

Поиск стрептомицетов-целлюлозолитиков для переработки отходов растениеводства

© 2020. И. Г. Широких^{1,2}, д. б. н., зав. лабораторией, в. н. с.,
Я. И. Назарова¹, н. с., к. б. н., А. А. Широких¹, д. б. н., в. н. с.,
Е. В. Товстик³, к. б. н., с. н. с., доцент,
Т. Я. Ашихмина^{2,3}, д. т. н., профессор, г. н. с., зав. лабораторией,
¹Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока

имени Н. В. Рудницкого,

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

²Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,

³Вятский государственный университет,

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

e-mail: irgenal@mail.ru

В составе растительных остатков наиболее распространённым углеводным полимером является целлюлоза, однако её использование затруднено сложностью процессов ферментативного гидролиза. Для разработки технологий и биопрепаратов, позволяющих эффективно утилизировать отходы растениеводства с получением новых хозяйственно ценных продуктов, необходимы эффективные микроорганизмы, способные продуцировать целлюлазы. Цель работы – выявление новых штаммов стрептомицетов с целлюлазной активностью для использования в технологиях переработки растительных отходов. Стрептомицеты выделяли из различных природных источников. У изолятов определяли способность метаболизировать карбоксиметилцеллюлозу (эндогликоназную активность) и микрокристаллическую целлюлозу (целлобиогидролазную активность). Выделены группы потенциально активных, умеренных и слабых деструкторов целлюлозы. Высокой активностью ферментов целлюлазного комплекса среди 130 исследованных культур характеризовалось только 20 штаммов (15%). Выявлены активные штаммы *Streptomyces* sp. 1.1, *Streptomyces* sp. К 7.5, *Streptomyces* sp. 1.10, *Streptomyces* sp. ЛОС 2-8 с величиной зон деструкции КМЦ более 59 мм в тесте с конго красным. При количественном определении активности целлобиогидролазы (по количеству редуцирующих сахаров) наиболее активными оказались штаммы *S. felleus* 3Т-12 (398,77 ед./г · 10 мин) и *S. noboritoensis* 1Т-14 (258,06 ед./г · 10 мин), выделенные из почв субтропического климата. Среди ризосферных изолятов из дерново-подзолистой почвы наибольшей активностью отличался штамм *S. anulatus* Т-2-20 (263,55 ед./г · 10 мин) ранее проявивший антифунгальную и фиторегуляторную активность. Изученные штаммы могут быть использованы для применения в технологиях утилизации растительных отходов в сельском хозяйстве.

Ключевые слова: *Streptomyces*, целлюлоза, природные изоляты, эндогликоназа, целлобиогидролаза, редуцирующие сахара.

Screening of streptomycetes-cellulolytics for processing crop production waste

© 2020. I. G. Shirokikh^{1,2} ORCID: 0000-0002-3319-2729, Y. I. Nazarova¹ ORCID: 0000-0002-2945-5282,
A. A. Shirokikh¹ ORCID: 0000-0002-7808-0376, E. V. Tovstik³ ORCID: 0000-0003-1861-6076,
T. Ya. Ashikhmina^{2,3} ORCID: 0000-0003-4919-0047

¹Federal Agricultural Research Center of North-East named N. V. Rudnitsky,
166a, Lenina St., Kirov, Russia, 610007,

²Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch
of the Russian Academy of Sciences,
28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

³Vyatka State University,
36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,
e-mail: irgenal@mail.ru

In the composition of plant residues, the most common carbohydrate polymer is cellulose. Cellulose bioconversion is complicated by the complexity of enzymatic hydrolysis processes. Effective utilization of crop waste to obtain new economically valuable products requires effective microorganisms – producers of cellulases. The aim of this work is

to identify new strains with cellulase activity for use in technologies for processing plant waste. Streptomycetes were isolated from various natural sources. The ability to metabolize carboxymethylcellulose (endoglucanase activity) and microcrystalline cellulose (cellobiohydrolase activity) was determined in natural isolates. Groups of active, moderate and weak potential cellulose destructors are identified. High activity of cellulases among 130 streptomycetes cultures was typical for 15% (20 strains). Active strains of *Streptomyces* sp. 1.1, *Streptomyces* sp. K 7.5, *Streptomyces* sp. 1.10, and *Streptomyces* sp. LOS 2-8 were detected at a value of carboxymethylcellulose destruction zones greater than 59 mm in the congo-red test. When determining the activity of cellobiohydrolase (by the number of reduced sugars), the most active strains were *S. felleus* 3T-12 (398.77 c.u./ (g · 10 min)) and *S. noboritoensis* 1T-14 (258.06 c.u./ (g · 10 min)), isolated from soils of subtropical climate. Among rhizospheric isolates from sod-podzolic soil, the strain was the most active *S. anulatus* T-2-20 (263.55 c.u./ (g · 10 min)), which previously showed antifungal and phyto regulatory activity. The studied strains can be used for application in technologies of utilization of plant waste in agriculture.

Keywords: *Streptomyces*, cellulose, natural isolates, endoglucanase, cellobiohydrolase, reducing sugars.

Агропромышленный комплекс сегодня сталкивается с проблемой утилизации огромного количества растительных отходов, образующихся в процессе производства продукции пищевого, кормового и технического назначения. Подсчитано, что из остатков основных сельскохозяйственных культур в мире ежегодно производится около 500 млн т растительных отходов [1], которые нуждаются в переработке, но вместе с тем, представляют собой ценный источник возобновляемой биомассы для решения проблем, связанных с производством биотоплива и сырья для химического синтеза. Наиболее распространённым углеводным полимером (до 35%) в составе растительных остатков является целлюлоза, однако её использование затруднено ввиду сложности процессов ферментативного гидролиза. Разложение целлюлозы до глюкозы осуществляется посредством последовательного и/или скоординированного действия, по меньшей мере, трёх ферментов целлюлазного комплекса: β -1,4-эндоглюканазы (ЕС 3.2.1.4), β -1,4-экзоглюканазы (ЕС 3.2.1.91) и β -D-глюкозидазы (целлюбиазы) (ЕС3.2.1.21), которые продуцируются широким кругом различных микроорганизмов. Наиболее изученными продуцентами целлюлаз являются грибы, благодаря более высокой, чем у бактерий, продуктивности и стабильности ферментов, а также способности мицелия к проникновению вглубь целлюлозосодержащей биомассы [2, 3].

В природе важную роль в прокариотных микробных сообществах, осуществляющих деградацию и рециркуляцию природных биополимеров (включая целлюлозу), играют почвенные стрептомицеты, имеющие сходные с грибами мицелиальную организацию и экологические функции. Стрептомицеты способны использовать широкий спектр источников углерода, формировать споры при исчерпании ресурсов и продуцировать антибиотики для снижения конкуренции за субстрат [4, 5]. Большинство видов рода *Streptomyces* может

расти за счёт утилизации растительной биомассы, но только 14% из них эффективно разрушают кристаллическую целлюлозу [6, 7]. К настоящему времени известно об успешном выделении стрептомицетов-целлюлолитиков из почв Бразилии [8], Южной Кореи [1], Индии [10], Вьетнама [11], США [7] и многих других регионов. У почвенных изолятов *S. lividens* [12], *S. albaduncus* [13], *S. reticuli* [14], *Streptomyces* spp. M7a и M7b [15], *Streptomyces viridobrunneus* [16] и *Streptomyces* sp. F2621 [17] продукцию внеклеточных эндоглюконаз удалось значительно повысить путём оптимизации состава культуральных сред и условий культивирования. Приведённые работы свидетельствуют о высоком биотехнологическом потенциале стрептомицетов как кандидатов на роль биокатализаторов переработки целлюлозосодержащих отходов с получением новых хозяйственно ценных продуктов.

Целью настоящей работы являлось выявление новых штаммов стрептомицетов с целлюлазной активностью для использования в технологиях переработки отходов растениеводства.

Объекты и методы исследования

В работе использовали природные изоляты стрептомицетов, выделенные из почвенных субстратов разных природно-климатических зон – умеренной: подзолы (Haplic Podzols); ризосфера табака и томата, выращенных на дерново-подзолистой почве (Albic Retisols); выработанный торфяник низинного типа; субтропической: рендзины (Rendzinas), грумусоли (Vertisols) и бурые лесные почвы (Cambisols). Выделение культур осуществляли селективным методом, используя для посева казеин-глицериновый агар (КГА). Чашки с посевами инкубировали при 28 °С с последующим отсевом отдельных колоний на овсяный агар. Предварительную идентификацию изолятов проводили на основе

культурально-морфологических признаков [18]. Окончательную идентификацию (филогенетическое положение) наиболее активного штамма выполняли на основе секвенирования гена 16S рРНК в НПК «Синтол» (г. Москва).

Активность ферментов определяли по отношению к Na-соли карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) (эндоглюканаза) и микрокристаллической целлюлозе (МКЦ) (целлобиогидролаза). На первом этапе работы определяли эндоглюконазную активность стрептомицетов в тесте с конго красным [19]. Учитывая, что продукты разрушения КМЦ не окрашиваются красителем, о ферментативной активности судили по величине светлой зоны около тестируемого штамма.

На втором этапе для выделившихся по результатам предыдущего опыта штаммов определяли целлюлазную активность по отношению к МКЦ. Культуры выращивали стационарно в жидкой среде следующего состава (г/л): 2 – K_2HPO_4 , 2 – NaCl, 1 – $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,05 – $MnSO_4$, 0,05 – $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 2 – NH_4Cl , 2 – $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 10 – МКЦ. Опыт закладывали в трёх повторениях. Контролем служила среда с МКЦ без инокуляции. Инкубацию проводили при температуре 28 °С. Мицелий отделяли центрифугированием в течение 10 мин при 7000 об./мин, высушивали при 105 °С и определяли сухую массу. Для анализа использовали надосадочную жидкость.

Активность фермента измеряли при 50 °С и pH 5 по начальной скорости образования восстанавливающих сахаров (ВС). Концентрацию ВС определяли с использованием 3,5-динитросалициловой кислоты согласно методике [20]. Концентрация полисахаридного субстрата в реакционной смеси составляла 10 г/л. Оптические плотности опытных и контрольной проб измеряли спектрофотометрически при 540 нм. За единицу активности принимали такое количество фермента, при действии которого на субстрат в условиях ферментативной реакции за 1 ч образуется 1 μ моль редуцирующих сахаров в пересчёте на глюкозный эквивалент.

Целлобиогидролазную активность (МКЦдА) вычисляли по формуле (1):

$$МКЦдА = \frac{C_0 - C_k}{t \cdot c}, \quad (1)$$

где C_0 – молярная концентрация глюкозы в опытной пробе, мкмоль/мл; C_k – молярная концентрация глюкозы в контрольной пробе, мкмоль/мл; t – продолжительность гидролиза, мин (10 мин); c – массовая концентрация

супернатанта в реакционной смеси, г/мл по формуле (2):

$$c = \frac{m}{V \cdot P}, \quad (2)$$

где m – сухая биомасса, г; V – объём среды для выращивания культур, 50 мл; P – разведение суспензии в реакционной смеси – 5.

Полученные данные обрабатывали стандартными методами статистического анализа с использованием пакета программы Microsoft Office Excel 2007.

Результаты и обсуждение

Анализ распространения и выявление стрептомицетов – активных деструкторов целлюлозы в различных почвенных субстратах. В общей сложности было проанализировано 130 культур стрептомицетов, в том числе 26 изолятов из подзолов, 37 – из выработанного торфяника, 40 – из дерново-подзолистой почвы, отобранной в ризосфере пасленовых культур (томата и табака), 27 – из различных по генезису почв субтропического климата. Абсолютное большинство (87%) протестированных культур обладали в той или иной степени способностью расти на среде с КМЦ в качестве единственного источника углерода. Это свидетельствует о том, что способность к продукции целлюлаз широко распространена среди стрептомицетов и является одной из наиболее важных присущих им экологических функций.

По результатам тестирования изолятов разработана шкала эндоглюконазной активности стрептомицетов за 10 сут. В соответствии с величиной зон деструкции в тесте с конго красным, изоляты были разделены на три группы: со слабой (тест-зона разложения КМЦ не более 30 мм), умеренной (тест-зона изменяется от 31 до 40 мм) и сильной (тест-зона более 40 мм) целлюлазной активностью.

Соотношение долей изолятов каждой из выделенных групп варьировало в зависимости от источника выделения (почвенного субстрата). Процесс разложения КМЦ наиболее интенсивно протекал у штаммов стрептомицетов, выделенных из ризосферы растений, выращенных на дерново-подзолистой почве (рис.).

Доля культур с высокой и умеренной эндоглюконазной активностью составила среди них 67,5 и 25% соответственно. Высокая доля культур с высокой и умеренной активностью

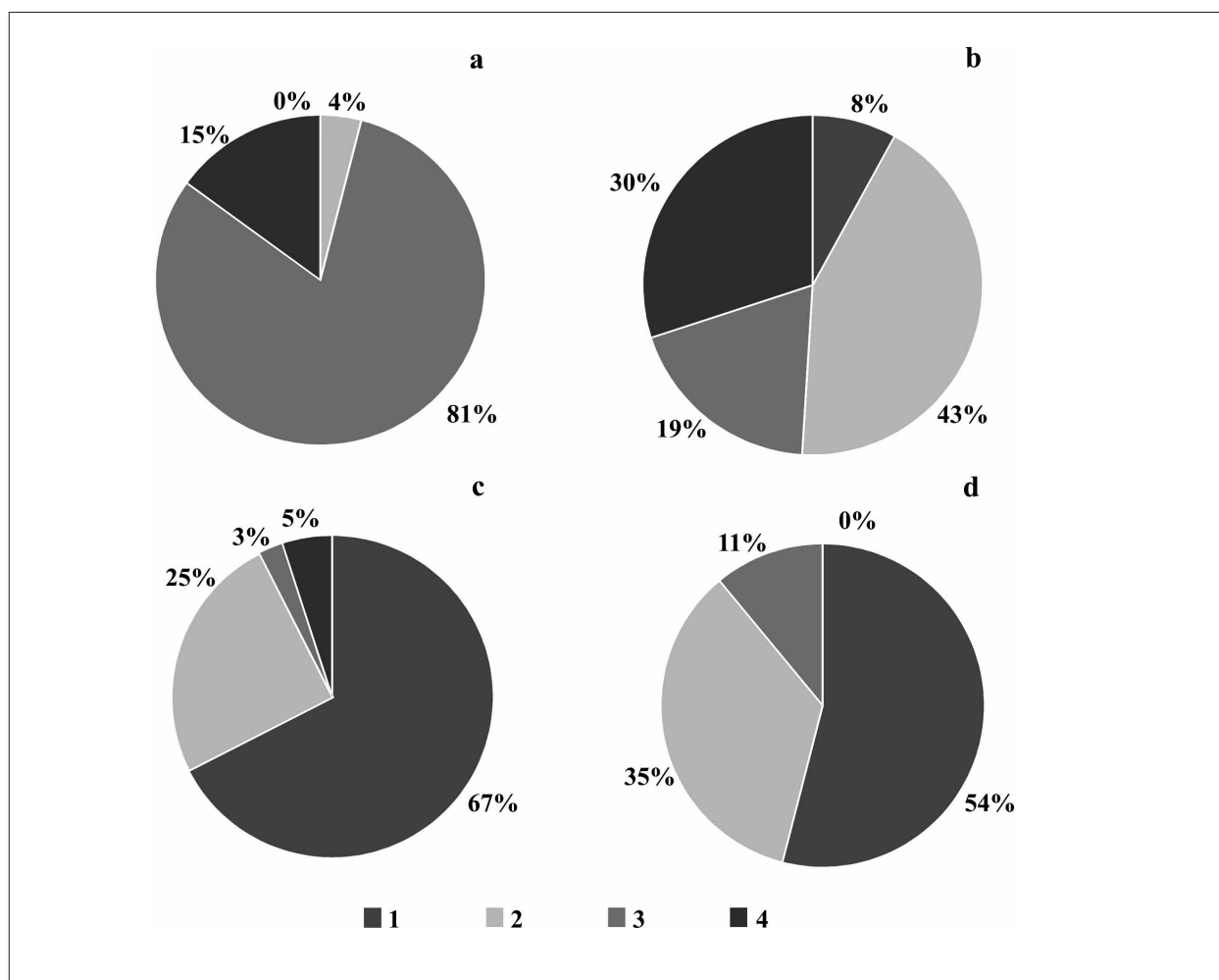


Рис. Распространение стрептомицетов с различной целлюлолитической способностью в почвенных субстратах: подзолах (а), выработанном торфянике (б), дерново-подзолистой ризосферной почве (с), почвах тропического климата (д). Доля штаммов с высокой, умеренной, низкой активностью и её отсутствием – соответственно 1, 2, 3 и 4

Fig. Distribution of streptomycetes with different cellulolytic ability in soil substrates: podzols (a), spent peat bogs (b), sod-podzolic rhizospheric soils (c), tropical climate soils (d). The proportion of strains with high, moderate, low activity and its absence is 1, 2, 3, and 4, respectively

была также обнаружена среди стрептомицетов, выделенных из почв субтропиков (54 и 35% соответственно). Большинство изолированных из подзолов культур (81%) характеризовались низкой эндогликоназной активностью, а 15% не обладали таковой вовсе, что согласуется с представлениями о низких темпах микробиологической переработки растительного опада в подзолистых почвах [21]. Стрептомицеты из выработанного торфяника были представлены культурами преимущественно с умеренной (43%) и низкой (19%) способностью к разложению КМЦ. Вместе с тем, 30% изолятов из слоя, оставшегося после промышленной добычи торфа, не проявили при тестировании такой способности. Очевидно, это можно объяснить господством в болотах анаэробного типа разложения клетчатки [22], вследствие чего доля

аэробных целлюлозолитиков, к числу которых относятся стрептомицеты, в этом почвенном субстрате ниже, чем в почвах иного генезиса (минеральных).

Стрептомицеты, которые продемонстрировали слабую способность к росту на КМЦ, не представляли интереса для дальнейшего изучения. Группа с умеренной активностью включала 36 штаммов, что составило 27,7% от общего количества исследованных культур. К группе активных деструкторов отнесены 44 штамма (или 33,8%) стрептомицетов. Выявлены активные штаммы *Streptomyces* sp. 1.1, *Streptomyces* sp. К 7.5, *Streptomyces* sp. 1.10, *Streptomyces* sp. ЛОС 2-8 с величиной зон деструкции КМЦ более 59 мм в тесте с конго красным. Наибольшее количество видов стрептомицетов, отобранных для дальней-

шей работы, относились к секциям и сериям *Cinereus Achromogenes*, *Cinereus Aureus* и *Albus Albus*.

Изучение целлюлазной активности стрептомицетов в жидких культурах. На следующем этапе скрининга стрептомицеты выращивали в жидкой культуре. Ферментативную активность определяли по накоплению редуцирующих сахаров в единице объёма за определённое время (10 мин), а также – в пересчёте на 1 г в.-с. биомассы (удельную активность). Для дальнейшей работы в рабочую коллекцию было отобрано 20 культур с выраженной целлюлогидролазной активностью, из них 14 ризосферных и 6 почвенных изолятов (табл.). В долевого отношении это составило 15% от общего объёма выборки исследованных в работе стрептомицетов, что является близкой величиной к ранее известной долевым оценкам (14%) в отношении видов р. *Streptomyces*, способных эффективно разрушать кристаллическую целлюлозу [6, 7]. Наиболее активными среди исследованных почвенных культур оказались штаммы *S. felleus* 3Т-12 (398,77 ед./ (г · 10 мин)) и *S. noboritoensis* 1Т-14 (258,06 ед./ (г · 10 мин)), выделенные из почв субтропического климата. Среди ризосферных изолятов из дерново-подзолистой почвы наи-

большой активностью отличался стрептомицет Т-2-20 (263,55 ед./ (г · 10 мин)).

Таксономическое положение штамма Т-2-20 определяли на основе анализа фрагмента 16S рРНК. Полученную при секвенировании нуклеотидную последовательность сопоставляли с материалом, депонированным в ГенБанке NCBI, а также с информацией о фенотипических свойствах штамма. Из двух последовательностей, предложенных для стрептомицета Т-2-20 поисковым сервисом ГенБанка (сходство 98,77%), была выбрана последовательность, принадлежащая штамму *S. anulatus* NBRC (NR112527.1), как наиболее соответствующая изоляту фенотипически.

Штамм *S. anulatus* Т-2-20 отличался, помимо целлюлазной, высокой антагонистической и фиторегуляторной активностью [23, 24]. Одновременное сочетание синтеза целюлаз, метаболитов с антифунгальным действием и продукции ауксинов делает данный штамм весьма привлекательным с точки зрения производства новых биопрепаратов. Учитывая многофункциональное действие данного штамма, полученный сиквенс *S. anulatus* Т-2-20 был депонирован в международной информационной базе NCBI GenBank ([https://www/ncbi.nlm.nih.gov](https://www.ncbi.nlm.nih.gov)), учётный номер MK934418.

Таблица / Table

Выявленные по результатам проведённого скрининга культуры с высокой способностью разлагать МКЦ
Cultures with high ability to decompose MCC according to the results of screening

Штамм Strain	ЦЛА, ед./ (мл · 10 мин) CLA, units/(mL · 10 min)	ЦЛА, ед./ (г · 10 мин) CLA, units/(g · 10 min)	Биомасса в.-с., г Air dry biomass, g
<i>S. xanthocidicus</i> К-8	67,50	141,51	0,4770
<i>S. xanthocidicus</i> К-7	102,81	186,93	0,5500
<i>S. anulatus</i> Т-2-20	131,25	263,55	0,4980
<i>S. flavogriseus</i> Т-2-4	111,88	239,62	0,4669
<i>S. wedmorensis</i> 8-12	81,81	146,09	0,5600
<i>S. chlorobiens</i> 8-13	84,69	155,11	0,5460
<i>S. xanthocidicus</i> bn 4-2	79,06	159,40	0,4960
<i>S. xanthocidicus</i> 34.2-4	110,31	241,96	0,4559
<i>S. viridifaciens</i> 27.2-4	74,38	153,11	0,4858
<i>S. aureofaciens</i> 27.2-8	120,00	215,63	0,5565
<i>A. rutilus</i> 27.2-7	100,00	180,93	0,5527
<i>S. aureofaciens</i> 27.2-10	85,63	175,51	0,4879
<i>S. nitrosporeus</i> 27.2-1	85,63	160,57	0,5333
<i>S. mutomycini</i> 27.2-5	80,00	167,40	0,4779
<i>S. carnatakensis</i> 3Из-9	122,19	222,97	0,5480
<i>S. griseolus</i> 3Из-2	71,89	137,72	0,5220
<i>S. felleus</i> 2Из-4	72,81	152,96	0,4760
<i>S. graminearus</i> 3Из-4	69,38	128,01	0,5420
<i>S. felleus</i> 3Т-12	195,00	398,77	0,4890
<i>S. noboritoensis</i> 1Т-14	142,19	258,06	0,5510

Заключение

Процесс естественного разложения целлюлозы в почвах по времени – достаточно длительный, поэтому разработка современных технологий биоконверсии может позволить не только в кратчайшие сроки избавиться от растительных отходов, но и получить при этом новые хозяйственно ценные продукты: компосты, органические удобрения, препараты для повышения гумусности почвы в процессе разложения стерни и пожнивных остатков. Основу таких препаратов могут составить выделенные из различных природных источников штаммы стрептомицетов, способные продуцировать ферменты целлюлазного комплекса. Как следует из полученных данных, способность утилизировать целлюлозу не является особенностью отдельных видов стрептомицетов, а свойственна им, наряду с использованием других источников углерода. Обнаружение у абсолютного большинства протестированных культур способности метаболизировать аморфную (83%) и кристаллическую (34%) целлюлозу показывает, что это одна из наиболее важных экологических функций мицелиальных прокариот.

Культуры стрептомицетов, выделенные из разных экологических ниш, проявляют избирательное отношение к деструкции целлюлозы. В географическом отношении, распространение активных целлюлолитиков в почвах субтропического климата выше, чем в почвах умеренных широт. Специфическим источником для выделения стрептомицетов с высокой целлюлазной активностью является ризосфера пасленовых культур – томата и табака. Выявлены группы потенциально активных, умеренных и слабых деструкторов целлюлозы. Из 130 исследованных культур высокой активностью эндоглюконаз и целлюлобиогидролаз характеризовались 20 штаммов.

Особый интерес при выявлении стрептомицетов с целлюлазной активностью представляют штаммы, характеризующиеся комплексным биологическим действием, одним из которых является штамм *S. anulatus* T-2-20, сочетающий синтез целлюлаз с антифунгальной активностью и фиторегуляторным действием. Изученные штаммы могут быть использованы для создания биопрепаратов и их дальнейшего применения в технологиях утилизации растительных отходов в сельском хозяйстве.

Работа выполнена в рамках государственных заданий № 0767-2019-0090 «Изучить потенциа-

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» и № 0414-2018-0003 «Оценка и прогноз отсроченного техногенного воздействия на природные и трансформированные экосистемы подзоны южной тайги».

References

1. Saratale G.D., Saratale R.G., Oh S.E. Production and characterization of multiple cellulolytic enzymes by isolated *Streptomyces* sp. MDS // Biomass and Bioenergy. 2012. V. 47. P. 302–315. doi: 10.1016/j.biombioe.2012.09.030
2. Bilay V.I., Bilay T.I., Musich E.G. Transformation of cellulose by fungi. Kiev: Naukova dumka, 1982. 296 p. (in Russian)
3. Soliman S.A., El-Zawahry Y.A., El-Mougith A.A. Fungal biodegradation of agro-industrial waste // Licensee InTech. 2013. P. 75–100. doi: 10.5772/56464
4. Goodfellow M., Williams S.T. Ecology of actinomycetes // Annual Review of Microbiology. 1983. V. 37. No. 1. P. 189–216. doi: 10.1146/annurev.mi.37.100183.001201
5. Schlatter D., Fubuh A., Xiao K., Hernandez D., Hobbie S., Kinke L. Resource amendments influence density and competitive phenotypes of *Streptomyces* in soil // Microbial Ecology. 2009. V. 57. No. 3. P. 413–420. doi: 10.1007/s00248-008-9433-4
6. Wachinger G., Bronnenmeier K., Staudenbauer W.L., Schrempf H. Identification of mycelium-associated cellulase from *Streptomyces reticuli* // Appl. Environ. Microbiol. 1989. V. 55. No. 10. P. 2653–657.
7. Takasuka T.E., Book A.J., Lewin G.R., Currie C.R., Fox B.G. Aerobic deconstruction of cellulosic biomass by an insect-associated *Streptomyces* // Scientific Reports. 2013. V. 3. P. 1030. doi: 10.1038/srep01030
8. Semêdo L.T.A.S., Gomes R.C., Linhares A.A., Duarte G.F., Nascimento R.P., Rosado A.S., Manfio G.P. *Streptomyces drozdowiczii* sp. nov., a novel cellulolytic streptomycete from soil in Brazil // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2004. V. 54. No. 4. P. 1323–1328. doi: 10.1099/ijs.0.02844-0
9. Chellapandi P., Jani H.M. Production of endoglucanase by the native strains of *Streptomyces* isolates in submerged fermentation // Brazilian Journal of Microbiology. 2008. V. 39. No. 1. P. 122–127. doi: 10.1590/S1517-83822008000100026
10. Saini A., Aggarwal N.K. Enhanced endoglucanase production by soil inhabiting *Streptomyces* sp. strain NAA9 using lignocellulosic biomass // Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects. 2019. V. 41. No. 13. P. 1630–1639. doi: 10.1080/15567036.2018.1549138
11. Nguyen B.L., Hoang A.T.P. Screening of cellulolytic actinomycetes for decomposition of agricultural

- waste // Chemical Engineering Transactions. 2020. V. 78. P. 283–288. doi: 10.3303/CET2078048
12. Kluepfel D., Shareck F., Mondau F., Morosoli R. Characterization of cellulase and xylanase activities of *Streptomyces lividans* // Applied Microbiology and Biotechnology. 1986. V. 24. No. 3. P. 230–234. doi: 10.1007/BF00261542
13. Harchand R.K., Singh S. Characterization of cellulase complex of *Streptomyces albaduncus* // Journal of Basic Microbiology. 1997. V. 37. No. 2. P. 93–103. doi: 10.1002/jobm.3620370204
14. Schrempf H., Walter S. The cellulolytic system of *Streptomyces reticuli* // International Journal of Biological Macromolecules. 1995. V. 17. No. 6. P. 353–355. doi: 10.1016/0141-8130(96)81845-9
15. Semedo L.T., Gomes R.C., Bon E.P., Soares R.M., Linhares L.F., Coelho R.R. Endocellulase and exocellulase activities of two *Streptomyces* strains isolated from a forest soil // Twenty-First Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals. Totowa, NJ: Humana Press, 2000. P. 267–276. doi: 10.1007/978-1-4612-1392-5_20
16. Da Vinha F.N.M., Gravina-Oliveira M.P., Franco M.N., Macrae A., da Silva Bon E.P., Nascimento R.P., Coelho R.R.R. Cellulase production by *Streptomyces viridobrunneus* SCPE-09 using lignocellulosic biomass as inducer substrate // Applied Biochemistry and Biotechnology. 2011. V. 164. No. 3. P. 256–267. doi: 10.1007/s12010-010-9132-8
17. Tuncer M., Kuru A., Isikli M., Sahin N., Celenk F.G. Optimization of extra-cellular endoxylanase, endoglucanase and peroxidase production by *Streptomyces* sp. F2621 isolated in Turkey // Journal of Applied Microbiology. 2004. V. 97. No. 4. P. 783–791. doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02361.x
18. Gauze G.F., Preobrazhenskaya T.P., Sveshnikova M.A., Terekhova L.P., Maksimova T.S. Determinant of actinomycetes. Genera *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Chainia*. Moskva: Nauka, 1983. 248 p. (in Russian)
19. Teather R.M., Wood P.J. Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen // Appl Environ Microbiol. 1982. V. 43. No. 4. P. 777–780. doi: 10.1128/AEM.43.4.777-780.1982
20. Practicum on the physiology and biochemistry of fungi: textbook / Ed. A.V. Kurakov. Moskva: MGU named M.V. Lomonosov, 2017. 215 p. (in Russian)
21. Hristovska T.V. Microbiology of the processes of soil formation. Moskva: Nauka, 1980. 187 p. (in Russian)
22. Dobrovolskaya T.G., Golovchenko A.V., Lysak L.V. Bacterial communities of upper peatlands // Bolota i biosfera. 2018. P. 31–37 (in Russian).
23. Nazarova Ya.I., Shirokikh I.G., Bakulina A.V., Baranova E.N., Ashikhmina T.Ya. Identification of two rhizosphere isolates of streptomycetes and in vitro study of their colonizing activity // Theoretical and Applied Ecology. 2019. No. 3. P. 72–79 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-3-072-079
24. Shirokikh I.G., Fokina A.I. *Streptomyces castelarensis* A4 as an agent of biological control of phytopathogens // Advanced biotechnologies – achievements and prospects. Abstract Book. International Scientific Symposium (Vth Edition). Chisinau, Republic of Moldova: Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection, 2019. P. 123 (in Russian).