

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ



УДК 631.466.2+58.071

Стрептомицеты из ризосферы трех лекарственных растений в качестве стимуляторов роста растений и агентов биоконтроля**И.Г. Широких^{1, 2, *} , С.Э. Мокрушина^{1, 2}** ¹Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого, Россия, г. Киров, 610007, ул. Ленина, д. 166а;²Вятский государственный университет, Россия, г. Киров, 610000, ул. Московская, д. 36

*e-mail: irgenal@mail.ru

Исследована численность и функциональная структура комплексов стрептомицетов, выделенных из ризосферы трех видов флоры лекарственных растений Вятско-Камского Предуралья (Кировская область) — *Melissa officinalis* L., *Urtica dioica* L. и *Capsella bursa-pastoris* L. Общая численность представителей рода *Streptomyces* варьировала в ризосфере от $(3,0 \pm 1,6) \times 10^5$ до $(1,4 \pm 0,5) \times 10^6$ КОЕ/г субстрата в зависимости от вида растения, доля в прокариотном комплексе разных видов изменялась от 4% (*C. bursa-pastoris*) до 31% (*M. officinalis*). Из доминирующих на чашках колоний выделено 36 штаммов бактерий, культурально-морфологические признаки которых являются характерными для представителей рода *Streptomyces*. Установлено, что большинство (82%) изолятов из ризосферы *M. officinalis* способны к синтезу водорастворимых метаболитов антифунгального действия с умеренной и высокой активностью. В ризосфере *C. bursa-pastoris* 42% изолятов способны эффективно осуществлять ферментативный гидролиз целлюлозы. Штаммы, полученные с корней *U. dioica*, выделялись среди других наиболее выраженным фитостимулирующим действием. По результатам оценки антагонистических, целлюлолитических и фиторегуляторных свойств стрептомицетов отобраны девять перспективных штаммов с радиальной скоростью роста до $65,7 \pm 8,8$ мкм/ч, способных к синтезу индольных соединений (индолил-3-уксусной кислоты) в количестве до $24,0 \pm 0,9$ мкг/мл, которые могут оказывать положительное влияние на рост и развитие сельскохозяйственных растений. Полученные результаты будут полезны для определения стратегий поиска, выявления и использования этой группы бактерий в качестве агентов биологического контроля и стимуляторов роста растений.

Ключевые слова: *Streptomyces*, ризосферный комплекс, *Melissa officinalis* L., *Urtica dioica* L., *Capsella bursa-pastoris* L., фиторегуляция, антагонизм, целлюлолитическая активность

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-79-2-4

Быстрое приобретение вредоносными организмами устойчивости к химическим пестицидам стало проблемой мирового растениеводства и диктует необходимость разработки альтернативных средств защиты на основе живых клеток микроорганизмов и их метаболитов, оказывающих, помимо биоконтрольного действия, благотворное влияние на рост и продуктивность растений, экологическую чистоту растениеводческой продукции [1, 2]. Одной из перспективных в этом отношении групп являются актиномицеты, в частности — рода *Streptomyces*, способные, благодаря огромному разнообразию синтеза биологически активных веществ, не только избирательно сдерживать распространение фитопатогенов, но и стимулировать у растений рост и стрессоустойчивость [3–5].

Часто ресурсным источником кандидатных штаммов для создания биологических препаратов с биоконтрольным и ростстимулирующим действием служит ризосфера сельскохозяйственных растений [6–8]. В научной литературе последних лет особое внимание уделено актинобиоте лекарственных растений [5, 9, 10]. Изоляты из ризосферы *Rubus ellipticus* Sm. и *Ageratina riparia* (Regel) R.M.King & H.Rob., используемых в традиционной медицине стран Юго-Восточной Азии, увеличивали in vitro всхожесть семян и линейные размеры проростков томата [11]. Актиномицеты с высокой антифитопатогенной активностью обнаружены в ризосфере полыни (*Artemisia tridentata* Nutt.) [12]. Сообщалось, что актиномицеты, выделенные из ризосферы мускатного ореха (*Myristica fragrans* Houtt), применяемого в качестве улучшающего

пищеварение средства, обладают антагонистической активностью в отношении фитопатогенных микроорганизмов, солюбилизируют фосфаты и продуцируют внеклеточные ферменты целлюлазу и ксиланазу [13]. У изолятов актиномицетов из ризосферы лекарственного растения *Arnebia euchroma* (Royle) I.M. Johnst, произрастающего в суровых условиях Гималаев, отмечены такие агрономически ценные свойства, как солюбилизация фосфатов, активность фитазы, фиксация азота, продукция сидерофоров [5]. Высокой антимикробной активностью и способностью стимулировать рост растений характеризовались два ризосферных изолята стрептомицетов, ассоциированных с корнями пиона лекарственного (*Paeonia officinalis* L.) в Китае [14].

Для эффективного использования биологического потенциала стрептомицетов в растениеводстве и земледелии необходима информация об их распространении в растительном континууме и других регионах, сопряженная с характеристиками агрономической ценности их метаболитов.

Целью настоящего исследования стала сравнительная характеристика функциональной структуры комплексов стрептомицетов, ассоциированных с корнями трех лекарственных растений флоры Кировской области, и выявление новых штаммов, пригодных к использованию в растениеводстве и земледелии.

Материалы и методы

Отбор образцов, выделение и культивирование микроорганизмов. Исследовали функциональную структуру комплексов актиномицетов, ассоциированных с корнями культивируемого вида Melissa лекарственная (*Melissa officinalis* L.), а также двух дикорастущих видов — крапива двудомная (*Urtica dioica* L.) и пастушья сумка (*Capsella bursa-pastoris* L.) — типичных для флоры лекарственных растений Вятско-Камского Предуралья. Отбор проб производили в окрестности г. Котельнич Кировской области в осенний период, извлекая растение вместе с прилипшей к корням почвой. Садовую дерново-подзолистую почву участка отбора проб характеризовали слабокислая реакция, относительно высокая гумусность и хорошая обеспеченность элементами питания.

Для каждого вида растений анализировали смешанный образец, составленный объединением трех индивидуальных проб. Ризосферной считали почву, оставшуюся на корнях после интенсивного отряхивания. Перед посевом подсушенную почву с корнями прогревали при 70°C в течение 4 ч для ограничения роста немикелиальных бактерий. Посев проводили из разведений почвенных суспензий и корневых гомогенатов поверхностно на казеин-глицериновый агар (КГА) в 3-кратной повторности. Посевы инкубировали в термостате при 28°C в течение 2–3 нед. Из вырастающих на КГА колоний было выделено от 11 до 13 культур

актиномицетов для каждого изучаемого вида растений. Изоляты нумеровали и фиксировали их принадлежность к определенному растительному образцу, что было необходимо для дальнейшей обработки данных. Принадлежность изолятов к определенному образцу маркировали следующим образом: МС — ризосфера мелиссы лекарственной; КР — ризосфера крапивы двудомной; ПС — ризосфера пастушьей сумки. После процедуры очистки изоляты хранили на скошенном овсяном агаре при 4°C.

Видовую идентификацию стрептомицетов проводили на основании морфологических (форма цепочек спор) и культуральных (окраска воздушного и субстратного мицелия, наличие растворимых и меланоидных пигментов на диагностических средах) признаков, которые учитывали после 18 сут инкубации при 28°C согласно ключу Гаузе [15]. Форму цепочек спор изучали с помощью светового микроскопа Leica DM 2500 (Leica, Германия).

Исследование функциональных свойств изолятов. Антагонистические свойства изолятов изучали по отношению к фитопатогенным грибам *Fusarium culmorum* (W.G. Smith), *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker, *Alternaria* sp. Nees, 1817 из рабочей коллекции микроорганизмов Федерального аграрного научного центра Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого. Выбор грибов, изолированных из пораженных корневыми гнилями растений ячменя, обусловлен высокой их вредоносностью в условиях Волго-Вятского региона РФ [16].

Стрептомицеты выращивали в жидкой питательной среде Гаузе 1 [15] на качалке (120 об./мин) в течение 7 сут при комнатной температуре (20±2°C), тест-культуры грибов — на солодовом агаре [17] в течение 10 сут при 28°C. Из газонных культур грибов вырезали агаровые блоки с мицелием, диаметром 6 мм, и помещали каждый блок в центр чашки Петри с плотной питательной средой того же состава. Вокруг блока размещали на равном расстоянии друг от друга и от краев чашки по 3 стерильных диска из фильтровальной бумаги, на которые наносили по 10 мкл жидкой культуры стрептомицетов. Всего было протестировано 36 изолятов стрептомицетов. Каждый вариант закладывали в 3-кратной повторности. После 14 сут инкубации при 28°C измеряли диаметры зон отсутствия роста тест-грибов вокруг дисков. Зоны подавления и угнетения роста грибов измеряли без учета диаметра диска (5 мм).

Целлюлазную активность изолятов определяли в тесте с Конго красным, согласно опубликованной методике [18]. Культуры стрептомицетов выращивали на среде Гетчинсона, содержащей в качестве единственного источника углерода 1% карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ), при 28°C в течение 10 сут. Учитывая, что продукты деструкции

КМЦ не окрашиваются красителем, об активности гидролиза судили по величине светлой зоны вокруг колонии тестируемого микроорганизма.

Способность ризосферных изолятов к фосфатмобилизации определяли при посеве изолятов уколом на среду Муромцева [19] в 9 повторностях (по 3 на чашку). В случае растворения фосфатов появление прозрачных зон вокруг колоний учитывали на 10-е сут.

Оценку фиторегуляторного действия изолятов проводили в водно-бумажной культуре на семенах мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Приокская. Семена поверхностно стерилизовали 5%-ным раствором хлорамина в течение 10 мин, промывали стерильной водой, замачивали в жидких 7-суточных культурах стрептомицетов (разведение 1:10 водой) и экспонировали в течение 2 ч на качалке (120 об./мин). Обработанные таким образом семена раскладывали в чашки Петри на поверхность увлажненной фильтровальной бумаги, помещая в каждую чашку по 10 семян. Каждый вариант закладывали в 3-кратной повторности. Контролем служили семена, замоченные в воде. Семена проращивали при $20 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 6 сут, после чего учитывали всхожесть семян и морфометрические показатели проростков.

У штаммов, продемонстрировавших фитостимулирующее действие, определяли способность продуцировать ауксины с реактивом Сальковского [20]. Бактерии выращивали в жидкой среде, содержащей (г/л): глюкоза – 2, сахароза – 2, пептон – 1, дрожжевой экстракт – 1, K_2HPO_4 – 0,5, NaCl – 0,1, MgSO_4 – 0,2, KNO_3 – 0,75, CaCl_2 – 0,02, FeCl_3 – 0,01, Na_2MoO_4 – 0,002; pH 6,8–7,2. В качестве предшественника индольных соединений в среду добавляли DL-триптофан (ДИАЭМ, Россия) в количестве 0,1 г/л. Инкубировали на качалке (180 об./мин) при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$). Пробы для анализа отбирали асептически спустя 5, 7 и 9 сут от начала культивирования. Культуральную жидкость от клеток освобождали центрифугированием при 6000 г в течение 10 мин. Определение количества индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) проводили с использованием реактива Сальковского на спектрофотометре UVmini-1240 (Shimadzu, Япония) при длине волны 540 нм. Для построения калибровочного графика использовали разведения стандартного раствора ИУК (Fluka, Швейцария). Контролем служила среда без инокуляции, но с добавлением реактива.

Для определения радиальной скорости роста посев стрептомицетов производили уколом в агаризованную среду Гаузе 1 в 9 повторностях (по 3 на чашку) для каждого штамма. Чашки с посевами инкубировали при 28°C . Измерение диаметров колоний проводили через 96 и 216 ч от начала культивирования. За диаметр отдельной колонии в данный момент времени принимали среднее арифметическое 9 измерений.

Скорость роста колоний рассчитывали по формуле:

$$Kr = \frac{D_2 - D_1}{t_2 - t_1},$$

где Kr – радиальная скорость роста, мкм/ч; D_1 и D_2 – диаметр колоний (мкм) в начальный (t_1) и конечный (t_2) моменты времени измерения соответственно (ч) [17].

Статистическую обработку данных проводили стандартными методами с использованием пакетов программ Microsoft Excel 8 и STATGRAPHICS Centurion XVI.I. Использовали следующие статистические характеристики: среднее арифметическое и его стандартное отклонение. Степень статистической связи между признаками оценивали с помощью коэффициентов корреляции при уровне статистической значимости $p < 0,01$.

Результаты и обсуждение

Чтобы получить представление о потенциале ризосферной актинобиоты лекарственных растений в повышении продуктивности сельскохозяйственных культур, необходим анализ как можно более широкого спектра видов, произрастающих в различных почвенно-климатических условиях.

В ризосфере исследованных лекарственных растений общая численность актиномицетов, учитываемых на КГА, увеличивалась в ряду: пастушья сумка ($3,0 \pm 1,6$) $\times 10^5 <$ мелисса лекарственная ($1,3 \pm 0,3$) $\times 10^6 \leq$ крапива двудомная ($1,4 \pm 0,5$) $\times 10^6$ КОЕ/г субстрата. Доля актиномицетов в прокариотном комплексе разных видов изменялась от 4% (пастушья сумка) до 31% (мелисса лекарственная).

Из колоний различных морфотипов, характерных для представителей рода *Streptomyces*, были выделены и очищены 36 изолятов. Для каждого вида растений анализировали выборки приблизительно равного объема – от 11 до 13 культур. Все изоляты имели культурально-морфологические признаки (нефрагментированный мицелий, длинные цепочки спор в воздушном мицелии и отсутствие спор на субстратном мицелии), характерные для представителей рода *Streptomyces* [15]. На основании анализа культурально-морфологических признаков все полученные изоляты были отнесены к 16 видам из 5 серий и 3 секций (табл. 1).

По результатам определения антагонистической активности изоляты стрептомицетов были, в зависимости от величины зоны подавления роста тест-культур, отнесены к одной из трех групп: с низкой (≤ 10 мм), умеренной (от 11 до 20 мм) и высокой (≥ 21 мм) антагонистической активностью. Долевое соотношение этих групп в ризосферных комплексах исследованных растений было неодинаковым (рис. 1А). Высокой (64%) и умеренной (18%) антагонистической активностью характеризовались изоляты с корней мелис-

сы лекарственной, в ризосферных комплексах крапивы двудомной и пастушьей сумки преобладали изоляты с умеренной активностью (31% и 50% соответственно). На культуры, не проявившие антагонизма к тест-грибам, приходилось 25% в ризосфере пастушьей сумки и 46% – в ризосфере крапивы, в то время как все изоляты, ассоциированные с корнями Melissa officinalis, характеризовались, в той или иной степени, антагонистической активностью.

В тесте с Конго красным все исследуемые штаммы стрептомицетов проявили способность

к ферментативному гидролизу целлюлозы. В зависимости от диаметра зоны гидролиза они также были распределены между тремя группами: с низкой (≤ 15 мм), умеренной (от 16 до 30 мм) и высокой (≥ 31 мм) целлюлазной активностью. Долевое соотношение изолятов, отнесенных к разным группам, в ризосфере Melissa officinalis, крапивы двудомной было сходным: преобладали (82–84%) культуры с умеренной ферментативной активностью, тогда как 42% культур среди изолятов с корней пастушьей сумки отличались высокой целлюлолитической активностью (рис. 1Б).

Таблица 1

Видовой состав стрептомицетных комплексов ризосферы лекарственных растений

Секция	Серия	Вид	Ризосфера		
			мелиссы лекарственной	крапивы двудомной	пастушьей сумки
Cinereus	Achromogenes	<i>S. griseofuscus</i>	+		+
		<i>S. nigrifaciens</i>	+	+	+
		<i>S. clavuligerus</i>	+	+	
	Chromogenes	<i>S. achromogenes</i>	+		
		<i>S. fumosus</i>	+		
		<i>S. aureofaciens</i>			+
		<i>S. argenteolus</i>	+	+	
		<i>S. xanthocidicus</i>			+
		<i>S. halstedii</i>			+
	Violaceus	<i>S. violaceoruber</i>		+	
		<i>S. minoensis</i>		+	
		<i>S. herbaricolor</i>	+	+	
Albus	Albus	<i>S. candidus</i>	+		+
		<i>S. sindenensis</i>		+	
Helvolo-Flavus	Flavus	<i>S. xanthochromogenes</i>		+	
		<i>S. helvoloviolaceus</i>		+	

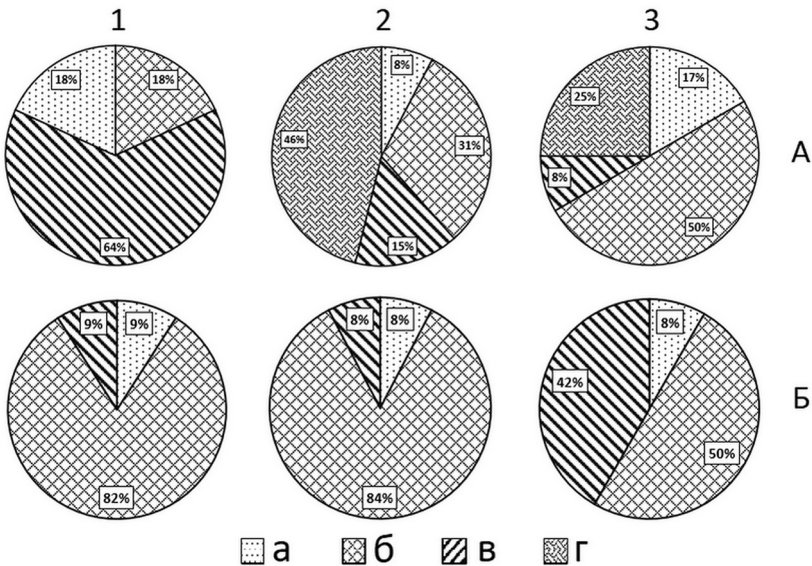


Рис. 1. Долевое соотношение штаммов стрептомицетов с антагонистической и целлюлолитической активностью в ризосфере лекарственных растений. А – антагонисты, Б – целлюлолитики, а – низкая, б – умеренная, в – высокая активность, г – отсутствие активности. 1 – мелисса лекарственная, 2 – крапива двудомная, 3 – пастушья сумка.

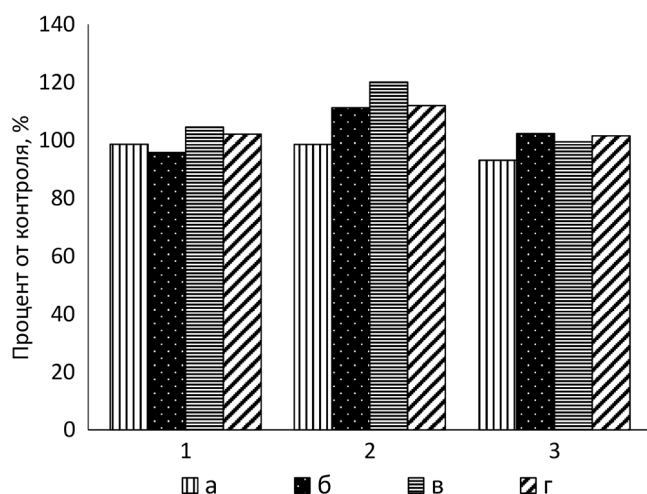


Рис. 2. Всхожесть и морфометрические показатели проростков пшеницы после обработки семян штаммами стрептомицетов, выделенными из ризосферы лекарственных растений. **а** – всхожесть, **б** – длина корня, **в** – высота побега, **г** – сухая биомасса. **1** – Melissa лекарственная, **2** – крапива двудомная, **3** – пастушья сумка.

Тестирование ризосферных изолятов на способность растворять неорганические фосфаты выявило среди них три штамма, обладающие такой активностью – два из ризосферы Melissa (МЕ-1 и МЕ-6) и один – из ризосферы крапивы (КР-3).

Анализ изменчивости показателей всхожести семян и морфометрических параметров проростков пшеницы под воздействием обработки жидкими культурами стрептомицетов выявил особенности их фиторегуляторного действия, опосредованно связанные с источником их выделения – определенным видом растения. Несмотря на то, что увеличение сухой биомассы и линейных размеров проростков обеспечивали отдельные штаммы, выделенные из ризосферы каждого из исследуемых лекарственных видов, в среднем по фитостимулирующему действию, при сравнении выборок равного объема, лидировали стрептомицеты из ризосферы крапивы (рис. 2). По сравнению с контролем в этом варианте проростки отличались в среднем большими значениями длины корня (на 11%) и высоты побега (на 20%), а также накопления сухой биомассы (на 12%). Варьирование показателей «высота побега» и «сухая биомасса» проростков под влиянием водорастворимых метаболитов стрептомицетов было более значительным, чем варьирование показателя «длина корня».

Всхожесть семян, обработанных жидкими культурами стрептомицетов, по сравнению с контролем проявила тенденцию к снижению, особенно значительному при использовании изолятов с корней пастушьей сумки.

Формирование бактериального сообщества ризосферы в значительной степени обусловлено

корневой экскрецией. По разным оценкам, от 5% до 40% фиксированного в процессе фотосинтеза углерода может выделяться в ризосферу в виде корневых выделений [2]. Спектр корневых экссудатов варьирует в зависимости от вида, возраста, фазы развития растения и условий внешней среды [21]. Считается, что растения эволюционируют совместно со своим микробиомом, который на протяжении всего жизненного цикла является неотъемлемым компонентом растения [22]. Концепция растительного микробиома расширила представления о возможной роли микроорганизмов и их генов в обеспечении жизнеспособности и приспособленности растений к различным условиям произрастания [23]. Микроорганизмы, колонизирующие растение, могут активно модулировать пути биосинтеза и системы экспрессии генов хозяина [24]. Установлены обусловленные взаимодействием растений с микроорганизмами изменения метаболомного статуса, приводящие к изменению некоторых ключевых метаболитов, имеющих сельскохозяйственное и медицинское значение [25]. Роль микроорганизмов-ассоциантов и симбионтов в первичном и вторичном метаболизме растений-хозяев, а также как источника важных вторичных метаболитов продемонстрирована у различных видов растений [26, 27].

Проведенные исследования показывают, что антагонисты фитопатогенных грибов преобладают в долевом отношении среди штаммов, выделенных из ризосферы Melissa лекарственной. Стрептомицетный комплекс крапивы отличается высокая представленность штаммов с фитостимулирующей активностью. Наиболее высокая доля целлюлолитиков отмечена в ризосферном комплексе пастушьей сумки. Вместе с тем, штаммы с сочетанием двух и более полезных активностей встречаются в ризосфере каждого из исследованных лекарственных видов и могут оказывать на рост и развитие растений положительное влияние.

По совокупности антагонистических, целлюлолитических и фитостимулирующих свойств, с учетом фосфатмобилизующей активности ризосферных изолятов, среди них были отобраны штаммы-лидеры, для которых дополнительно определяли способность к продукции ауксинов и радиальную скорость роста колоний (табл. 2).

Фитостимулирующее действие стрептомицетов часто обусловлено синтезом фитогормонов. Одним из широко распространенных в природе фитогормонов, наиболее активным в группе ауксинов, является ИУК. Максимум накопления ИУК наблюдали в конце логарифмической – начале стационарной фазы роста бактерий, т.е. на 5-е сутки жидкофазного культивирования на чашке. Однако у штаммов ПС-9, КР-10 и ПС-7, с наиболее высокой в этот период концентрацией ИУК в культуральной жидкости ($20,2 \pm 0,85$; $18,7 \pm 1,0$ и $14,9 \pm 0,64$ мкг/мл соответственно),

Таблица 2

Свойства перспективных штаммов стрептомицетов, выделенных из ризосферы лекарственных растений

Штамм	Фосфатмобилизация	Диаметр зон ингибирования тест-грибов, мм			Зона гидролиза КМЦ, мм	Синтез ИУК, мкг/мл	Радиальная скорость роста, мкм/ч
		<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Bipolaris sorokiniana</i>			
<i>S. griseofuscus</i> ME-1	+	11±0	16±1,1	13±0,6	27±0,6	11,8±2,6	36,1±8,1
<i>S. clavuligerus</i> ME-2	—	14±0,5	14±0	13±0	30±1,1	14,9±2,6	33,3±4,2
<i>S. nigrifaciens</i> ME-3	—	15±0,5	15±0	11±0,6	30±1,1	10,6±2,4	40,7±6,5
<i>S. herbaricolor</i> ME-6	+	11±0	0	0	24±0,5	5,7±1,6	42,6±2,8
<i>S. helvolioviolaceus</i> KP-3	+	0	0	0	18±1,5	4,8±1,2	47,2±5,9
<i>S. minoensis</i> KP-10	—	0	0	0	34±0	18,7±1,0	65,7±8,8
<i>S. nigrifaciens</i> ПС-7	—	0	0	15±0,6	33±0	14,85±0,64	52,5±5,1
<i>S. nigrifaciens</i> ПС-8	—	13±0	6±0,5	11±0	31±1,1	16,6±0,14	30,9±6,1
<i>S. nigrifaciens</i> ПС-9	—	12±0,5	0	8±0,5	26±0,6	20,2±0,85	20,8±8,5

отмечали дальнейшее накопление ауксина, вплоть до девятых суток наблюдения ($22,3 \pm 1,56$; $24,0 \pm 0,9$ и $17,35 \pm 0,92$ мкг/мл соответственно). В жидких культурах других штаммов, отличающихся от них существенно меньшим накоплением ИУК на 5-е сут — ME-6 ($5,7 \pm 1,6$ мкг/мл) и KP-3 ($4,8 \pm 1,2$ мкг/мл) — к 9-м сут концентрация ИУК, напротив, снижалась до $3,0 \pm 1,0$ и $2,8 \pm 1,0$ мкг/мл соответственно. У прокариот известно несколько путей биосинтеза ауксинов, различающихся по количеству стадий, ведущих к образованию конечного продукта [28]. Возможно, это является причиной выявленных различий в динамике синтеза ИУК различными представителями рода *Streptomyces*, ассоциированными с растениями. Сопоставление данных количественной оценки синтеза ИУК ризосферными штаммами стрептомицетов с результатами изменения морфометрических показателей проростков пшеницы под влиянием обработки семян теми же штаммами (рис. 2) не выявило прямых корреляций между этими параметрами.

Для практического использования бактерий с целью стимуляции роста и продуктивности растений необходимо учитывать не только интенсивность микробного синтеза ИУК, ферментов, биоцидных соединений, но и способность кандидатных штаммов к активной колонизации пространства. Результаты определения радиальной скорости роста перспективных штаммов показали, что ее значения изменяются для отдельных представителей стрептомицетов от $20,8 \pm 8,5$ до $65,7 \pm 8,8$ мкм/ч. Наиболее активными в заселении пространства оказались изоляты KP-10 и ПС-7, за ними следовал штамм KP-3 (табл. 2). Общей особенностью быстрорастущих штаммов являлась низкая антагонистическая активность (ПС-7) или ее отсутствие (KP-3, KP-10). Но прямых статистически значимых корреляций между кинетикой ро-

ста и проявлением функциональных активностей среди отобранных перспективных штаммов не установлено.

Таким образом, в результате исследования функциональной структуры комплексов стрептомицетов в ризосфере трех лекарственных растений определены источники для целевого, наиболее вероятного выделения штаммов с антифунгальной, целлюлолитической, фитостимулирующей активностью. Выявлены перспективные штаммы рода *Streptomyces* с потенциалом полифункционального действия, которые могут оказывать положительное влияние на рост и развитие сельскохозяйственных растений. Полученные результаты представляют интерес для определения стратегий поиска, выявления и использования этой группы бактерий, обладающих способностью продуцировать широкий спектр метаболитов, оказывать фиторегуляторное действие и ограничивать вредоносное влияние фитопатогенных микроорганизмов. Научно обоснованное применение бактериальных препаратов на основе ризосферных стрептомицетов, как элемента органического земледелия в технологиях выращивания сельскохозяйственных культур, позволит существенно снизить хемотропную нагрузку на агроэкосистемы и производить более чистую в экологическом отношении растениеводческую продукцию в результате уменьшения количеств применяемых минеральных удобрений и химических средств защиты растений.

Работа выполнена в рамках государственного задания FNWE-2022-0005 Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 гг.). Исследования проводили без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Berendsen R.L., Pieterse C.M., Bakker P.A. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci.* 2012;17(8):478–486.
- Turner T.R., James E.K., Poole P.S. The plant microbiome. *Genome Biol.* 2013;14(6):209.
- Rey T., Dumas B. Plenty is no plague: *Streptomyces* symbiosis with crops. *Trends Plant Sci.* 2017;22(1):30–37.
- Vurukonda S.S.K.P., Giovanardi D., Stefani E. Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces* spp. as endophytes. *Int. J. Mol. Sci.* 2018;19(4):952.
- Devi S., Sharma P., Rana A., Pal J., Kumari A. Diversity and plant growth-promoting potential of actinomycetes associated with the rhizosphere of *Arnebia euchroma* from Himachal Pradesh (India). *J. Environ. Biol.* 2021;42(4):964–972.
- Wahyudi A.T., Priyanto J.A., Fijrina H.N., Mariastuti H.D., Nawangsih A.A. *Streptomyces* spp. from rhizosphere soil of maize with potential as plant growth promoter. *Biodiversitas.* 2019;20(9):2547–2553.
- Fatmawati U., Meryandini A., Nawangsih A.A., Wahyudi A.T. Screening and characterization of actinomycetes isolated from soybean rhizosphere for promoting plant growth. *Biodiversitas.* 2019;20(10):2970–2977.
- Cinkocki R., Lipkova N., Javorekova J., Makova J., Medo J., Ducsay L. The Impact of growth-promoting Streptomycetes isolated from Rhizosphere and bulk soil on Oilseed Rape (*Brassica napus* L.) growth parameters. *Sustainability.* 2021;13(10):5704.
- Nalini M.S., Prakash H.S. Diversity and bioprospecting of actinomycete endophytes from the medicinal plants. *Lett. Appl. Microbiol.* 2017;64(4):261–270.
- Harrison J.G., Griffin E.A. The diversity and distribution of endophytes across biomes, plant phylogeny and host tissues: how far have we come and where do we go from here? *Environ. Microbiol.* 2020;22(6):2107–2123.
- Syiemiong D., Jha D.K., Adhikari S., Myllemnangap D., Kharbuki R., Lyngdoh D., Warlarpah J.P., Paul N., Lamare K.M., Wahlang C., Lyngkholi R. Rhizospheres of *Rubus ellipticus* and *Ageratina riparia* from Meghalaya exhibit Actinomycetota that promote plant growth. *J. Appl. Biol. Biotechnol.* 2023;11(2):114–122.
- Gonzalez-Franco A.C., Robles-Hernández L. Antagonist activities and phylogenetic relationships of actinomycetes isolated from an *Artemisia* habitat. *Rev. Argent. Microbiol.* 2022;54(4):326–334.
- Mahulette F., Utarti E., Kurnia T.S. Isolation and potency of Actinomycetes from rhizosphere of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi.* 2023;11(1):59–68.
- Wang C., Wang Y., Ma J., Hou Q., Liu K., Ding Y., Du B. Screening and whole-genome sequencing of two *Streptomyces* species from the rhizosphere soil of peony reveal their characteristics as plant growth-promoting rhizobacteria. *BioMed Res. Int.* 2018;2018(1):2419686.
- Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А., Терехова Л.П., Максимова Т.С. *Определитель актиномицетов.* М.: Наука; 1983. 246 с.
- Шешегова Т.К., Щеклеина Л.М., Лисицын Е.М. Генотипическая и физиологическая адаптация сортов ячменя селекции ФАНЦ Северо-Востока к грибным болезням. *Вестник КрасГАУ.* 2022;8(185):33–41.
- Билай В.И. *Методы экспериментальной микологии.* М.: Рипол Классик; 1973. 240 с.
- Wood P.J., Erfle J.D., Teather R.M. Use of complex formation between Congo Red and polysaccharides in detection and assay of polysaccharide hydrolases. *Methods Enzymology: Biomass Part A: Cellulose and Hemicellulose, vol. 160.* Eds. W.A. Wood and S.T. Kellogg. Elsevier Inc.; 1988:59–74.
- Егоршина А.А., Хайруллин Р.М., Лукьянцев М.А., Курамшина З.М., Смирнова Ю.В. Фосфат-мобилизующая активность эндофитных штаммов *Bacillus subtilis* и их влияние на степень микоризации корней пшеницы. *Журнал СВУ. Биология.* 2011;2:172–182.
- Libbert E., Risch H. Interactions between plants and epiphytic bacteria regarding their auxin metabolism. *Physiol. Plant.* 1969;22(2):51–58.
- Ling N., Zhang W., Wang D., Mao J., Huang Q., Guo S., Shen Q. Root exudates from grafted-root watermelon showed a certain contribution in inhibiting *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *PLoS One.* 2013;8(5):e63383.
- Compant S., Samad A., Faist H., Sessitsch A. A review on the plant microbiome: Ecology, functions, and emerging trends in microbial application. *J. Adv. Res.* 2019;19:29–37.
- Trivedi P., Leach J.E., Tringe S.G., Sa T., Singh B.K. Plant-microbiome interactions, from community assembly to plant health. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020;18(11):607–621.
- Frantzeskakis L., Di Pietro A., Rep M., Schirawski J., Wu C.H., Panstruga R. Rapid evolution in plant-microbe interactions – a molecular genomics perspective. *New Phytol.* 2020;225(3):1134–1142.
- Etalo D.W., Jeon J.S., Raaijmakers J.M. Modulation of plant chemistry by beneficial root microbiota. *Nat. Prod. Rep.* 2018;35(5):398–409.
- Pandey S.S., Singh S., Babu C.S., Shanker K., Srivastava N.K., Kalra A. Endophytes of opium poppy differentially modulate host plant productivity and genes for the biosynthetic pathway of benzyloquinoline alkaloids. *Planta.* 2016;243(5):1097–1114.
- Pandey S.S., Singh S., Pandey H., Srivastava M., Ray T., Soni S., Pandey A., Shanker K., Babu C.S.V., Banerjee S., Gupta M.M., Kalra A. Endophytes of *Withania somnifera* modulate in planta content and the site of withanolide biosynthesis. *Sci. Rep.* 2018;8(1):5450.
- Tsavkelova E.A., Klimova S.Y., Cherdyntseva T.A. Microorganisms—producers of growth stimulants and their practical application. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2006;42(2):133–143.

Поступила в редакцию 15.02.2024

После доработки 19.06.2024

Принята в печать 02.07.2024

RESEARCH ARTICLE

Streptomyces from the rhizosphere of three medicinal plants as plant growth stimulants and biocontrol agents

I.G. Shirokikh^{1,2,*} , S.E. Mokrushina^{1,2} 

¹Federal Scientific Agricultural Center of the North-East, Lenina st. 166a, Kirov, 610007, Russia;

²Vyatka State University, Moskovskaya st. 36, Kirov, 610000, Russia

*e-mail: irgenal@mail.ru

The number and functional structure of streptomyces complexes isolated from the rhizosphere of three species of plantae medicinales from the Vyatka-Kama Urals (Kirov region) – *Melissa officinalis* L., *Urtica dioica* L. and *Capsella bursa-pastoris* L. investigated. The total number of representatives of the genus *Streptomyces* varied in the rhizosphere from $(3.0 \pm 1.6) \times 10^5$ to $(1.4 \pm 0.5) \times 10^6$ CFU/g of substrate, depending on the type of plant, the proportion in the prokaryotic complex of different species varied from 4% (*C. bursa-pastoris*) to 31% (*M. officinalis*). Using selective treatment, 36 strains of bacteria were isolated, the cultural and morphological features of which are characteristic of representatives of the genus *Streptomyces*. It was found that the majority (82%) of isolates from the rhizosphere of *M. officinalis* are capable of synthesizing water-soluble metabolites of antifungal action with moderate and high activity. In the rhizosphere of *C. bursa-pastoris*, 42% of the isolates are able to effectively carry out enzymatic hydrolysis of cellulose. The strains isolated from the roots of *U. dioica* stood out among others with the most pronounced phytostimulating effect. Based on the results of the evaluation of the antagonistic, cellulolytic and phyto regulatory properties of streptomyces, nine promising strains capable of synthesizing indole compounds (indolyl-3-acetic acid) in an amount of up to 24.0 ± 0.9 µg/ml and a radial growth rate of up to 65.7 ± 8.8 µm/h were selected, which can have a positive effect on the growth and development of agricultural plants. The results obtained will be useable for determining strategies for the search, identification and use of this group of bacteria as biological control agents and plant growth stimulators.

Keywords: *Streptomyces*, rhizosphere complex, *Melissa officinalis* L., *Urtica dioica* L., *Capsella bursa-pastoris* L., phyto regulation, antagonism, cellulase activity

Funding: The work was carried out within the framework of the state task FNWE-2022-0005 of the Program of Fundamental Scientific Research in the Russian Federation for the long-term period (2021-2030), project number 123011900026-5.

Сведения об авторах

Широких Ирина Геннадьевна – докт. биол. наук, гл. науч. сотр., зав. лабораторией Федерального аграрного научного центра Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого, проф. кафедры микробиологии Вятского государственного университета. Тел.: 8-8332-33-10-39; e-mail: irgenal@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3319-2729>

Мокрушина Светлана Эдуардовна – магистрант кафедры микробиологии Вятского государственного университета. Тел.: 8-8332-33-10-39; e-mail: sveta.flouni@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-2192-7416>