

Идентификация двух ризосферных изолятов стрептомицетов и изучение *in vitro* их колонизирующей активности

© 2019. Я. И. Назарова¹, н. с., аспирант,
И. Г. Широких^{1,2,3}, д. б. н., в. н. с., профессор,
А. В. Бакулина¹, к. б. н., зав. лабораторией, Е. Н. Баранова⁴, к. б. н., в. н. с.,
Т. Я. Ашихмина^{2,3}, д. т. н., профессор, г. н. с., зав. лабораторией,
¹ФАНЦ Северо-Востока им. Н. В. Рудницкого,
610007, Россия, г. Киров, ул. Ленина, д. 166 а,
²Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,
³Вятский государственный университет,
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,
⁴ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии,
127550, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 42,
e-mail: irgenal@mail.ru

Разработка экологически безопасных биологических препаратов для защиты сельскохозяйственных культур от поражения вредоносными грибами и бактериями имеет особую актуальность в связи с массовым заселением пахотных почв Российской Федерации токсигенными и фитопатогенными микроорганизмами. Из ризосферы растений семейства Solanaceae – томата (*Solanum lycopersicum* L.) и табака (*Nicotiana tabacum* L.) – были изолированы два штамма актинобактерий, один из которых проявил фиторегуляторное (ТК-5), другой – антагонистическое действие в отношении тест-культур грибов и бактерий (Т-2-20). По результатам секвенирования фрагмента гена 16S рРНК и сравнительного анализа полученных нуклеотидных последовательностей с имеющимися в базе данных GenBank, установлено филогенетическое положение изолятов *Streptomyces flavogriseus* ТК-5 и *S. anulatus* Т-2-20 рода *Streptomyces*, семейства Streptomycetaceae, порядка Actinomycetales, класса Actinobacteria. Для оценки перспектив их практического использования выясняли *in vitro* способность изолятов колонизировать ткани и органы картофеля (*Solanum tuberosum* L.), как представителя того же семейства. Показано, что спустя 35 сут с момента инокуляции микрочеренков, стрептомицеты обнаруживались в листьях, стеблях и корнях меристемных растений картофеля. Плотность заселения отдельных органов варьировала от сотен до десятков миллионов КОЕ/г воздушно-сухой массы, в зависимости от штамма и его локализации в фитосфере. Факт колонизации корней актиномицетным мицелием подтвержден результатами сканирующей электронной микроскопии. Численность обоих штаммов после поверхностной отмывки водой снижалась в следующем порядке (КОЕ/г): инокулированные листья (10^7 – 10^9), корни (10^6 – 10^7), листья (10^5 – 10^6), стебли (10^2 – 10^4). Различия между штаммами в колонизирующей способности связаны, очевидно, с продукцией одним из них (ТК-5) лектинов (титры геммагглютинации 1:10–1:25) – метаболитов, участвующих в формировании ассоциативного взаимодействия мицелиальных прокариот с растением. Сравнительный анализ морфометрических показателей растений показал, что колонизация стрептомицетами не оказала негативного влияния на рост и развитие картофеля *in vitro* и *ex vitro*. Полученные результаты дают основание к использованию изученных изолятов *S. flavogriseus* ТК-5 и *S. anulatus* Т-2-20 при создании экологически безопасных биопрепаратов и агротехнологий.

Ключевые слова: *Streptomyces*, таксономическое положение, 16SpРНК, Solanaceae, ризосфера, филлосфера, колонизация, прокариотный мицелий, морфометрические показатели.

Identification of two strains of streptomycetes from the rhizosphere and *in vitro* study of their colonizing activity

© 2019. Ya. I. Nazarova¹ ORCID: 0000-0002-2945-5282, I. G. Shirokikh^{1,2,3} ORCID: 0000-0002-3319-2729,
A. V. Bakulina¹ ORCID: 0000-0002-5171-2476, E. N. Baranova⁴ ORCID: 0000-0001-9832-3948,
T. Ya. Ashikhmina^{2,3} ORCID: 0000-0003-4919-0047

¹Federal Scientific Agricultural Center of the North-East,
166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,
²Vyatka State University,
36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

³Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Branch of RAS, 28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,
⁴All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, 42, Timiryazevskaya St., Moscow, Russia, 127550,
 e-mail: irgenal@mail.ru

The development of environmentally safe biological preparations to protect crops from harmful fungi and bacteria is of particular relevance in connection with the mass settlement of arable soils of the Russian Federation by toxigenic and phytopathogenic microorganisms. From the rhizosphere of plants of the family Solanaceae – tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) – two strains of actinobacteria were isolated, one of which showed aphytoregulatory (TK-5), the other – antagonistic action against test cultures of fungi and bacteria (T-2-20). According to the results of sequencing of the 16S rRNA gene fragment and comparative analysis of the nucleotide sequences obtained with those available in the GenBank database, the phylogenetic position of isolates was established: *Streptomyces flavogriseus* TK-5 and *S. anulatus* T-2-20 of the *Streptomyces* genus, the Streptomycetaceae family, of the order Actinomycetales, class Actinobacteria. To assess the prospects of their practical use, the ability of isolates to colonize potato tissues and organs (*Solanum tuberosum* L.) as a representative of the same family was investigated in vitro. It is shown that after 35 days since inoculation, streptomycetes were found in the leaves, stem and roots meristem potato plants. The population density of individual organs varied from hundreds to tens of millions of CFU/g air dry mass, depending on the strain and its localization in the phytosphere. The fact of colonization of roots by actinomycetes mycelium is confirmed by the results of scanning electron microscopy. The number of both strains, after surface washing with water, decreased in the following order (CFU/g): inoculated leaf (10^7 – 10^9), roots (10^6 – 10^7), leaves (10^5 – 10^6), stems (10^2 – 10^4). The differences between the strains in colonizing capacity are obviously related to the production of one of them (TK-5) lectins (hemagglutination titers 1:10–1:25) – metabolites involved in the formation of associative interaction of mycelial prokaryotes with the plant. Comparative analysis of morphometric parameters of plants showed that the colonization by streptomycetes did not have a negative impact on the growth and development of potatoes in vitro and ex vitro. The obtained results provide a basis for the use of the studied isolates *S. flavogriseus* TK-5 and *S. anulatus* T-2-20 in the creation of environmentally friendly biological products and agricultural technologies.

Keywords: *Streptomyces*, taxonomic position, 16S rRNA, *Solanaceae*, rhizosphere, phyllosphere, colonization, prokaryotic mycelium, morphometric parameters.

Особое внимание при разработке биопестицидов привлекают практически неограниченные метаболические возможности представителей рода *Streptomyces* – самого насыщенного в видовом отношении рода в классе *Actinobacteria*. Первоначальные знания в отношении биологии стрептомицетов были накоплены вследствие использования их антибиотического потенциала в медицине и фармакологии [1, 2]. В дальнейшем, с появлением технологий секвенирования, было установлено, что доля генома, детерминирующая продукцию вторичных метаболитов, у стрептомицетов гораздо значительнее (~ от 5 до 10%), чем у других бактерий [3]. Геномы *Streptomyces* spp. содержат множественные кластеры генов, контролирующих продукцию вторичных метаболитов. Особый интерес представляют генные кластеры, кодирующие нерибосомные пептидсинтазы (НРПС) и поликетидсинтазы (ПКС), связанные с продукцией антибиотиков [3, 4]. Отдельные штаммы несут до 30 различных генов ПКС и НРПС, но большинство из них транскрипционно неактивны в обычных условиях лабораторного культивирования [5]. Полагают, что выяснение биологических функций этих генов в природе, а также путей их активации будет

содействовать разработке штаммов, представляющих интерес для использования в защите растений и других агробiotехнологиях [6].

Для практической реализации метаболического потенциала микроорганизмов необходимым условием является способность вступать в тесные ассоциативные связи с растением-хозяином, колонизируя его ткани и органы. Популяционная структура стрептомицетов, как организмов со сложным жизненным циклом, представлена спорами и вегетативным мицелием. Сведений о способности отдельных видов и штаммов стрептомицетов в процессе мицелиального роста заселять поверхности и проникать во внутренние ткани растений в настоящее время недостаточно.

В задачи настоящей работы входило выяснение таксономического положения двух различных изолятов из ризосферы паслёновых растений и получение информации об их способности колонизировать ткани другого вида растения из этого же семейства.

Объекты и методы

Объектами исследования служили штамм ТК-5, выделенный из ризосферы томата (*Solanum lycopersicum* L.), и штамм Т-2-20 из

ризосферы табака (*Nicotiana tabacum* L.). Антагонистическую активность изолятов определяли методом диффузии в агар [7], продукцию ауксинов – с реактивом Сальковского [8], синтез лектинов – методом гемагглютинации [9].

Таксономическое положение исследуемых штаммов определяли на основе анализа фрагментов 16S рРНК в НПК «Синтол» (г. Москва). Полученную нуклеотидную последовательность сопоставляли с материалом, депонированным в генбанке NCBI с использованием пакета программ BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей и построение филогенетического дерева осуществляли с помощью программы MEGA-X (<https://www.megasoftware.net/>). Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили, используя алгоритм ClustalW. Для построения дерева использовали метод наибольшего правдоподобия – maximum likelihood. Штамм *Rhodococcus rhodochrous* DSM43274T был выбран как референсный организм, не принадлежащий к роду *Streptomyces*.

Объектом для инокуляции служили пробирочные растения меристемного картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Пранса. Микрочеренкование растений осуществляли на среде Мурасиге и Скуга [10] без гормонов с 20 г/л сахарозы. Культуры стрептомицетов выращивали в течение 4 сут в жидкой овсяной среде на качалке (120 об./мин). Титры инокулятов для штаммов ТК-5 и Т-2-20 составили 10^7 – 10^9 и 10^6 – 10^7 КОЕ/мл соответственно. Поскольку освоение благоприятных зон у стрептомицетов связано с мицелиальным ростом и в меньшей степени, чем для немиецелиальных бактерий, зависит от начальной численности популяции [11], титры инокулятов для разных штаммов сочли возможным не выравнивать. Инокуляцию осуществляли в ходе микрочеренкования, капельно нанося на лист картофеля по 10 мкл инокулята. Контролем служили микрочеренки того же сорта и возраста без инокуляции.

Пробирочные растения картофеля выращивали при следующем режиме: фотопериод 16 ч, освещённость 4 клк, температура воздуха $23 \pm 1 / 16 \pm 1$ °С (день/ночь). Морфометрические показатели у 15 растений в каждом варианте определяли в возрасте 20, 30 и 60 сут.

Для определения численности бактерий, колонизирующих отдельные органы, объединяли по отдельности корни, стебли и листья (за исключением инокулированных) от десяти растений в каждом из вариантов опыта и асептически растирали их в ступке. Раз-

ведения гомогенатов высевали на овсяный агар. Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) учитывали через 7 сут, выражая его на 1 г воздушно-сухой массы субстрата. Для выяснения способности штаммов проникать внутрь тканей посев проводили с добавлением этапа отмывания растительного материала в стерильной дистиллированной воде. Для анализа использовали растения картофеля в возрасте 35 и 60 сут.

Для электронной микроскопии отделяли от корешков фрагменты длиной 4–5 мм и фиксировали в Na-фосфатном буфере (рН 7,2 ед.) с добавлением 2,5% глутарового альдегида в течение 10 сут при +4 °С. Фиксатор отмывали буфером и обезвоживали образцы в водных растворах этанола в повышающихся концентрациях 30–50–70%. После двукратной промывки абсолютным этанолом образцы помещали в прибор Hitachi HCP2 (Япония) для высушивания в атмосфере CO₂. Высушенные препараты крепили на скотч и производили напыление золотом (толщиной 15–20 нм) в атмосфере аргона. Для анализа расположения объектов на поверхности корня использовали микроскоп JSM-6380LA (Jeol, Япония) при ускоряющем напряжении 20 кВ в режиме SE (регистрации вторичных электронов). В работе использовали материалы и оборудование лаборатории электронной микроскопии биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова.

Для оценки влияния стрептомицетов на продуктивность картофеля пробирочные растения высаживали в сосуды с почвой, и выращивали в условиях естественного освещения и влажности. Количество, массу и размеры миниклубней учитывали по окончании вегетации (95 сут).

Статистическую обработку данных проводили стандартными методами с помощью пакета программ Microsoft Excel 2007.

Результаты и обсуждение

Выбору штаммов для изучения способности мицелиальных прокариот колонизировать растения предшествовало изучение их антагонистической активности, способности продуцировать фитогормоны (индолил-3-уксусную кислоту – ИУК) и лектины.

Штамм ТК-5 подавлял рост двух из шести тест-культур, отличался значительной продукцией ИУК в присутствии 200 мг/л триптофана и образованием лектинов, которые обнаруживались реакцией гемагглютинации

Таблица 1 / Table 1

Сравнительная характеристика метаболической активности исследуемых штаммов стрептомицетов
Comparative characteristics of metabolic activity of the studied strains of streptomycetes

Показатели / Indicators	Штаммы / Strains		
	ТК-5	Т-2-20	
Зоны подавления роста тест-культур, мм Zones of suppression of growth of test cultures, mm			
<i>Fusarium avenaceum</i>	0	18	
<i>F. culmorum</i>	24	20	
<i>Bipolaris sorokiniana</i>	0	25	
<i>Erwinia herbicola</i>	0	21	
<i>Arthrobacter simplex</i>	0	21	
<i>Pseudomonas putida</i>	25	0	
Продукция ИУК, мг/мл / Synthesis of IAA, mg/ml	52,0	9,3	
Гемагглютинирующая активность СКЖ в разведениях Hemagglutinating activity of CLS in dilutions			
	1:10	есть/yes	нет/no
	1:25	есть/yes	нет/no
	1:50	нет/no	нет/no

в супернатанте культуральной жидкости (СКЖ) и разведениях СКЖ 1:10 и 1:25 (табл. 1). Штамм Т-2-20 характеризовался более широким (против пяти тест-культур) спектром антагонистического действия, но меньшей продукцией ауксинов. СКЖ данного штамма не оказывал на эритроциты агглютинирующего действия, что говорит об отсутствии у штамма Т-2-20 лектинов.

Лектины представляют собой гликопротеины, способные обратимо и избирательно связывать углеводы и углеводные детерминанты биополимеров без изменения их структуры. Это свойство лежит в основе многочисленных биологических функций лектинов, и на нём основана их способность агглютинировать эритроциты. Среди почвенных стрептомицетов ранее гемагглютинирующая активность была обнаружена у антагонистов фитопатогенов [12] и устойчивых к тяжёлым металлам штаммов [13]. В данной работе выясняли возможную связь лектинов ризосферных стрептомицетов с колонизацией растительных тканей.

Таким образом, штаммы ТК-5 и Т-2-20 были отобраны для дальнейших исследований по наличию признаков, ценных при ассоциативном взаимодействии с растением.

Таксономическая идентификация, основанная на анализе фрагментов генов 16S рРНК, показала, что штаммы ТК-5 и Т-2-20 являются представителями рода *Streptomyces*, семейства *Streptomycetaceae*, порядка *Actinomycetales*, класса *Actinobacteria*. Поисковым сервисом BLAST в качестве наиболее близкого (98,59% сходства) по последовательности

16S рРНК к исследуемому штамму ТК-5 был предложен депонированный в NCBI штамм *S. flavogriseus* CBS 101.34 (NR028988.1). Достоверность кластеризации стрептомицета ТК-5 с *S. flavogriseus* CBS 101.34 (NR 028988.1) составила 98% (рис. 1).

В качестве наиболее близких к штамму Т-2-20 из имеющихся в ГенБанке по последовательностям 16S рРНК поисковый сервер предложил два штамма – *S. pratensis* ch 24 (NR 125616.1) (98,77% сходства) и *S. anulatus* NBRC (NR 112527.1) (98,77% сходства). Достоверность кластеризации стрептомицета Т-2-20 с тем и другим составила 92% (рис. 2).

Генетические данные были сопоставлены с ранее полученной информацией об их фенотипических свойствах, согласно ключу Гаузе [14]. В данном определителе нет описания морфологических и культуральных признаков вида *S. anulatus*, но в отношении его базиинома *S. chrysomallus* subsp. *fumigates* Frommer 1959 [15] сказано, что данный вид можно отнести к серии *Cinereus Aureus* (С. 76). Таким образом, из двух предложенных для стрептомицета Т-2-20 была выбрана последовательность, принадлежащая штамму *S. anulatus* NBRC (NR 112527.1), как наиболее соответствующая фенотипически. Выявление у *S. anulatus* Т-2-20 широкого спектра антагонистической активности хорошо согласуется с ранее описанным синтезом различными представителями этого вида таких антибиотиков, как актиномицин, эндофеназины А, В и С, тубермицин В, эпокарбазолин и эпокарбазолин В, актиномицин С, а также фермента

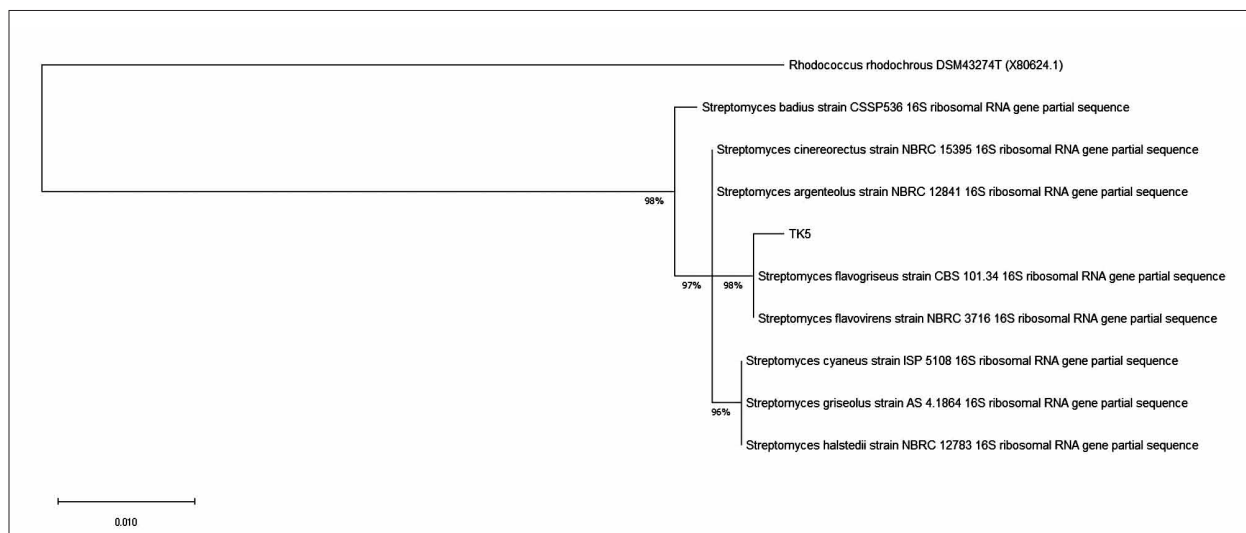


Рис. 1. Филогенетическое дерево, полученное на основании анализа последовательностей фрагмента гена 16S рРНК штамма ТК-5 и его ближайших родственников, найденных сервисом BLAST. Масштаб соответствует одной нуклеотидной замене на 100 нуклеотидов
Fig. 1. Phylogenetic tree (based on 16S rRNA gene sequences) of TK-5 strain and its closest relatives found by BLAST. The scale corresponds to one nucleotide replacement per 100 nucleotides

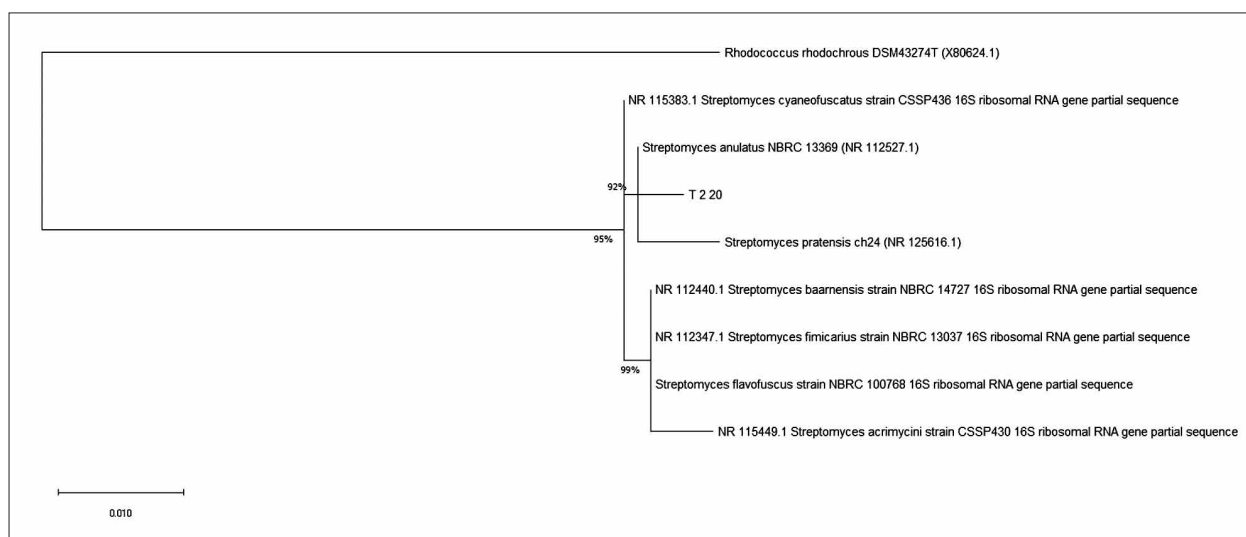


Рис. 2. Филогенетическое дерево, полученное на основании анализа последовательностей фрагмента гена 16S рРНК штамма Т-2-20 и его ближайших родственников, найденных сервисом BLAST. Масштаб соответствует одной нуклеотидной замене на 100 нуклеотидов
Fig. 2. Phylogenetic tree (based on 16S rRNA gene sequences) of T-2-20 strain and its closest relatives found by BLAST. The scale corresponds to one nucleotide replacement per 100 nucleotides

декстраназы и ингибитора теломеразы – тело-местатина [16].

Изучение колонизирующей активности ризосферных штаммов *S. flavogriseus* ТК-5 и *S. anulatus* Т-2-20 показало, что с инокулированного листа стрептомицеты активно распространялись по растительным тканям и, спустя 35 сут после инокуляции, методом посева штамм ТК-5 обнаруживался практически во всех органах, а штамм Т-2-20 – в стеблях и корнях меристемного картофеля (рис. 3).

Между штаммами были установлены различия в активности колонизации отдельных органов. Так, численность *S. flavogriseus* ТК-5 в корнях $((6,05 \pm 0,79) \cdot 10^6$ КОЕ/г) на три порядка превысила таковую в листьях $((6,3 \pm 1,4) \cdot 10^3$ КОЕ/г) и стеблях $((1,3 \pm 0,02) \cdot 10^3$ КОЕ/г), тогда как *S. anulatus* Т-2-20 в большем количестве обнаруживался в стеблях $((7,8 \pm 2,8) \cdot 10^5$ КОЕ/г), в меньшем – в корнях $((6,5 \pm 2,8) \cdot 10^4$ КОЕ/г), а в листьях не обнаруживался вовсе.

Большее сродство штамма ТК-5 к корням, чем к листьям колонизируемых растений,

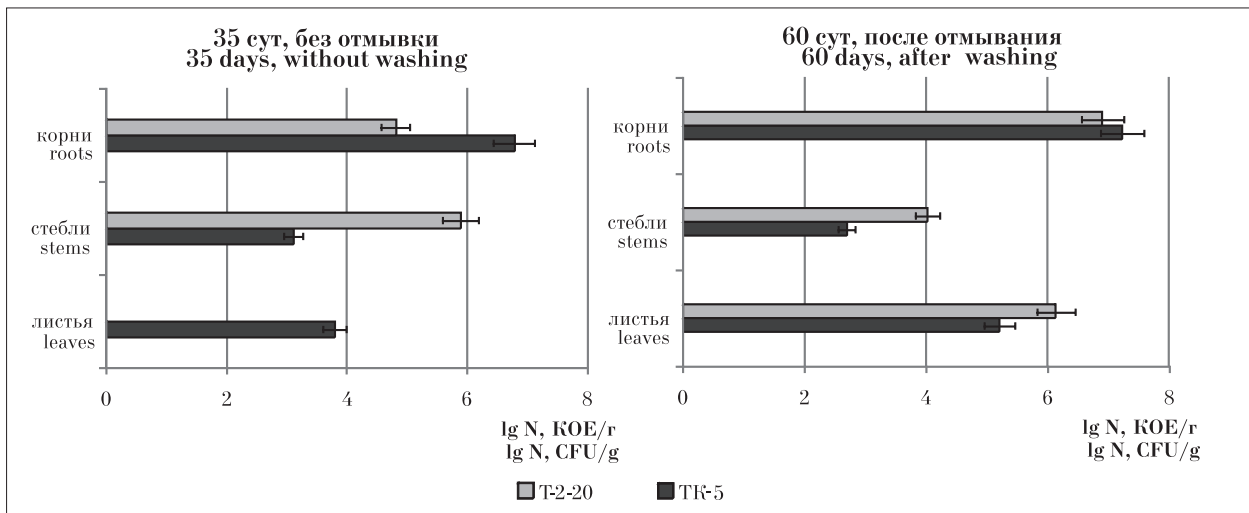


Рис. 3. Численность (lg N, КОЕ/г) стрептомицетов в различных органах меристемного картофеля в зависимости от исследуемого штамма и возраста растения
Fig. 3. Number (lg N, CFU/g) of streptomycetes in various organs of meristem potato depending on the studied strain and age of the plant

а также более высокая в сравнении со штаммом Т-2-20 колонизирующая активность, могут быть связаны со способностью ТК-5 продуцировать ауксины и лектины-метаболиты, участвующие в формировании ассоциативного взаимодействия мицелиальных прокариот с растением.

Результаты определения численности стрептомицетов при посеве из разведений тка-

невых гомогенатов были дополнены результатами электронной сканирующей микроскопии, которая позволила визуализировать результаты инокуляции листьев микрочеренков штаммами ТК-5 и Т-2-20 – колонизацию стрептомицетным мицелием корней пробирочных растений картофеля (рис. 4).

Различия в колонизации разными штаммами стали менее явными, когда микрорас-

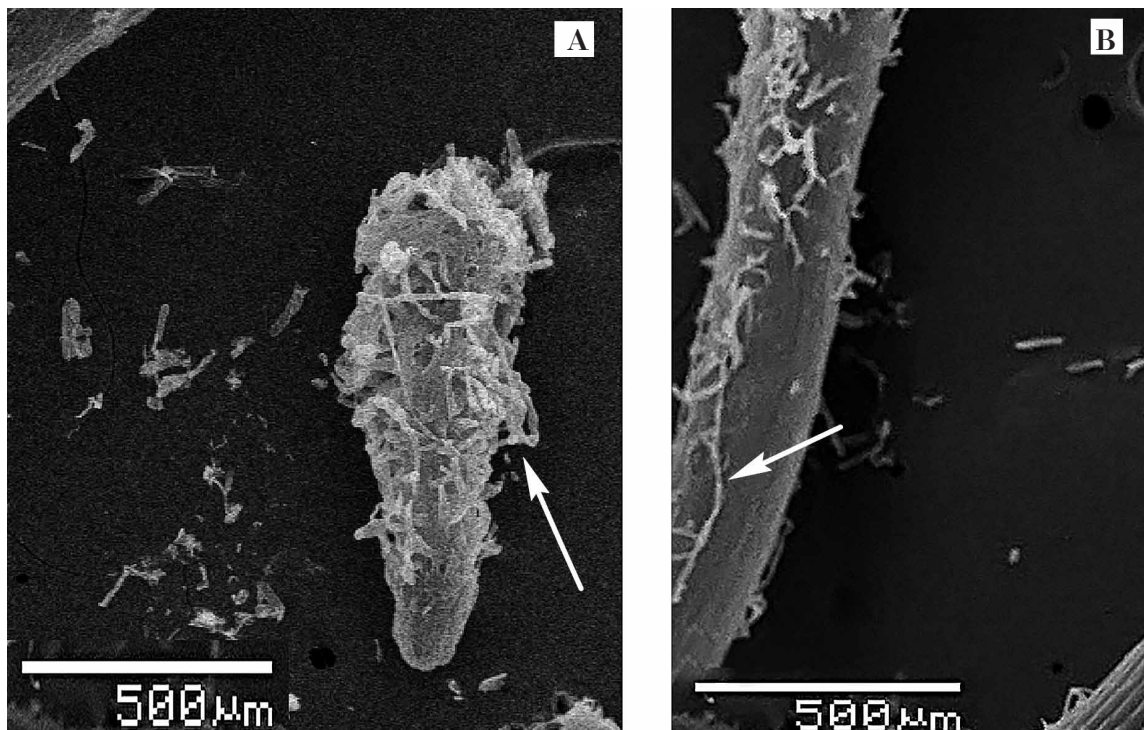


Рис. 4. Колонизация корней меристемных пробирочных растений картофеля Пранса мицелием *S. flavogriseus* ТК-5 (А) и *S. anulatus* Т-2-20 (В). Возраст растений – 60 сут
Fig. 4. Colonization of potato plant roots with mycelium *S. flavogriseus* ТК-5 (А) and *S. anulatus* Т-2-20 (В). Age of plants is 60 days

тения картофеля достигли возраста 60 сут (рис. 3).

По результатам посева, наиболее высокую концентрацию пропагул наблюдали в корнях ((7,81±1,49) · 10⁶ и (1,68±0,85) · 10⁷ КОЕ/г) и в листьях – (1,35±0,37) · 10⁶ и (1,6±1,02) · 10⁵ КОЕ/г соответственно для Т-2-20 и ТК-5). Плотность заселения стеблей была достоверно ниже – от (4,9±1,21) · 10² КОЕ/г у штамма ТК-5 до (1,06±0,13) · 10⁴ КОЕ/г у штамма Т-2-20. При этом плотность заселения корней и листьев штаммом Т-2-20 различалась в пределах одного порядка, а для продуцирующего лектины штамма ТК-5 различия достигали двух порядков. Приведённые количественные характеристики по колонизации картофеля стрептомицетами получены после проведения процедуры предварительной отмывки поверхности растений водой, что свидетельствует о способности мицелиальных бактерий проникать внутрь растительных тканей, а не только распространяться на их поверхности.

Подвергнутые инокуляции растения внешне не отличались от контрольных. Сравнение контрольных и колонизированных растений по морфометрическим показателям показало, что негативного влияния на рост и развитие картофеля *in vitro* заселение растений мицелиальными прокариотами не оказывает (табл. 2).

Между контрольными и колонизированными растениями также не было достоверных различий при последующем их выращивании в почве. В качестве тенденции отмечено, что инокуляция картофеля *S. anulatus* Т-2-20 способствовала в первом клубневом поколении увеличению в два раза доли средней фракции (20–40 мм) при одновременном снижении на 18% доли мелкой фракции (менее 20 мм) в сравнении с контролем (табл. 3).

Таким образом, изучение колонизирующей активности мицелиальных бактерий *S. flavogriseus* ТК-5 и *S. anulatus* Т-2-20, выделенных соответственно из ризосферы табака

Таблица 2 / Table 2

Морфометрические показатели растений картофеля *in vitro*
Morphometric parameters of the meristem potato plants *in vitro*

Вариант Variant	Длительность культивирования, сут Duration of cultivation, days	Длина стебля, мм Length stem, mm	Количество междоузлий, шт Number of internodes, pcs	Количество листьев, шт Number of leaves, pcs
Контроль/control	20	33,0±14,1	2,90±1,19	3,30±1,75
ТК-5		22,0±11,8	1,60±0,88	1,80±1,09
Т-2-20		35,0±11,9	2,50±0,92	3,30±1,03
Контроль/control	30	49,0±22,0	3,60±1,76	5,40±2,16
ТК-5		47,0±16,2	3,30±0,82	5,20±1,17
Т-2-20		52,0±14,7	3,70±0,73	5,10±1,29
Контроль/control	60	66,0±20,1	4,10±1,10	10,60±3,03
ТК-5		67,0±10,2	6,00±1,15	11,00±1,79
Т-2-20		77,0±12,1	6,30±1,11	12,50±1,61

Таблица 3 / Table 3

Показатели продуктивности картофеля Пранса в первом клубневом поколении
Potato productivity indicators in the first generation of tubers

Вариант Variant	Количество клубней с растения, шт Number of tubers per plant, pcs	Масса клубней с растения, г* Weight of tubers from plant, g*	Количество миникубней по фракциям, % Number of mini tubers by fractions, %		
			≤ 20 мм	20–40 мм	≥ 40 мм
Контроль / control	6,7±2,3	<u>19,2</u> 0,5–78,5	65	20	15
ТК-5	7,0±2,4	<u>16,8</u> 1,0–58,6	67	21	12
Т-2-20	5,0±1,5	<u>26,2</u> 1,6–105,4	47	40	13

Примечание: *Числитель – среднее значение, знаменатель – минимальное и максимальное значения.
Note: *Numerator – average value, denominator – minimum and maximum values.

и томата, показало их способность успешно заселять поверхность различных органов и проникать в ткани меристемных растений картофеля. При искусственной бактеризации популяционная плотность мицелиальных прокариот в надземных органах картофеля может достигать 10^2 – 10^6 КОЕ/г, а в корнях – 10^6 – 10^7 КОЕ/г, в зависимости от штамма.

Продуцирующий ауксины и лектины штамм ТК-5 отличался выраженной приуроченностью к корневым тканям, тогда как антагонистически активный штамм Т-2-20 обнаруживался в растениях картофеля относительно равномерно: различия в плотности заселения корней и листьев не выходили за рамки одного порядка. Сравнительный анализ морфометрических показателей растений показал, что колонизация стрептомицетами не оказала негативного влияния на рост и развитие картофеля *in vitro* и *ex vitro*. Полученные результаты дают основание к использованию изученных штаммов *S. flavogriseus* ТК-5 и *S. anulatus* Т-2-20 для искусственной бактеризации растений других видов семейства *Solanaceae*, а также при создании экологически безопасных биопрепаратов и агротехнологий.

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Изучить потенциал полифункционального действия мицелиальных микроорганизмов в региональных типах почв с целью создания новых препаратов для повышения адаптивности и экологической безопасности растениеводства и защиты окружающей среды от загрязнений» № 0767-2018-0012.

References

1. Novikova I.I. The biological diversity of microorganisms is the basis for the creation of new multifunctional biological products for phytosanitary optimization of agroecosystems // Vestnik zashchity rasteniy. 2016. V. 83. No. 3. P. 120–122 (in Russian).
2. Strohl W.R. Antimicrobials // Microbial diversity and bioprocessing / Ed. A.T. Bull. American Society for Microbiology, Washington DC, 2004. P. 336–355.
3. Challis G.L., Hopwood D.A. Synergy and contingency as driving forces for the evolution of multiple secondary metabolite production by *Streptomyces* species // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2003. V. 100. No. suppl. 2. P. 14555–14561.
4. Doroghazi J.R., Metcalf W.W. Comparative genomics of actinomycetes with a focus on natural product biosynthetic genes // BMC genomics. 2013. V. 14. No. 1. P. 611.

5. Weber T., Blin K., Duddela S., Krug D., Kim H.U., Bruccoleri R., Breitling R. antiSMASH 3.0-a comprehensive resource for the genome mining of biosynthetic gene clusters // Nucleic acids research. 2015. V. 43 (W1). P. W237–W243.
6. Shrivastava P., Kumar R. Actinobacteria: Eco-friendly candidates for control of plant diseases in a sustainable Manner. New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering. 2018. P. 79–91.
7. Yegorov N.S. Fundamentals of the theory of antibiotics. Moskva: Nauka, 2004. 528 p. (in Russian).
8. Libbert E., Risch H. Interactions between plants and epiphytic bacteria regarding their auxin metabolism // Physiol. Plantarum. 1969. V. 22. P. 51–58.
9. Nazarova Ya.I., Bakulina A.V., Bezmeltseva O.M., Sergushkina M.I., Shirokikh I.G. Hemagglutination ability of streptomycetes from the rhizosphere of some representatives of *Solanaceae* // Plants and Microorganisms: Biotechnology of the Future: Mater. mezhdunar. nauchn. konf. PLAMIC2018. Ufa, 2018. P. 206 (in Russian).
10. Murashige Y., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture // Physiol. Plant. 1962. No. 3. P. 473–497.
11. Polyanskaya L.M. Microbial succession in soil: Author. Diss ... dr. biol. sciences. Moskva: MGU, 1996. 96 p. (in Russian).
12. Belyavskaya L.A., Kovalenko E.A., Kozyritskaya V.E., Iutinskaya G.A. Lectins of soil streptomycetes – phytopathogen antagonists // Conference proceedings. II All-Russian Conference. Saratov: Racurs LLC, 2014. P. 102 (in Russian).
13. Valagurova H.V., Iutinskaya G.A., Kozyritskaya V.E., Ivanova N.I., Andreyuk K.I. Heavy metals effect on the streptomycete association of grey podzolic soil // Microbiol. Zh. 1996. V. 58 (2). P. 16–22.
14. Gauze G.F., Preobrazhenskaya T.P., Sveshnikova M.A., Terekhova L.P., Maksimova T.S. Key to actinomycetes. Genera: *Sreptomycetes*, *Streptoverticillium*, *Chainia*. Moskva: Nauka, 1983. 248 p. (in Russian).
15. Lanoot B., Vancanneyt M., Van Schoor A., Liu Z., Swings J. Reclassification of *Streptomyces nigrifaciens* as a later synonym of *Streptomyces flavovirens*; *Streptomyces citrofluorescens*, *Streptomyces chrysomallus* subsp. *chrysomallus* and *Streptomyces fluorecens* as later synonyms of *Streptomyces anulatus*; *Streptomyces chibaensis* as a later synonym of *Streptomyces corchorusii*; *Streptomyces flaviscleroticus* as a later synonym of *Streptomyces minutiscleroticus*; and *Streptomyces lipmanii*, *Streptomyces griseus* subsp. alpha, *Streptomyces griseus* subsp. *cretosus* and // International journal of systematic and evolutionary microbiology. 2005. V. 55 (2). P. 729–731.
16. Saleh O., Flinspach K., Westrich L., Kulik A., Gust B., Fiedler H.P., Heide L. Mutational analysis of a phenazine biosynthetic gene cluster in *Streptomyces anulatus* 9663 // Beilstein Journal of Organic Chemistry. 2012. V. 8. P. 501–513. doi: 10.3762/bjoc.8.57