

УДК 579.64

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ АКТИНОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВ ПОД HERACLEUM SOSNOWSKYI MANDEN**Е.В. Товстик, И.Г. Широких, А.В. Сазанов***Вятский государственный университет, Киров, Россия*

Неотъемлемым условием получения экологически безопасной растениеводческой продукции является разработка биологических препаратов на основе метаболитов высокоэффективных штаммов микроорганизмов [1, 2]. Являясь природными соединениями, микробные метаболиты исключают загрязнение почвы, не аккумулируются в окружающей среде, легко подвергаются деструкции [3]. Ожидается, что к 2020 году, доля рынка препаратов на основе микроорганизмов, стимулирующих рост и обеспечивающих защиту растений от инфекций, может превысить глобальный рынок химических средств защиты растений [4]. При этом основу рынка могут составить препараты как на основе микроскопических грибов (*Ampelomyces*, *Coniothyrium*, *Paecilomyces*, *Phlebiopsis*, *Trichoderma*), так и бактерий (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia*), включая представителей рода *Streptomyces* [5].

Применительно к сельскому хозяйству актинобактерии рода *Streptomyces* рассматривают как потенциальные продуценты сидерофоров, антибиотиков и других биологически активных веществ [6–8]. Основным субстратом, из которого они могут быть выделены, является почва, ризосфера растений и др. [9–11].

Цель работы – скрининг штаммов актинобактерий, перспективных для биотехнологического применения в сельском хозяйстве.

Образцы почв для выделения актинобактерий отбирали в местах массового произрастания *Heracleum sosnowskyi* Manden вблизи г. Кирова (№ 058030°380' Е 049036°683') и в Фалённом районе Кировской области (№ 058021°558' Е 051033°533') (площадки № 1 и 2 соответственно). Содержание $S_{орг.}$ в почве составило соответственно 5,9 и 6,5 %, величина pH_{KCl} – 6,8 и 4,4 ед.

Образцы воздушно-сухой почвы суспендировали в 100 мл стерильной дистиллированной воды, с последующим разведением и высевом в трёхкратной повторности на казеин-глицериновый агар и плотную питательную среду с пропионатом натрия. Посевы инкубировали при 27 °С в течение 7–10 суток. Из выросших на средах колоний были выделены 40 изолятов актинобактерий. Хранение культур осуществляли на среде Гаузе 1 [12].

Скрининг полученных изолятов актинобактерий на биотехнологическую пригодность осуществляли путем анализа их антагонистической активности против фитопатогенных грибов из родов *Fusarium*, *Ulocladium*, *Alternaria*, *Trichoderma* и бактерий *Pseudomonas putida*, *Erwinia herbicola* методом диффузии в агар. Способность к синтезу индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) оценивали в соответствии с Meudt et al. (1967), целлюлолитическую активность изолятов – на плотной питательной среде Гетчинсона с карбоксиметилцеллюлозой (КМЦ), протеолитическую активность – на плотной питательной среде, содержащей бычий сывороточный альбумин [13–15].

Всего в ходе исследования в чистую культуру было выделено 40 штаммов актинобактерий. Скрининг показал, что наличие антагонистической активности у актинобактерий не зависит от места отбора проб почвы (рис. 1).

Изоляты проявляли бактерицидную, антифунгальную и комплексную активность. В большей степени у них был выражен антагонизм по отношению к бактериальным тест-культурам (табл.).

Таблица Антагонизм изолятов актинобактерий, выделенных из почв под *H. sosnowskyi*, в отношении тест-культур

Образец почвы	Доля антагонистически активных изолятов против тест-культур, %						
	1	2	3	4	5	6	7
1	0	5	10	10	5	60	25
2	10	10	0	10	0	55	5

Примечание: 1 – *F. culmorum*, 2 – *F. proliferatum*, 3 – *Ulocladium* sp., 4 – *Alternaria* sp., 5 – *Trichoderma* sp., 6 – *P. putida*, 7 – *E. herbicola*

Всего в ходе изучения антагонистической активности у 60 и 55 % штаммов, выделенных из почв площадок 1 и 2 соответственно, обнаружен антагонизм против *P. putida*. Доля изолятов с антифунгальной и комплексной активностью в отношении исследуемых тест-культур не превысила 20 %.

Процентное содержание изолятов актинобактерий, способных к синтезу ИУК варьировало от 5 до 10 % от общего количества выделенных штаммов (рис. 2).

Доля изолятов с целлюлолитической активностью составила 85 и 90 % от общего количества штаммов, выделенных из почв под *H. sosnowskyi*, соответственно на площадках 1 и 2. При этом соотношение доли изолятов с низкой и высокой целлюлолитической активностью позволило заключить, что из почвы, характеризующейся меньшей кислотностью, доля изолятов с высокой целлюлолитической активностью была выше на 40 % (рис. 3).

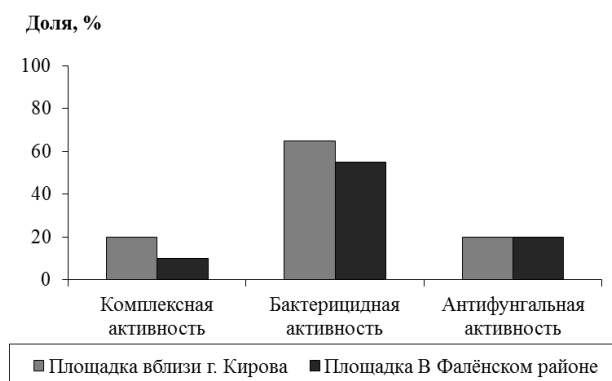


Рис. 1. Доля антагонистически активных изолятов от общего числа актинобактерий, выделенных из почв под *H. sosnowskyi*

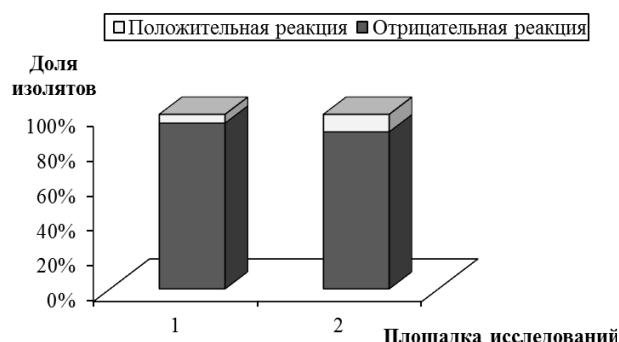


Рис. 2. Доля изолятов актинобактерий из почв под *H. sosnowskyi*, обладающих способностью к синтезу индолил-3-уксусной кислоты

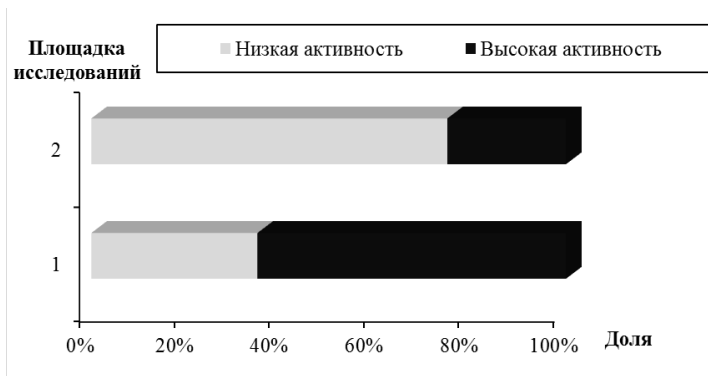


Рис. 3. Доля изолятов актинобактерий из почв под *H. sosnowskyi*, с разной целлюлолитической активностью

Исследованные штаммы актинобактерий не обладали протеолитической активностью.

В качестве перспективных агентов биоконтроля были отобраны штаммы 1N8, 1K6, 3K9; стимуляторов роста растений – *S. sp.* 1K6, 3N6, 3K8; агентов для биоконверсии трудноразлагаемых отходов растениеводства – *S. sp.* 1N7, 1K8, 1K10, 3K9.

Таким образом, в ходе скрининговых исследований было показано, что из общей выборки штаммов актинобактерий, выделенных из почв под *H. sosnowskyi*, чаще всего встречаются изоляты с бактерицидной активностью, реже – с антифунгальной. Несмотря на то, что доля штаммов, обладающих целлюлолитической активностью выше в более кислых почвах, в них чаще встречаются изоляты актинобактерий с низкой целлюлолитической активностью. В почвах под *H. sosnowskyi*, встречаются актинобактерии, способные к синтезу ИУК, однако их доля от общего числа выделяемых штаммов незначительна. По комплексу признаков с целью дальнейшей оценки биотехнологической пригодности для сельского хозяйства рекомендовано 8 штаммов *Streptomyces sp.*: 1N7, 1N8, 1K6, 1K8, 1K10, 3K8, 3K9, 3N6.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Trivedi P.P., Schenk P.M., Wallenstein M.D., Singhet B.K. Tiny Microbes, Big Yields: enhancing food crop production with biological solutions // *Microbial Biotechnology*. 2017. V. 10. № 5. P. 999–1003.
2. Муродова С.С., Давранов К.Д. Комплексные микробные препараты. Применение в сельскохозяйственной практике // *Biotechnologia Acta*. 2014. № 6. С. 92–101.
3. Дятлова К.Д. Микробные препараты в растениеводстве // Соросовский образовательный журнал. 2001. Т. 7. № 5. С. 17–22.
4. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https:// www.marketsandmarkets.com](https://www.marketsandmarkets.com) (Дата обращения 24.07.19).
5. Mazzola M., Freilich S. Prospects for Biological Soilborne Disease Control: Application of Indigenous Versus Synthetic Microbiomes // *Phytopathology*. 2017. V. 107. № 3. P. 256–263.
6. Oikawa H., Ogawa H., Hosono K. et al. Desferrioxamine E produced by *Streptomyces griseus* stimulates growth and development of *Streptomyces tanashiensis* // *Microbiology*. 2005. V. 51. № 9. P. 2899–2905.
7. Kim B.Y., Bae M.H., Ahn J.H. et al. Isolation and Characterization of Actinomycete Strain BK185 Possessing Antifungal Activity against Ginseng Root Rot Pathogens // *The Korean Journal of Pesticide Science*. 2014. V. 18. № 4. P. 396–403.
8. Khebizi N., Boudjella H., Bijani C. et al. Oligomycins A and E, major bioactive secondary metabolites produced by *Streptomyces sp.* strain HG29 isolated from a Saharan soil // *Journal de mycologie medicale*. 2018. V. 28. № 1. P. 150–160.
9. Гришко В.Н., Сыщикова О.В., Зенова Г.М. и др. Мицелиальные актинобактерии засоленных почв аридных территорий Украины и России // *Почвоведение*. 2015. № 1. С. 81–86.
10. Sarmiento-Vizcaíno A., Espadas J., Martín J. et al. Atmospheric precipitations, hailstone and rainwater, as a novel source of *Streptomyces* producing bioactive natural products // *Frontiers in microbiology*. 2018. V. 9. P. 773.
11. Широких И.Г. Актиномицеты в ризосфере некоторых сельскохозяйственных растений // *Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. мат. докл. / Отв. ред. Вл. В. Кузнецов*. М: Изд-во АНО «Центр содействия научной, образовательной и просветительской деятельности «Соцветие», 2017. С. 75.
12. Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. Роды *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Chainia*. М.: Наука, 1983. 248 с.
13. Meudt W.J., Gaines T.P. Studies on the oxidation of indole-3-acetic acid by peroxidase Enzymes. Colorimetric Determination of Indole-3-Acetic Acid Oxidation Products // *Plant Physiology*. 1967. № 42. P. 1395–1399.
14. Teather R.M., Wood P.J. Use of Congo red-polysaccharide interaction in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria the bovine rumen // *Appl. Environ. Microbiol.* 1982. V. 43. P. 777–780.
15. Fotedar R., Al-Hedaithy S.S. Comparison of phospholipase and proteinase activity in *Candida albicans* and *C. dubliniensis* // *Mycoses*. 2005. V. 48. P. 62–67.