уколом» *F. proliferatum*. В крышку чашки Петри на застывшую каплю агара помещали блочек (10 мм) газона штамма ЗК9, предварительно выращенного на плотной минеральной среде Гаузе 1. Чашку Петри закрывали, герметизируя стык плёнкой Parafilm, чтобы предотвратить утечку ЛВ. Инкубировали чашки при 27 °С. В контроле действие ЛВ штамма ЗК9 на *F. proliferatum* исключали,

помещая на крышку чашки Петри блочек стерильной минеральной среды Гаузе 1. Повторность опыта трёхкратная. Ингибирование роста гриба ЛВ штамма ЗК9 определяли путём измерения диаметра колонии *F. proliferatum* в двух взаимно перпендикулярных направлениях. Диаметр колоний учитывали через 3, 4, 5 и 7 сут после посева. Радиальную скорость роста колонии вычисляли по формуле:

$$K_r = \frac{d - d_0}{t},$$

где K_r – радиальная скорость роста колонии, мм/ч; d и d_0 – диаметр колонии в данный и начальный моменты времени, мм; t – время инкубации, час.

Целлюлолитическую активность штамма ЗК9 определяли на плотной питательной среде Гетчинсона с карбоксиметилцеллюлозой (КМЦ). О наличии целлюлолитической активности на среде с КМЦ судили по появлению зоны просветления около тестируемого изолята после окраски среды 0,1% водным раствором конго красного [15].

Определение индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) проводили в водном растворе экзометаболитов с реактивом Сальковского [16]. Выращивание штамма ЗК9 осуществляли в течение пяти суток в жидкой питательной среде Чапека с триптофаном (0,2 г/л). Культуральную жидкость, которая содержала комплекс экзометаболитов штамма ЗК9, отделяли от биомассы путём центрифугирования.

Чувствительность штамма ЗК9 к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом. Для этого использовали диски (ДИ-ПЛС-50-01, НИЦФ, Санкт-Петербург) из разных групп и классов антибиотиков, в клинически значимых концентрациях. Группа β-лактамов была представлена цефазолином (цефалоспорины), 30 мкг и амоксициллином (пенициллины), 20 мкг; макролидов – эритромицином, 15 мкг; ансамицинов – рифампицином, 5 мкг; аминогликозидов – канамицином, 30 мкг; группа тетрациклинов – тетрациклином (класс поликетиды), 30 мкг; хлорамфениколов – левомецетином, 30 мкг, бацитрацины – бацитрацином, 10 Ед; полиенов – нистатином, 80 Ед.

Достоверность экспериментальных данных оценивали методами математической статистики. Расчёты, построение графиков и их описание осуществляли с помощью приложений *Microsoft Office Word* и *Excel*, построение структурных формул антибиотиков – *ChemOffice*.

Результаты и обсуждение

Штамм ЗК9 формирует спиральные цепочки спор. На минеральном агаре 1 воздушный мицелий (ВМ) штамма имеет цвет от белого до серого, отдельные колонии со временем чернеют, благодаря автолизу; субстратный мицелий (СМ) – бесцветный. На овсяном и глицерин-нитратном агаре цвет ВМ – от белого до серого, СМ – бесцветный, растворимые пигменты отсутствуют. Меланоидные пигменты не образуются. На органическом агаре 2 цвет ВМ – от белого до серого, СМ бесцветный, образуется слабый желтоватый пигмент. На основании культуральных и морфологических признаков, штамм ЗК9 был первоначально отнесён к виду *Streptomyces hygroscopicus* [10].

Таксономическая идентификация, основанная на анализе фрагмента гена 16S рРНК, показала, что штамм ЗК9 наиболее близок (98,54% сходства) по последовательности гена 16S рРНК к депонированному в NCBI штамму *S. geldanamycininus* NRRL 3602 (номер доступа в генбанке NCBI NR_043722.1) (табл.).

В результате множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК и построения филогенетического дерева было показано, что достоверность кластеризации штамма ЗК9 с *S. geldanamycininus* NRRL 3602 составляет 97% (рис. 1). Дендрограмма построена на основании метода NJ с помощью программы MAFFT. Цифрами показана статистическая достоверность порядка ветвления, определённая с помощью «bootstrap»-анализа 1000 альтернативных деревьев.

Видовой статус *S. geldanamycininus* получил в 2007 г. на основании генотипического и фенотипического анализа типового штамма NRRL 3602, данного в [17]. Ранее этот штамм рассматривался как *S. hygroscopicus*

var. *geldanus*, *S. hygroscopicus* subsp. *geldanus*. Согласно данным литературы, *S. geldanamycininus* способен продуцировать гелданамицин (молекулярная формула $C_{29}H_{40}N_2O_9$) – противоопухолевый антибиотик 1,4-бензохинона ансамицин, один из первых открытых ингибиторов белка Hsp90, представляющего интерес в связи с поиском противоопухолевых средств [18].

Среди антибиотиков, продуцируемых *S. geldanamycininus* ЗК9, с помощью оптической спектроскопии был обнаружен макбецин I (CAS 73341-72-7, молекулярная формула $C_{30}H_{42}N_2O_8$) в количестве 0,50 мкг/л. Как и гелданамицин, макбецин I – это антибиотик ансамициновой группы, способный ингибировать белок Hsp90 [19] (рис. 2).

Однако от гелданамицина, макбецин I отличается большей растворимостью, стабильностью и аффинностью [20].

Помимо макбецина I, среди экзометаболитов штамма ЗК9 обнаружен ещё один антибиотик группы аминогликозидов – валидамицин А (CAS 37248-47-8, молекулярная формула $C_{20}H_{35}NO_{13}$) в количестве 0,78 мкг/л. Он известен как мощный ингибитор активности трегалазы у грибов, а также растений и насекомых [21]. В связи с этим валидамицин А широко используют как мощный противогрибковый агроантибиотик [22].

В меньшем количестве (0,06 мкг/л), чем макбецин I и валидамицин А, в супернатанте штамма ЗК9 обнаружен 1-(азабензимидазол-2-ил)-2,5-дигидро-3Н-пирроло[2,1- α]-изоиндол. Данные о микробной природе этого соединения отсутствуют. В литературе оно упоминается как производное изоиндолов (бензизоксазола), полученное путём химического синтеза и рекомендуемое к использованию в качестве ингибитора активности белка Hsp90 [23]. Таким образом, в нашей работе,

Таблица / Table

Ближайшие родственники штамма ЗК9 в базе данных Genbank (на основании сопоставления фрагментов гена 16S рРНК) / The closest relatives of the ЗК9 strain in the Genbank database (based on a comparison of fragments of the 16S rRNA gene)

Родственные штаммы Related strains	Номер доступа Genbank Accession Number	Сходство Similarity, %
<i>Streptomyces geldanamycininus</i> NRRL 3602	NR_043722.1	98,54
<i>Streptomyces sporoclivatus</i> DSM 41461	NR_117954.1	98,43
<i>Streptomyces sporoclivatus</i> NBRC 100767	NR_041413.1	98,43
<i>Streptomyces antimycoticus</i> NBRC 12839	NR_041080.1	98,43
<i>Streptomyces sporoclivatus</i> LMG 20312	AJ781369.1	98,32
<i>Streptomyces castelarensis</i> DSM 40830	NR_117953.1	98,32
<i>Streptomyces castelarensis</i> NBRC 15875	NR_112479.1	98,32

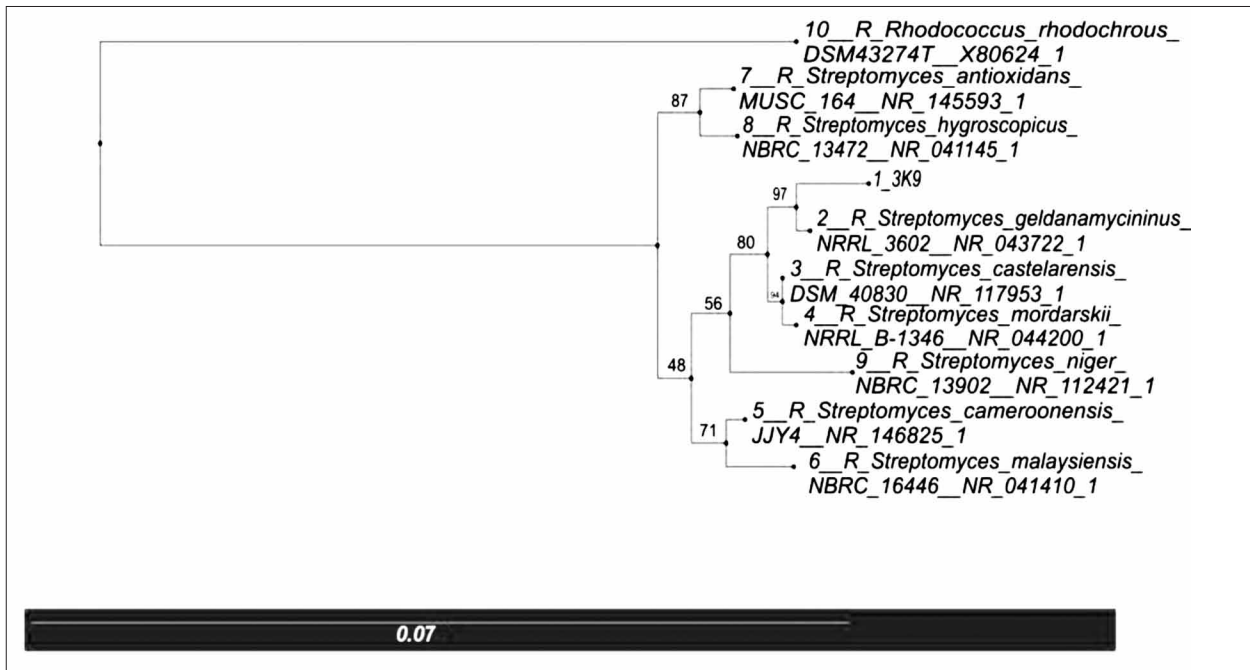


Рис. 1. Филогенетическое дерево, полученное на основании анализа последовательностей фрагмента гена 16S рРНК исследуемого штамма и его ближайших родственников, найденных сервисом BLAST
Fig. 1. Phylogenetic tree, obtained on the basis of sequence analysis of the 16S rRNA gene fragment of the test strain and its immediate relatives, found by the BLAST service

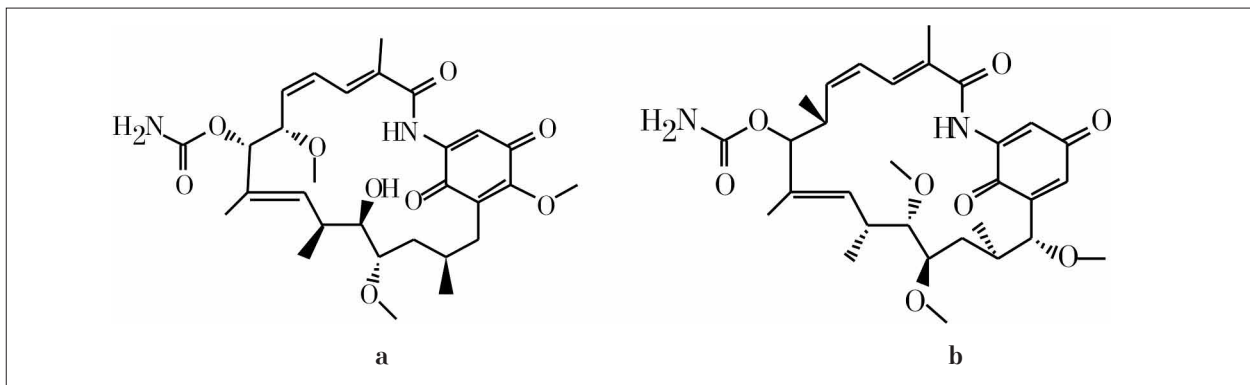


Рис. 2. Структурные формулы гелданамицина (а) и макбецина I (b)
Fig. 2. Structural formulas of geldanamycin (a) and mabcicine I (b)

по-видимому, впервые обнаружен биосинтез данного соединения актинобактерией *S. geldanamycininus* ЗК9. Способность природного изолята к продукции данного соединения может иметь практические перспективы, в связи с применением в качестве действующего вещества противораковых препаратов.

Помимо антибиотиков, среди экзометаболитов штамма ЗК9 с помощью ВЭЖХ обнаружены характерные для бактерий соединения. Среди них – пептиды, аминокислоты в количестве 145,00; такие каротиноидные пигменты, как ликопин – 117,62 и лютеин – 19,06, а также предшественник ликопина – фитоин – 0,97 мкг/л.

Известно, что в естественной среде, в условиях ограниченных пищевых ресурсов, антибиотики необходимы бактериям для ингибирования конкурентов. Для проверки наличия антифунгальной активности у штамма *S. geldanamycininus* ЗК9, продуцирующего антибиотики, определяли его антагонистическое действие в отношении гриба *F. proliferatum*. С помощью метода диффузии в агар установлено ингибирующее действие экзометаболитов исследуемого штамма стрептомицета на рост *F. proliferatum*. Средняя величина зоны ингибирования роста *F. proliferatum* составила (24±1) мм.

В последнее время, при создании микробных средств защиты растений от фитопато-

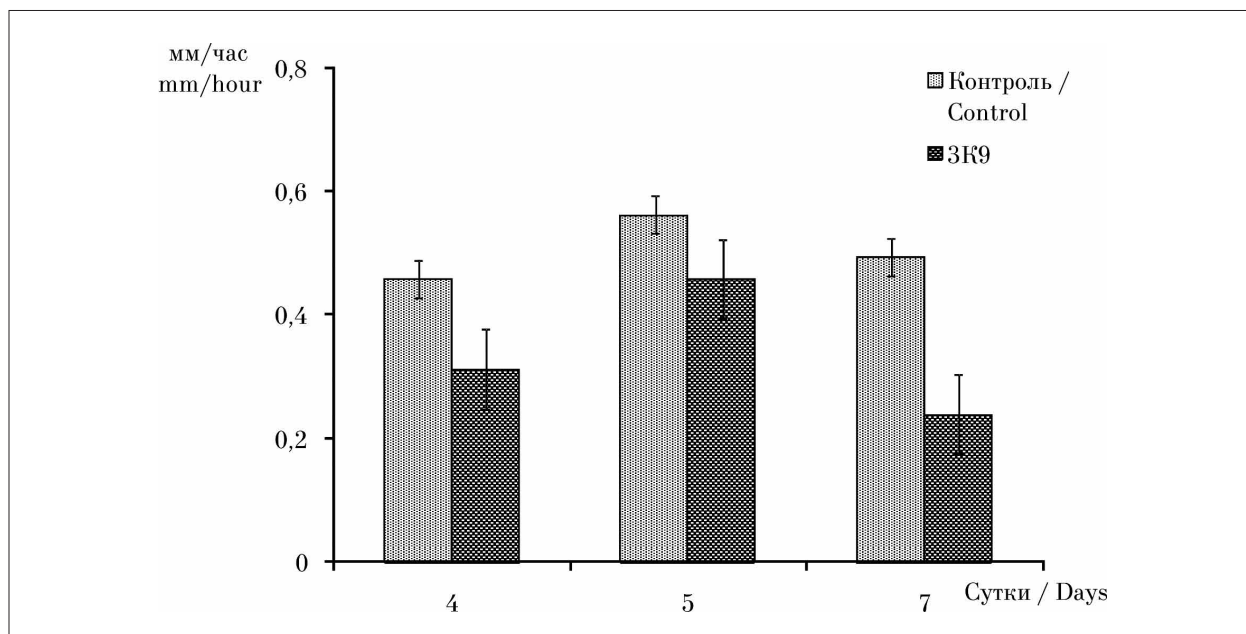


Рис. 3. Динамика скорости радиального роста *F. proliferatum* под действием летучих веществ *S. geldanamycininus* 3K9
Fig. 3. Dynamics of the rate of radial growth of *F. proliferatum* under the action of volatile substances *S. geldanamycininus* 3K9

генных грибов, особое внимание исследователей привлекают летучие органические соединения в составе вторичных метаболитов [24, 25]. Представляя собой липофильные вещества с высоким давлением паров, в отличие от растворимых соединений, они способны свободно проникать через биологические мембраны, диффундировать через воздушные и газонаполненные поры в почве [26]. В ходе бесконтактного тестирования *S. geldanamycininus* 3K9 на наличие летучих метаболитов было выявлено ингибирование роста *F. proliferatum*.

На 4–5–7-е сут совместного культивирования скорость радиального роста *F. proliferatum* под действием летучих веществ *S. geldanamycininus* 3K9 была ниже, чем в контроле на 32–19–51,6% соответственно (рис. 3).

Способность *S. geldanamycininus* 3K9 к продукции антифунгальных метаболитов оценивали не только с точки зрения синтеза антибиотиков, но и гидролитических ферментов – экзоцеллюлаз. В ходе исследования целлюлолитической активности на среде Гетчинсона с КМЦ, регистрировали среднее значение ширины зоны разрушения КМЦ около тестируемого изолята после окраски среды 0,1% водным раствором конго красного, равное 8 ± 1 мм. Соотношение ширины зоны роста *S. geldanamycininus* 3K9 и образуемой им зоны просветления было равно 2,5.

В жидкофазной культуре *S. geldanamycininus* 3K9 не был способен к продуцированию индолил-3-уксусной кислоты (ауксин).

Известно, что продуцирование антибиотиков и устойчивость к ингибированию антибиотиками – две черты, которые необходимы микроорганизмам для выживания в естественных средах обитания [27]. Кроме этого, антибиотикорезистентность выступает как механизм защиты продуцента от собственных антибиотиков [28]. Исследование чувствительности штамма 3K9 к антибиотикам, выявило его резистентность к 4 из 9 исследуемых антибиотиков. Среди них полусинтетические антибиотики – рифампицин, амоксициллин, нистатин и синтетический антибиотик – левомицетин.

Штамм *S. geldanamycininus* 3K9 проявлял чувствительность к антибиотикам, ингибирующим синтез белка (тетрациклин, канамицин, эритромицин) и синтез клеточной стенки (цефазолин, бацитрацин). В наибольшей степени рост штамма 3K9 ограничивался канамицином (зона ингибирования 50 ± 1 мм). Вторым по силе действия среди антибиотиков, ингибирующих синтез белка, был эритромицин. Несмотря на то, что его исследуемая доза (15 мкг), была вдвое меньше, чем у тетрациклина, эритромицин (31 ± 1 мм) ингибировал рост *S. geldanamycininus* 3K9 в большей степени, чем тетрациклин (17 ± 1 мм). Зона ингибирования

роста *S. geldanamycininus* ЗК9 цефазолином составила 20 ± 1 , бацитрацином – 37 ± 1 мм.

Выводы

На основании комплекса культуральных, морфологических и молекулярно-генетических признаков установлена принадлежность штамма ЗК9 к виду *S. geldanamycininus* (или *S. hygrosopicus* var. *geldanus*, или *S. hygrosopicus* subsp. *geldanus*). Исследуемый штамм способен к синтезу макбейцина I и валидамицина A. Наличие антибиотической активности у исследуемого штамма ЗК9 сопряжено с антибиотикорезистентностью к 4 из 9 тест-антибиотиков следующих классов – β-лактамы, ансамицины, хлорамфениколы, полиены. Кроме антибиотиков, диффундирующих в агар, штамм ЗК9 продуцирует ЛВ, способные ингибировать рост фитопатогенного микромицета *F. proliferatum*, а также экзоцеллюлазы, о чём свидетельствует разрушение КМЦ в тесте с конго красным. Учитывая то, что штамм *S. geldanamycininus* ЗК9 выделен на участках массового роста *H. sosnowskyi*, он мог косвенно влиять на ход непреднамеренной интродукции борщевика Сосновского за счёт ограничения размножения видоспецифичных растительных патогенов в почве.

Практический интерес также может представлять впервые выявленная у исследованного штамма *S. geldanamycininus* ЗК9 способность к биосинтезу 1-(азабензимидазол-2-ил)-2,5-дигидро-3H-пирроло[2,1-α]изоиндола, ранее получаемого только путём химического синтеза и используемого в качестве ингибитора активности белка Hsp90, участвующего в онкогенезе эукариотических клеток.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых учёных – кандидатов наук (МК-2880.2018.5).

References

1. Wardle D.A. Communities and ecosystems: linking the aboveground and belowground components. UK. South Yorkshire. Sheffield: University of Sheffield, 2002. V. 34. 392 p.
2. Klironomos J.N. Feedback with soil biota contributes to plant rarity and invasiveness in communities // *Nature*. 2002. V. 417. No. 6884. P. 67–70. doi: 10.1038/417067a
3. Badri D.V., Vivanco J.M. Regulation and function of root exudates // *Plant Cell Environ.* 2009. V. 32 (6). P. 666–681. doi: 10.1111/j.1365-3040.2008.01926.x

4. Ryu C.M., Farag M.A., Hu C.H., Reddy M.S., Wie H.X., Pare P.W., Kloepper J.W. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis* // *Proc. Natl. Acad. of Sci. USA*. 2003. V. 100 (14). P. 4927–4932. doi: 10.1073/pnas.0730845100

5. Kai M., Crespo E., Cristescu S.M., Harren F.J.M., Francke W., Piechulla B. *Serratia odorifera*: analysis of volatile emission and biological impact of volatile compounds on *Arabidopsis thaliana* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2010. V. 88 (4). P. 965–976. doi: 10.1007/s00253-010-2810-1

6. Čihák M., Kameník Z., Šmídová K., Bergman N., Benada O., Kofroňová O., Petříčková K., Bobek J. Secondary metabolites produced during the germination of *Streptomyces coelicolor* // *Front. Microbiol.* 2017. V. 8 (2495). P. 1–13. doi: 10.3389/fmicb.2017.02495

7. Demain A.L. From natural products discovery to commercialization: a success story // *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2006. V. 33. P. 486–495. doi: 10.1007/s10295-005-0076-x

8. Ceylan O., Okmen G., Ugur A. Isolation of soil *Streptomyces* as source antibiotics active against antibiotic-resistant bacteria // *EurAsian Journal of BioSciences*. 2008. V. 2. P. 73–82.

9. Dobrovolskaya T.G., Golovchenko A.V., Lysak L.V., Zenova G.M. Physico-chemistry and biology of peat. Methods for assessing the number and diversity of bacterial and actinomycete complexes of peat soils: a training manual. Tomsk: Izdatelstvo Tomskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo univervisteta, 2010. 97 p. (in Russian).

10. Gauze G.F., Preobrazhenskaya T.P., Sveshnikova M.A., Terekhova L.P., Maksimova T.S. Key to *Actinomycetes*. Moskva: Nauka, 1983. 248 p. (in Russian).

11. Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Stanley J.T., Williams S.T. *Bergey's manual determinative bacteriology*. Baltimore: Williams and Wilkins Co, 1994. 787 p.

12. The prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria. Ecophysiology, isolation, identification, applications / Eds. A. Balows, H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, K.-H. Schleifer. N.Y.: Springer-Verlag, 1991. P. 921–1157.

13. Basic local alignment search tool [Internet resource] <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/> (Accessed: 10.02.2019).

14. MAFFT version 7. Multiple alignment program for amino acid or nucleotide sequences [Internet resource] <https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/> (Accessed: 10.02.2019).

15. Teather R.M., Wood P.J. Use of Congo red-poly-saccharide interaction in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria the bovine rumen // *Appl. Environ. Microbiol.* 1982. V. 43 (4). P. 777–780.

16. Meudt W.J., Gaines T.P. Studies on the oxidation of indole-3-acetic acid by peroxidase enzymes. I. Colorimetric determination of indole-3-acetic acid oxidation products // *Plant Physiology*. 1967. V. 42 (10). P. 1395–1399.

17. Goodfellow M., Kumar Y., Labeda D.P., Sembiring L. The *Streptomyces violaceusniger* clade: a home for *Streptomyces* with rugose ornamented spores // *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2007. V. 92 (2). P. 173–199. doi: 10.1007/s10482-007-9146-6
18. De Boer C., Meulman P.A., Wnuk R.J., Peterson D.H. Geldanamycin, a new antibiotic // *J. Antibiot. (Tokyo)*. 1970. V. 23 (9). P. 442–447.
19. Smirnov A.N. Molecular biology of progesterone // *Rossiyskiy khimicheskiy zhurnal*. 2005. V. XLIX. No. 1. P. 64–74 (in Russian).
20. Martin C.J., Gaisser S., Challis I.R., Carletti I., Wilkinson B., Gregory M., Prodromou C., Roe S.M., Pearl L.H., Boyd S.M., Zhang M.Q. Molecular characterization of macbecin as an Hsp90 inhibitor // *J. Med. Chem.* 2008. V. 51 (9). P. 2853–2857. doi: 10.1021/jm701558c
21. Müller J., Boller T., Wiemken A. Effects of validamycin A, a potent trehalase inhibitor, and phytohormones on trehalose metabolism in roots and root nodules of soybean and cowpea // *Planta*. 1995. V. 197 (2). P. 362–368.
22. Iwasa T., Yamamoto H., Shibata M. Studies on validamycins, new antibiotics. I *Streptomyces hygroscopicus* var. *limoneus* nov. var., validamycin-producing organism // *The Journal of Antibiotics*. 1970. V. 23 (12). P. 595–602.
23. Patrik M., Lyuk B., Dide B., Shantal K., Fransua V., Erik B. New derivatives of isoindoles, compositions containing them, their preparation and pharmaceutical use, in particular as inhibitors of the activity of the Hsp90 chaperone protein // Patent RU 2375361 C2. Application: 2007141398/04. 05.04.2006. Date of publication: 20.05.2009. Bull. 34 (in Russian).
24. Wan M., Li G., Zhang J., Jiang D., Huang H.C. Effect of volatile substances of *Streptomyces platensis* F-1 on control of plant fungal diseases // *Biological Control*. 2008. V. 46 (3). P. 552–559. doi: 10.1016/j.biocontrol.2008.05.015
25. Wu Y., Yuan J., Yaoyao E., Raza W., Shen Q., Huang Q. Effects of volatile organic compounds from *Streptomyces albulus* NJZJSA2 on growth of two fungal pathogens // *J. Basic. Microbiology*. 2015. V. 55 (9). P. 1104–1117. doi: 10.1002/jobm.201400906
26. Tyc O., Song C., Dickschat J.S., Vos M., Garbeva P. The ecological role of volatile and soluble secondary metabolites produced by soil bacteria // *Trends. Microbiol.* 2017. V. 25 (4). P. 280–292. doi: 10.1016/j.tim.2016.12.002
27. Kinke L.L. Sympatric inhibition and niche differentiation suggest alternative coevolutionary trajectories among *Streptomyces* // *ISME J.* 2014. V. 8 (2). P. 249–256. doi: 10.1038/ismej.2013.175
28. Mak S., Xu Y., Nodwell J.R. The expression of antibiotic resistance genes in antibiotic-producing bacteria // *Mol. Microbiology*. 2014. V. 93 (3). P. 391–402. doi: 10.1111/mmi.12689