

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Астраханский государственный университет»

На правах рукописи

ГРИГОРЯН ЛИЛИТ НОРАЙРОВНА



БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
АКТИНОМИЦЕТОВ – ПРОДУЦЕНТОВ
АНТИМИКРОБНЫХ МЕТАБОЛИТОВ

Специальности:

1.5.11. – Микробиология

1.5.6. – Биотехнология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

к.б.н., доцент Батаева Юлия Викторовна

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	16
1.1. Морфологические, физиологические и биохимические свойства актиномицетов.....	16
1.2. Развитие и роль актиномицетов в почвенных экосистемах.....	18
1.3. Особенности и синтез метаболитов актиномицетов.....	23
1.4. Положительное и антагонистическое воздействие актиномицетов на микроорганизмы.....	27
1.5. Влияние актиномицетов на растения.....	33
1.6. Биотехнологические возможности актиномицетов и биопрепараты на их основе для агробiotехнологий.....	34
1.7. Заключение по обзору литературы.....	36
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	37
2.1. Штаммы микроорганизмов и среды культивирования.....	37
2.2. Отбор почвенных образцов.....	39
2.3. Биологические свойства штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883.....	39
2.3.1. Изучение культурально-морфологических, биохимических и генетических свойств штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883.....	39
2.3.2. Определение фитотоксичности штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883.....	41
2.3.3. Оценка безвредности штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 в отношении дафний.....	42
2.4. Определение антиоксидантной активности штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM0488.....	43
2.5. Определение активности штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 в отношении вирусных и грибных патогенов растений.....	44
2.6. Определение механизмов антагонистического действия штаммов <i>S.</i>	

<i>carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883.....	48
2.6.1. Выявление доминирующих веществ метаболитов штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 методом определения оптической плотности.....	48
2.6.2. Установление основных групп веществ метаболитов штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 методом качественных реакций.....	48
2.6.3. Разделение и определение активных метаболитов штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 методом ТСХ.....	49
2.6.4. Определение активных метаболитов штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 методом ВЭЖХ.....	50
2.6.5. Газохроматографическое определение активных метаболитов штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697.....	50
2.7. Оптимизация состава питательных сред на колбах.....	51
2.8. Периодическое культивирование штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 в биореакторе с целью получения биомассы и антимикробных метаболитов.....	51
2.9. Методы получения экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883.....	52
2.10. Методики деляночных полевых испытаний экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883.....	53
2.10.1. Деляночные полевые испытания экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 томате.....	53
2.10.2. Деляночные полевые испытания экспериментального образца биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697 на картофеле.....	55
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	57
3.1. Поиск новых штаммов актиномицетов с фитостимулирующей	

активностью.....	57
3.1.1. Изучение актиномицетов в засоленных почвах.....	57
3.1.2. Исследование фитотоксичности и фитостимулирующей активности выделенных изолятов актиномицетов.....	63
3.1.3. Заключение по разделу 3.1.....	65
3.2. Исследование культурально-морфологических, биохимических и генетических свойств штаммов.....	65
3.2.1. Заключение по разделу 3.2.....	65
3.3. Исследование активности штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 в отношении вирусных и грибных патогенов растений.....	71
3.3.1. Противовирусная активность суспензий штаммов актиномицетов в лабораторных условиях на томате и картофеле.....	71
3.3.2. Фунгицидная активность суспензий штаммов актиномицетов в лабораторных условиях в отношении фитопатогенных грибов.....	74
3.3.3. Заключение по разделу 3.3.....	75
3.4. Изучение безвредности штаммов и их антиоксидантных свойств.....	76
3.4.1. Определение ингибирующего эффекта штаммов актиномицетов в лабораторном опыте на дафниях.....	76
3.4.2. Фитотоксичность суспензий и экстрактов штаммов актиномицетов в лабораторном опыте на редисе.....	77
3.4.3. Антиоксидантная активность суспензий и экстрактов штаммов актиномицетов.....	80
3.4.4. Заключение по разделу 3.4.....	82
3.5. Исследование химического состава метаболитов штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883.....	83
3.5.1. Исследование химического состава метаболитов актиномицетов методом качественных реакций.....	83
3.5.2. Исследование компонентного состава метаболитов штаммов актиномицетов методом ТСХ.....	84
3.5.3. Исследование компонентного состава метаболитов штаммов	

актиномицетов методом ВЭЖХ.....	94
3.5.4. Исследование компонентного состава метаболитов штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697 методами ГХ и МС.....	98
3.5.5. Заключение по разделу 3.5.....	104
3.6. Получение экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883.....	105
3.6.1. Оптимизация состава питательных сред и условий глубинного культивирования с целью получения биомассы и антимикробных метаболитов.....	105
3.6.2. Изготовление экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883.....	108
3.6.3. Заключение по разделу 3.6.....	110
3.7. Исследование фитостимулирующей и противовирусной активностей экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 в полевых опытах.....	110
3.7.1. Исследование фитостимулирующей и противовирусной активностей экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов <i>S. carpaticus</i> RCAM04697, <i>N. umidischolae</i> RCAM04882, <i>N. umidischolae</i> RCAM04883 в полевом опыте на томатах.....	110
3.7.2. Исследование фитостимулирующей и противовирусной активностей экспериментального образца биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697 в полевом опыте на картофеле.....	123
3.7.3. Заключение по разделу 3.7.....	128
ВЫВОДЫ.....	129
ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....	131
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	132
СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.....	173
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	176

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В микробном пейзаже экстремальных почвенных экосистем Астраханской области одними из наиболее адаптированных и распространенных микроорганизмов являются актиномицеты, в особенности, стрептомицеты (Звягинцев и др., 2001; Зенова и др., 2007, 2011, 2016; Оборотов, 2007; Ашихмина и др., 2012; Семенов и др., 2016, 2019; Григорян и др., 2018, 2021; Бегматов и др., 2020; Стома и др., 2020). Актиномицеты продуцируют в окружающую среду комплекс вторичных экзометаболитов различного состава с алифатическими, карбоциклическими и гетероциклическими, азотистыми, кислород- и серусодержащими соединениями (Терехова и др., 2007; Анисимова, 2008).

Актиномицеты оказывают влияние на другие организмы – вирусы, бактерии, грибы, растения, животные, которые находятся во взаимодействии друг с другом и окружающей средой (Мерзаева и др., 2006; Широких и др., 2008, 2011, 2020; Назарова и др., 2019; Родовиков и др., 2020; Хазиев и др., 2020; Singh et al., 2020; Vityaz et al., 2020). Поэтому актиномицеты являются основой современных биопрепаратов, например, направленных на защиту и стимуляцию роста растений: Фитоверм, Вертимек, Мекар, Биокилл, Оберон Рапид (Долженко, 2009; Castillo et al., 2006; Machavariani et al., 2014; Amaresan et al., 2018).

Агроценозы аридной зоны, испытывают еще больший стресс, чем природные засоленные почвы, вследствие применения химических удобрений и средств защиты растений, что сопровождается обеднением состава биоценоза почвы, выпадением из нее ценных видов, возникновением болезней и деградацией почвенных экосистем (Добровольский и др., 2012). Особую опасность в агроценозах представляют болезни растений, вызываемые вирусами мозаики томата (ВМТо) (*Tomato mosaic virus, ToMV*) и мозаики огурца (ВОМ) (*Cucumber Mosaic Virus, CMV*) (Цыпленков и др., 1988; Сорока и др., 2009; Бойкова и др., 2019).

Актуальной является проблема поиска новых штаммов актиномицетов, продуцирующих биологически активные вещества с широким спектром экологического влияния, обладающих фитостимулирующими, противовирусными, фунгицидными, антиоксидантными свойствами, которые могут быть основой новых биопрепаратов (Григорян и др., 2019, 2020, 2021; Manucharova et al., 2016).

Степень разработанности темы исследования. Изучено значительное количество штаммов актиномицетов, обладающих антибиотическими, антимикробными, гербицидными, инсектицидными свойствами (Громовых, 2005; Бурцева и др., 2014; Широких и др., 2017, 2021; Григорян и др., 2021; Oskay, 2009; Newitt et al., 2019; Pylro et al., 2019). Исследована сложная организация генетической детерминации вторичных метаболитов актиномицетов, включающая не только гены, кодирующие и регулирующие синтез биологически активных веществ, но и сцепленные с ними гены, придающие устойчивость к собственным антибиотикам (Булгакова и др., 2010; Bentley et al., 2002; Asano, 2006; Grünwald, 2006; Efimenko et al., 2016; Manucharova et al., 2017, 2020, 2021). Являясь антагонистами фитопатогенов за счет синтеза широкого спектра вторичных метаболитов, актиномицеты способны значительно стимулировать развитие растений, защищать от болезней и проявлять антиоксидантные свойства (Синева и др., 2017, 2019; Григорян и др., 2018, 2020).

Цель исследования – поиск новых штаммов актиномицетов с фитостимулирующими свойствами – антагонистов вирусных и грибных патогенов и обоснование возможности их применения в качестве продуцентов антимикробных препаратов.

Задачи исследования:

1. Провести скрининг актиномицетов засоленных почвенных экосистем Астраханской области для выбора наиболее активных штаммов – фитостимуляторов и изучить их культурально-морфологические, биохимические свойства, таксономическую принадлежность.
2. Исследовать активность выбранных штаммов в отношении вирусных и грибных патогенов растений.
3. Проверить выбранные штаммы на безвредность по отношению к живым организмам и выявить их антиоксидантную активность.
4. Выявить и охарактеризовать основные физико-химические и биологические свойства активных метаболитов отобранных штаммов, ответственных за антагонистическую активность.
5. Подобрать биотехнологические параметры для культивирования отобранных штаммов с целью повышения выхода биомассы.

6. Получить экспериментальные образцы препаратов на основе отобранных штаммов и их метаболитов и испытать эффективность в полевых условиях.

Научная новизна. Впервые из почвенных экосистем Астраханской области с различной соленостью выделены штаммы бактерий *Streptomyces carpaticus* RCAM04697, *Nocardopsis umidischolae* RCAM04882, *Nocardopsis umidischolae* RCAM04883, оказывающие ингибирующее действие на вирусы растений Y-вирус картофеля (YBK) (*Potato Y potyvirus, PVY*), X-вирус картофеля (ХБК) (*Potato X potyvirus, PVX*), вирус скручивания листьев картофеля (ВСЛК) (*Potato leafroll virus, PLRV*), ВОМ, ВМТо и вирус бронзовости томата (ВБТ) (*Tomato spotted wilt virus, TSWV*), а также обладающие высокими фитостимулирующими, фунгицидными и антиоксидантными свойствами, что делает их перспективными продуцентами для создания биопрепаратов. Данные штаммы способны синтезировать антимикробные соединения, компонентный состав которых определен впервые. Установлено, что исследуемые бактерии синтезируют: флавоноиды, алкалоиды, гликозиды, органические кислоты (изолимонная, уксусная, фумаровая, молочная, яблочная, лимонная, пировиноградная), антибиотики (нарбдомицин, тилозин, форомацидин С, эритромицин), фенол – протокатеховый альдегид. В составе вторичных метаболитов штамма *S. carpaticus* RCAM04697 обнаружены спирты, альдегиды, углеводороды, эфиры, сульфаты и другие функциональные группы, представляющие собой полезные соединения для защиты агроэкосистем. Часть исследований биологической активности штамма *S. carpaticus* RCAM04697 защищена Патентом РФ 2695157. Выявлено влияние штаммов актиномицетов на вирусные болезни овощебахчевых культур и картофеля в аридной зоне Северного Прикаспия, которое зарегистрировано в Базе данных РФ 2020620186.

Теоретическая и практическая значимость. Отобраны активные штаммы *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 с фитостимулирующими, противовирусными, фунгицидными и антиоксидантными свойствами и депонированы в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», г. Пушкин): *S. carpaticus* (справка №469/12 от 15.12.2017), *N. umidischolae* (справка №263/05 от 28.05.2018г.), *N. umidischolae* (справка №264/05 от 28.05.2018г.) (уровень внедрения – федеральный). Получен патент РФ на изобретение

«Штамм *Streptomyces carpaticus* для защиты от насекомых-вредителей, грибных, вирусных болезней и стимуляции роста томатов» (№ 2695157 от 22.07.2019г.; авторы: Л.Н. Григорян, Ю.В. Батаева, В.А. Шляхов, И.С. Держинская; уровень внедрения - федеральный). Получено свидетельство на Базу данных РФ «Влияние штаммов актиномицетов на вирусные болезни овощебахчевых культур и картофеля в аридной зоне Северного Прикаспия» (№ 2020620186 от 30.01.2020; авторы: Григорян Л.Н., Батаева Ю.В.; уровень внедрения – федеральный). Технологическая схема получения и инструкция по применению экспериментальных образцов средств защиты растений на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882 и *N. umidischolae* RCAM04883 утверждены на Научно-техническом Совете ФГБОУ ВО «АГУ» (Протокол №1 от 25.03.2021г.; уровень внедрения - учрежденческий). Результаты двух независимых полевых испытаний экспериментальных образцов биопрепаратов на основе актиномицетов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 в качестве стимуляторов роста и биологических средств защиты растений на базе филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по Астраханской области оформлены актами производственных испытаний, утвержденными руководителем и сотрудниками указанной организации (уровень внедрения - межучрежденческий). Результаты исследований внедрены в Астраханском государственном университете в научную деятельность (использованы в научных отчетах по грантам) и в учебный процесс (при преподавании дисциплин «Промышленные микроорганизмы», «Промышленная биотехнология», «Экология микроорганизмов», «Сельскохозяйственная биотехнология» студентам бакалаврских и магистерских программ направлений 06.03.01 и 06.04.01 «Биология») (Справка о внедрении результатов диссертации в учебный процесс от 31.05.2021г.; уровень внедрения - учрежденческий). Результаты выполненного исследования могут быть использованы для разработки природных биопрепаратов на основе актиномицетов, являющихся источниками ценных в практическом отношении органических соединений

Методология и методы исследования. Диссертационное исследование спланировано согласно поставленной цели и задачам. Предметом исследования явился поиск новых природных штаммов-антагонистов вирусных и грибных патогенов, обладающих фитостимулирующими и антиоксидантными свойствами. При выполнении работы использовали микробиологические, биотехнологические, биохимические,

токсикологические, физико-химические, биологические и статистические методы исследований.

Штаммы микроорганизмов. Материалами исследований явились штаммы актиномицетов. В опытах использовали двухсуточные и трехсуточные суспензии отобранных штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883; 5 вариантов экстрактов (водно-спиртовой в трех модификациях: 80:20; 50:50; 20:80, метанольный и гексановый) штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883.

Микробиологические методы. Для выявления и количественного учета эколого-трофических групп микроорганизмов методом предельных разведений проводили посев на плотные питательные среды: ГРМ-агар, среда Эшби, голодный агар, среда Чапека, а также на среды для выявления актиномицетов: среда Гаузе №2, крахмально-казеиновая среда, агар крахмально-аммиачный, агар глицерин-аргининовый, агар глицерин-нитратный (Теппер и др., 1993; Нетрусов и др., 2005). Микроскопирование актиномицетов проводили с использованием бинокулярного микроскопа G 380 с темнопольной и фазово-контрастной приставкой, визуализатором и фотоаппаратом. Сравнительное изучение морфологических (форма цепочек спор) и культуральных (окраска воздушного мицелия, окраска субстратного мицелия, наличие растворимых пигментов, наличие меланоидных пигментов) диагностических признаков при росте штаммов актиномицетов выполнили на следующих средах: минеральный агар I, солевой раствор А, овсяный агар, овсяный агар ISP3, глицерин-нитратный агар, глюкозо-аспарагиновый агар, глицерин-аспарагиновый агар ISP5, пептонно-дрожжевой агар с железом ISP6, среда ISP9, крахмально-аммиачный агар ISP4 (Гаузе и др., 1983). Противовирусную активность суспензий штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 с титром 10^9 КОЕ/мл исследовали на рассаде томата (*Solanum lycopersicum*) сорта Новичок и картофеле (*Solanum tuberosum*) сорта Ред Скарлетт в индикаторной лаборатории филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по Астраханской области. Для выявления антифунгальной активности суспензий штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 использовали метод диффузии в агар (Теппер и др., 1993; Нетрусов и др., 2005). Для определения антагонистической активности в качестве тест-объектов использовали 12 изолятов грибов, относящихся к родам *Fusarium*, *Alternaria*,

Phoma, Colletotrichum, Phytophthora, Pythium, Rhizoctonia, Macrosporium. Оценку продуктивности клеток штаммов RCAM04697, RCAM04882, RCAM04883 осуществляли при культивировании на крахмально-казеиновой среде, среде Гаузе №2, картофельной среде (Гаузе и др., 1983). Режим культивирования: температура плюс 28°C, время 72 часа при непрерывном перемешивании на шейкере (120 об/мин). Количество клеток в суспензии определяли путем посева суспензии на аналогичные плотные питательные среды (Звягинцев, 1991; Нетрусов и др., 2005).

Биотехнологические методы. Метанольный и водно-спиртовой экстракты готовили из сухой биомассы исследуемых штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 с титром клеток 10^9 КОЕ/мл, полученной путем высушивания в ротационном испарителе. Сухую биомассу штаммов смешивали в разных соотношениях дистиллированной воды и этанола (Елинов, 1989; Соболева и др., 2012). После центрифугирования, удаления осадка, высушивания жидкости в ротационном вакуумном испарителе (ИКА RV 10 digital) при температуре от 60 до 70 °C получали сухой экстракт. Для приготовления гексановых экстрактов 250 мл суспензии (титр клеток 10^9 КОЕ/мл) штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 экстрагировали 5 мл гексана в течение 3 минут в делительной воронке. Гексановый экстракт высушивали в ротационном испарителе (Чудина и др., 2011). Для получения опытных образцов сухую биомассу суспензии и сухие экстракты штаммов разводили стерильной дистиллированной водой в соотношениях: 0,5 мг/мл и 1 мг/мл.

Биохимические методы. Биохимические анализы изолятов актиномицетов проводили: на оксидазу - согласно ГОСТ 32064-2013, на каталазу - ГОСТ 30425-97, на сероводород - ГОСТ 31659-2012, на индол - ГОСТ 30726-2001. Способность штаммов восстанавливать нитраты в нитриты исследовали на жидкой среде Чапека с 1% глицерина. Материалом для диагностики вирусов методом иммунохроматографического анализа (ИХА) служили иммунострипы ImmunoStrip Test Kit Flashkits (США) (Гиббс и др., 1978). Материалом для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме «реального времени» с использованием микрочипового амплификатора нуклеиновых кислот «АриаДНА» служили пробы ДНК и РНК, полученные из клубней и зеленой массы картофеля (Инструкция..., 2015).

Оценка безвредности штамма. На первом этапе для отбора активных изолятов с фитостимулирующими свойствами определяли фитотоксичность суспензии актиномицетов в лабораторных опытах на семенах томата Новичок (ГОСТ 12038-84). Учет всхожести томата проводили на 7-е и 14-е сутки. Фитотоксичность суспензии и экстрактов отобранных активных штаммов исследовали методом ингибирования роста корня редиса (*Rarhanus sativus*) Хелро при 20 °С в течение 3 суток в двух концентрациях: 0,5 мг/мл и 1 мг/мл (Селивановская, 2011). Безвредность штаммов для животных проверяли в экспериментах *in vivo* на дафниях (*Daphnia magna* Straus) (Селивановская и др., 2011).

Физико-химические методы. Изучение антиоксидантной активности и компонентного состава метаболитов суспензии и экстрактов трех исследуемых штаммов проводили с концентрацией 1 мг/мл. Для определения антиоксидантной активности использовали реакцию со стабильным свободным радикалом ДФПГ (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) (Крешков, 1970; Астафьева и др., 2015). Изучение компонентного состава метаболитов исследуемых культур бактерий проводили методами определения оптической плотности, качественных реакций, методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах ПТСХ-АФ-А-УФ (10x15 см) марки «Сорбфил», высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), газовой хроматографии (ГХ) и методом масс-спектрометрии (МС) (Кирхнер, 1981). Определение органических кислот в водно-спиртовых экстрактах трех исследуемых штаммов проводили методом ВЭЖХ в НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИгенетика с использованием анионообменных колонок и супрессионной системы с кондуктометрическим детектированием на жидкостном хроматографе Waters – Alliance 2695 с диодно-матричным детектором Waters 2996 при длине волны 220 нм. Суспензию и экстракты (водно-спиртовый, метанольный, гексановый) штамма *S. carpaticus* RCAM04697 исследовали на газовом хромато-масс-спектрометре SHIMADZU GCMS-QP2010 Ultra в лаборатории гидробиологии ФГБУН Института озераведения РАН.

Биологические методы. Отбор почвенных образцов для химического и микробиологического анализа и определения степени засоления почв проводили согласно ГОСТ 17.4.4.02-2017. Для идентификации вирусной инфекции использовали тестирующий набор растений-индикаторов (Проценко, 1966). Полевой опыт на томатах сорта Ажур F1 проводили в 8 вариантах: контроль 1 – без обработок, контроль 2 - с

обработкой коммерческим биопрепаратом Лепидоцид СК (эталон), пять вариантов с обработкой суспензией каждого из пяти штаммов и вариант с обработкой суспензией всех штаммов одновременно. Полевой опыт на картофеле сорта Ред Скарлетт был представлен двумя вариантами: 1) обработка картофеля трехсуточной суспензией штамма *S. carpaticus* RCAM04697; 2) контрольный участок без обработок.

Статистическая обработка результатов. Обработку результатов осуществляли стандартными общепринятыми методиками. Оценку разброса данных в экспериментах проводили подсчетом средних величин и среднего квадратичного отклонения для выявления доверительного интервала при 95%-ном уровне значимости. Для расчетов применяли программы BioStat 2008 и Excel.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Выделенные штаммы актиномицетов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 с фитостимулирующими свойствами способны к подавлению широкого спектра вирусных (вирус огуречной мозаики, вирус мозаики томата, вирус бронзовости томата, Y-вирус картофеля, X-вирус картофеля, вирус скручивания листьев картофеля) и грибных (относящихся к родам *Fusarium*, *Alternaria*, *Phoma*, *Colletotrichum*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Macrosporium*) возбудителей болезней растений. Противовирусные, фунгицидные и фитостимулирующие свойства экспериментальных образцов подтверждены в лабораторных и полевых опытах.

2. Способность штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 к подавлению микробных патогенов и проявление антиоксидантных свойств определяются синтезом активных метаболитов в виде следующих соединений: флавоноиды, алкалоиды, гликозиды, производные пиридина (γ -пиридинкарбоновая кислота, α -пиридинкарбоновая кислота), аминокислота – оксипролин, антибиотики (алтиомицин, нарбомицин, тилозин, форомацидин С, эритромицин), фенол – протокатеховый альдегид, органические кислоты (изолимонная, уксусная, фумаровая, молочная, пировиноградная, яблочная). Штамм *S. carpaticus* RCAM04697, кроме того, синтезирует этил-5-(пиридин-4-ил)-1H-пиразол-3-карбоксилат, метилпальмитат, метиловый эфир 8-октадеценовой кислоты, 1,2-гександиол, 1-додеканол, что обуславливает его более высокую активность.

3. Экспериментальные образцы на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 обеспечивают достоверную прибавку урожайности относительно контроля (без обработок) на 35,4% (картофель) и до 175,8% (томат) в полевых условиях за счет стимуляции роста и подавления возбудителей болезней.

Степень достоверности и апробация результатов исследования. Достоверность результатов проведенных исследований подтверждается использованием современных методов исследования, статистических методов обработки данных и оборудования, поверенного и сертифицированного надлежащим образом. Основные результаты исследования представлены на III Международной научной конференции «Шаг в будущее: теоретические и прикладные исследования современной науки» (Санкт-Петербург, 2013), XVIII Международной научной конференции «Научная дискуссия: инновации в современном мире» (Москва, 2013), III Международной научной конференции «Сельскохозяйственные науки и агропромышленный комплекс на рубеже веков» (Новосибирск, 2013), Всероссийском симпозиуме с международным участием «Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов» (Москва, 2014), Международной научной конференции «Научно-практические пути повышения экологической устойчивости и социально-экономическое обеспечение сельскохозяйственного производства» (Москва, 2014), Международной научной конференции «Роль почв в биосфере и жизни человека» (Москва, 2015), XXVIII зимней молодежной научной школе «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии» (Москва, 2016), XXII Московском международном салоне инноваций и инновационных технологий «Архимед» (Санкт-Петербург, 2018), VIII Всероссийской конференции молодых ученых «Стратегия взаимодействия микроорганизмов с окружающей средой» (Саратов, 2019), Всероссийской научной конференции с международным участием «Социально-экономические и экологические аспекты развития Прикаспийского региона» (Элиста, 2019), Международном научном форуме «Каспий XXI века: пути устойчивого развития» (Астрахань, 2020), Всероссийской научно-практической онлайн-конференции «Биоразнообразие, рациональное использование биологических ресурсов и биотехнологии» (Астрахань, 2021).

Работа выполнена на кафедре биотехнологии, зоологии и аквакультуры ФГБОУ ВО «АГУ» при финансовой поддержке Фонда Содействия Инновациям по программам «УМНИК» (грант 0047042) и «СТАРТ-1» (грант 0065616), проекта АВЦП - Стратегическое развитие государственных образовательных учреждений высшего профессионального образования «Механизмы действия биологически активных веществ — брассиностероидов как регуляторов биологических систем» (№ 4. 2222. 2011, 2012-2014), гранта РФФИ №13-04-90744 «Оценка состава метаболитов альго-бактериальных сообществ в зависимости от их структуры и видового разнообразия».

Личный вклад автора. Тема, цель, задачи, объекты, методы и план исследования определены автором совместно с руководителем. Автор принимал непосредственное участие на всех этапах выполнения диссертационной работы: сбор полевых материалов, микробиологический анализ актиномицетов с использованием методов посевов и микроскопии, изучение биологической активности, определение химического состава, обработка и обобщение полученных данных, написание и оформление диссертационной работы.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 49 научных работ, из них 1 статья в журнале, входящем в базы данных международных индексов научного цитирования Scopus и Web of Science, 7 статей в журналах, входящих в издания, рекомендованные ВАК, 1 Патент на изобретение, 1 электронная База данных, 4 статьи в других изданиях и 35 тезисов в материалах международных и всероссийских научных конференций. Доля участия автора в публикациях составляет 95%.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 184 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания использованных методов, результатов и обсуждения, заключения, выводов, рекомендации по использованию результатов работы и списка литературы, включающего 216 работ отечественных и 181 зарубежных авторов. Работа содержит 34 рисунка, 31 таблицу, 9 приложений.

Благодарности: Автор выражает глубокую благодарность и признательность за внимательное руководство научному руководителю к.б.н., доценту, Ю.В. Батаевой, за ценные консультации д.б.н., профессору И.С. Держинской, а также за помощь при выполнении работы д.с.-х.н., доценту В.А. Шляхову, д.б.н., профессору Е.И. Кондратенко, д.б.н., профессору Е.А. Курашову.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Морфологические, физиологические и биохимические свойства актиномицетов

Актиномицеты (*Actinomyces*) — род грамположительных факультативных анаэробных бактерий. Имеют вид тонких, диаметром от 0,2 до 1,0 мкм и длиной около 2,5 мкм, прямых или немного изогнутых палочек с утолщёнными концами. Часто образуют нити длиной до 10-50 мкм.

Ранее актиномицеты классифицировали, как грибы, позже, исходя из морфологии и биологических свойств, они подверглись реклассифицированию, как бактерии, и включены в семейство *Actinomycetaceae*. По современной классификации актиномицеты относятся к домену *Archaea* Филуму B14 *Actinobacteria* (Нетрусов и др., 2006).

Данные бактерии характеризуются образованием гиф. На гифах воздушного мицелия находятся споры. Споры имеют разную форму и поверхность, что является важной характеристикой в видовом определении данных микроорганизмов. Длинный ветвящийся мицелий актиномицетов не имеет перегородок, тонкий в поперечнике (0,2-1,2 мкм), чем сильно отличается от мицелия грибов, имеющих в поперечнике от 3 до 7 мкм (в 3-15 раз больше). В процессе развития колоний актиномицетов происходит дифференциация мицелия. Актиномицетный мицелий берет свое начало из спор, в которых содержится запас питательных веществ, помогающих микроорганизму переживать неблагоприятные условия. Когда споры оказываются в благоприятной среде для развития, они стремительно прорастают. Уже через 8-10 часов можно увидеть возникновение самых первых нитей, а спустя еще 18 часов появляется субстратный мицелий. Через 2 дня можно наблюдать уже воздушный мицелий (Закалюкина и др., 2004; Звягинцев и др., 2001, 2011). Завершается формирование колонии актиномицетов на 4-21 день – в данном аспекте многое зависит от внешних факторов. Культуры актиномицетов на питательных средах могут быть бесцветными и окрашенными в разные цвета (Гаузе, 1983).

Актиномицеты характеризуются сложными жизненными циклами (Лискова и др., 2016; Schütze et al., 2013). Они, в отличие от других бактерий, способны образовывать хорошо развитый мицелий, который обнаруживается преимущественно в микроразонах с содержанием органических веществ (Зенова, 1992, 2000; Соболевская и др., 2008; Белюченко, 2018). Как показывает практика, наиболее часто актиномицеты являются

нейтрофилами, но при этом отдельные роды алкалофильны либо же ацидофильны. Ученые выяснили, что в условиях кислой среды вегетативный этап длится значительно дольше, тогда как в щелочной, в свою очередь, данная стадия проходит намного быстрее (Гаузе, 1958; Zvyagintsev et al., 2009).

Основная часть актиномицетов является аэробами. При этом факультативные их разновидности обычно можно наблюдать только среди тех актиномицетов, которые отличаются краткосрочной стадией формирования мицелия. Некоторые ученые считают, что анаэробный метаболизм может быть результативен при условии достаточной относительной клеточной поверхности. Этого можно достичь путем фрагментации мицелия (Черноусова и др., 2005; Соловьева и др., 2013; Сыщикова и др., 2017; Endo и др., 2003; Zhernosekova, 2012; Petřícková et al., 2015).

На сегодняшний день является доказанным тот факт, что актиномицеты являются гетеротрофными организмами (хемоорганотрофами), среди них выделяются группы с различными уровнями требовательности к источникам питания (Zenova et al., 2000; Ningthoujam et al., 2013). Они ферментируют углеводы с образованием кислоты без газа. Продуктами ферментации являются уксусная, молочная, муравьиная и янтарная кислоты. Многие термофильные актиномицеты нуждаются для роста в присутствии витаминов – фолиевой кислоты, парааминобензойной кислоты, биотина (Бакулин и др., 2006; Brandao et al., 2002). Кроме того, актиномицеты могут хорошо расти на средах, обедненных органическим углеродом. Организмы, относящиеся к роду *Nocardia*, могут выполнять окисление водорода, метанола, метана методом хемосинтеза. Стоит отметить, что особую распространенность среди данных бактерий получила фиксация углекислого газа (Звягинцев и др., 2001; Халилова и др., 2014).

Актиномицеты характеризуются усвоением различных веществ органического происхождения, что позволяет им легко и быстро культивироваться на искусственных средах и объясняет их широкое распространение в природе. Отличительные особенности имеет и синтез определенных аминокислот: например, при вторичном метаболизме они проходят шикиматный синтез соединений. Например, для них характерен путь расщепления глюкозы Энтнера-Дудорова, встречается полифосфатгексокиназа (вместо обычной гексокиназы), существуют особенности в синтезе ряда аминокислот; во вторичном метаболизме им свойственен шикиматный путь синтеза ароматических соединений, включение цельных углеродных скелетов

глюкозы во вторичные метаболиты, например, антибиотики (Илич и др., 2007; Shirokikh, 2003; Stevenson et al., 2013; Thuan et al., 2018).

Актиномицеты выделяются среди других бактерий наиболее сложной организацией генома и фенотипа на прокариотном уровне и превосходят все другие группы микроорганизмов по способности синтезировать антибиотики и другие физиологически активные соединения (Миндубаев и др., 2015; Демьянкова и др., 2020; Tokala et al., 2002; Shirokikh et al., 2013; Jung et al., 2018). Актиномицеты, за исключением термофилов, характеризуются сравнительно небольшой скоростью роста (Виноградова и др., 2016; Chitte et al., 2002; Rebets et al., 2008; Dangi et al., 2018). Хранение почвенных образцов в условиях, не способствующих вегетативному росту прокариот, увеличивает содержание актиномицетов, учитываемое методом посева (Зенова, 1992). Предполагается, что различия, выявленные в фазово-структурной организации фосфолипидных фракций данных бактерий, могут служить показателем стабильности и устойчивости их мембранных структур к условиям длительного хранения (Филиппова и др., 2013).

В различных институтах и лабораториях исследователи выделяют ежегодно сотни тысяч культур актиномицетов из различных почв и выявляют среди них продуцентов антибиотиков (Зенова и др., 2010; Бурцева и др., 2019; Линг и др., 2020; Родовиков и др., 2020; Zenova et al., 2001; Zakalyukina et al., 2002; Tepper et al., 2011; Yagüe et al., 2013).

К настоящему времени описаны сведения о том, что для поиска продуцентов биологически активных соединений, а также для экологических исследований применяется большое разнообразие методов селективного выделения актиномицетов (Бибикова и др., 2012; Carneiro-da-Cunha et al., 2002; Jardine et al., 2002; Li et al., 2005; Jung et al., 2014).

Актиномицеты служат неотъемлемой частью микробного комплекса почвы, составляя четвертую часть бактерий, вырастающих на питательных средах при посевах из почвенных разведений (Валагурова и др., 2001; Mascotti et al., 2013).

1.2. Развитие и роль актиномицетов в почвенных экосистемах

Представители почти всех известных в настоящее время родов актиномицетов выделены из почв (Зенова, 1992, 2000; Жадамбаагийн, 2001; Закалюкина и др., 2004, 2007; Дегтярева и др., 2009; Бурцева и др., 2016; Семенов и др., 2016, 2019; Широких и

др., 2017; Назарова и др., 2019; Рябова, 2019; Бегматов и др., 2020; Стома и др., 2020). С одной стороны, можно говорить о свойстве спор легко переносить неблагоприятные внешние факторы, с другой - о приспособленности вегетативного этапа мицелия применять различные источники питания (Стрешинская и др., 2003; Шамханов и др., 2005; Гришко и др., 2010; Комарова, 2010; Ашихмина и др., 2012; Бурцева и др., 2016; Chater et al., 2003; Petković et al., 2006; Thumar et al., 2007; García-Salcedo et al., 2018).

Чрезвычайно широкое распространение актиномицетов в природе дает основание полагать, что этим организмам принадлежит большая роль в круговороте веществ, как органических, так и минеральных (Куликова и др., 2017; Кочкина и др., 2018; Polishchuk et al., 2001). Деятельность актиномицетов в почве связывают с синтезом и разложением гумусовых веществ, формированием плодородия, с продукцией антибиотических веществ, накоплением биологически активных соединений и азотным балансом почвы (Поляк и др., 2017; Iwasaki et al., 2000; Burke et al., 2001; Solanki et al., 2008; Srinivasa et al., 2008; Zenova et al., 2010; Baltz, 2012). Отмечено, что количество актиномицетов увеличивается при попадании в почву легкодоступных субстратов: хитина, кератина, крахмала (Basilio et al., 2003; Saadoun et al., 2009; Manucharova et al., 2016).

Исследования L. Carrillo с соавторами (2009) показали, что в субтропической среде Жужуй (Аргентина) распространены алкалотермофильные сообщества актиномицетов, которые хорошо развиваются на нейтральных и слабощелочных почвах.

В результате исследования А.Р. Абушовой с соавторами (2010) редких родов актиномицетов в почвах Азербайджана установлено, что на селективных средах выявляются представители родов *Microbispora* и *Streptomyces*. Представители данных родов наиболее часто встречаются в лесных и горных экологических системах, где их распространенность достигает 60%. Среди стрептомицетов встречаются виды секции *Helvolo-Flavus* серии *Helvolus*, секции *Azureus* серии *Coerulescens*, секции *Roseus* серии *Fuscus*.

В.В. Страшинской с соавторами (2017) установлено, что из почв различных географических районов Республики Беларусь выделено 20 изолятов бактерий, на основании морфологических признаков отнесенных к группе актиномицетов. Все они, по данным авторов, грамположительные аэробы, обладающие характерным специфическим запахом, обусловленным продукцией эфирных масел, и способные

расти на бедных питательных средах, образуя обильный воздушный мицелий с длинными цепочками спор.

Н. Жадамбаагийн (2001) выявлены особенности распространения актиномицетов редких родов в почвах различных типов Монголии. Использование сукцессионного подхода к исследованию актиномицетов позволило автору впервые выявить временные промежутки и условия, определяющие максимальную популяционную плотность разных представителей мицелиальных прокариот в почве.

В работе А.А. Алиева с соавторами (2009) изучены актиномицеты в техногенных и чистых почвах Азербайджана методом, основанным на предварительной обработке почвенных образцов ультразвуком. Отмечено, что в результате исследования выделены такие виды, как *Chainia fumigata*, *S. citreus*, *S. sulphureus*, *S. massosporeus*, *S. oligocarophilus*, которые являются новыми для почв Азербайджана.

Исследованы количественный и качественный составы актиномицетов в урбопочвах промышленной и транспортной зоны г. Воронеж (Назаренко и др., 2017). На основании многолетних исследований городских почв авторами определены реакции актиномицетов на антропогенное загрязнение.

С помощью молекулярно-биологических методов Т.Г. Добровольской с соавторами (2016) удалось идентифицировать до вида представителей тех родов протеобактерий, которых трудно определить фенотипическими методами. Молекулярно-генетические методы использованы для исследования сравнительного биоразнообразия прокариотического комплекса серых лесных, каштановых и черноземных почв до и после загрязнения нефтью (Manucharova et al., 2020). Полученные авторами данные свидетельствуют об идентичных сукцессионных реакциях микробных сообществ разных типов почв на нефтяное загрязнение. Авторам удалось выяснить, что внесение минеральных удобрений на фоне известкования нефтезагрязненной почвы вызывает изменение филогенетической структуры и частичное восстановление метаболически активного прокариотического комплекса: увеличение биомассы бактерий и количества копий функциональных генов (Manucharova et al., 2021).

Главными факторами развития актиномицетов в естественной среде являются: кислотность и влажность, температура, доступность питательных веществ и кислорода (Виноградова и др., 2017; Chater et al., 2010; Amaresan et al., 2018).

Следует отметить, что актиномицеты являются постоянным компонентом почвенных и ризосферных микробных сообществ (Широких и др., 2008; Милевская и др., 2008; Зенова и др., 2013). Мицелий актиномицетов, расположенный в прикорневой зоне растений, может достигать 30% от общего количества микроорганизмов. Данный факт свидетельствует о том, что мицелиальные прокариоты стремительно развиваются при условии сочетания популяций грибов и микроорганизмов (Карпачевский, 2004; Zheng et al., 2000).

Однако в исследованиях ризосферной микрофлоры актиномицетам уделялось меньшее внимание, чем грибам и одноклеточным бактериям. Обзорные и экспериментальные работы, посвящённые непосредственно актиномицетам прикорневой зоны, единичны (Мерзаева и др., 2006). Между тем актиномицеты могут играть важную роль в развитии растений, участвуя в снабжении последних элементами питания, витаминами, фитогормонами и ругими факторами роста (Das et al., 2000; Castillo et al., 2006).

В большом количестве актиномицеты распространены в почве благодаря их способности легко приспосабливаться к среде обитания и довольствоваться органическими соединениями, которые непригодны для других микроорганизмов (Давыдова, 2001; Sutcliffe, 2000; Jiang et al., 2007; El-Gendy et al., 2008; Waksman et al., 2010). По данным исследований распространенности и видового разнообразия актиномицетов, культуры рода *Streptomyces* составляют 80–95% от всех актиномицетов, населяющих почву, а среди известных биоактивных микробных вторичных метаболитов подавляющее большинство продуцируются актиномицетами, 80% которых относятся к роду *Streptomyces* (Зенова и др., 1992, 2000; Звягинцев, 2001).

Известно, что рассматриваемые нами организмы широко распространены в почвах всего земного шара, однако на их качественный и количественный состав значительное влияние оказывает географическое положение местности, тип почвы, влагоемкость, ее химические и физические свойства, окультуренность и другие особенности (Красильников, 1965).

Многие исследования, связанные с изучением пустынных почв, дают возможность утверждать то, что самыми распространенными микроорганизмами в них являются представители мицелиальных актиномицетов, изоляты которых абсолютно адаптированы к высоким показателям температуры, концентрации солей и радиации

(Зенова и др., 2007; Новикова и др., 2009; Гришко и др., 2010). Кроме того, в почвах аридной зоны термотолерантные актиномицеты активно размножаются. Большая доля метаболически активных мицелиальных форм превышает долю одноклеточных актинобактерий (Соболевская и др., 2007; Звягинцев и др., 2011; Синева и др., 2017, 2019). Численность термотолерантных актиномицетов в пустынных почвах Азербайджана зависела от температуры инкубации (Алиева и др., 2009).

Г.М. Зеновой с соавторами (2007) установлено, что количество стрептомицетов, выделяемых из засоленных почв Прикаспийской низменности и пустынных почв Монголии, исчисляется сотнями и тысячами колониеобразующих единиц в 1 г (КОЕ/г) почвы. По сведениям авторов, в засоленных почвах присутствует комплекс умеренно галофильных стрептомицетов. Авторами установлено присутствие в стрептомицетном комплексе засоленных почв умеренно галоалкалофильных стрептомицетов, для оптимального роста которых необходима концентрация хлорида натрия, равная 5% и pH=8. Кроме того, выявлено, что в корковых солончаках дельты р. Аму-Дарья обнаружены мицелиальные прокариоты в количестве сотен КОЕ/г почвы. Исследователями зафиксировано наличие в стрептомицетном комплексе солончаков умеренно галофильных культур, растущих при концентрации NaCl в среде, равной 8%.

Кроме того, Г.М. Зеновой с соавторами (2011) установлено доминирование галоалкалофильных актиномицетов *S. pluricilirescens*, *S. prunicolor* в пустынных засоленных почвах. Исследования, проведенные авторами, показали, что среди термофильных актиномицетов в пустынных периодически прогреваемых почвах, кроме представителей рода *Streptomyces*, обнаружены такие роды, как *Actinomadura*, *Saccharopolyspora*, *Streptosporangium*.

Исследования, проведенные Г.В. Оборотовым (2007), демонстрируют, что в засоленных почвах среди актиномицетов обнаружены галофильные формы *Saccharopolyspora halophila*, *Actinopotyspora*, *Nocardiopsis*, *Prauserella halophila*, способные развиваться на средах, содержащих от 10% до 25% NaCl. По мнению автора, учитывая тот факт, что засоленные почвы характеризуются, как правило, щелочной реакцией среды, в них можно зафиксировать присутствие не только галофильных, но и алкалофильных актиномицетов.

В монографии В.В. Селянина с соавторами (2005) описана экологическая характеристика алкалофильных и галофильных почвенных актиномицетов, выявлена

степень зависимости роста от кислотности среды и содержания соли в среде для алкалофильных, галофильных и галоалкалофильных актиномицетов, а также установлена возможность развития актиномицетов в условиях экстремально низкой влажности.

D.G. Zvyagintsev с соавторами (2009) утверждают, что актиномицеты активно растут в засоленных почвах, так как, по полученным ими данным, плотность популяции актиномицетов в солончаках и засоленных пустынных почвах варьировала от сотен до десятков на 1 г почвы в зависимости от типа почвы и на 1-3 порядка ниже количества мицелиальных бактерий в основных типах почв.

Исследования В.Н. Гришко с соавторами (2010) показали, что в черноземах доминируют *S. violaceomaculatus* (секция *Roseus*), *S. sporoherbeus* (секция *Azureus*), *S. aerionidulus* (секция *Cinereus*), *S. enduracidicus* (секция *Cinereus*) и *S. grisinus* (секция *Cinereus*), а в засоленных почвах — *S. violaceomaculatus* (секция *Roseus*) и *S. aerionidulus* (секция *Cinereus*). Авторы утверждают, что в солонцах видовое богатство стрептомицетов в 1,7 раза больше, чем в солончаках, а в черноземах схожесть сообществ стрептомицетов выше, чем в солончаках в 0,6 раз.

Следует отметить, что именно почвенные актиномицеты экстремальных мест обитания способны продуцировать редкие метаболиты со специфическими свойствами. Следовательно, поиск и исследование новых свойств метаболитов актиномицетов микробиологического происхождения является актуальной задачей.

1.3. Особенности и синтез метаболитов актиномицетов

Актиномицеты являются активными продуцентами вторичных метаболитов. Вторичные метаболиты не являются необходимыми элементами для роста и размножения микроорганизма и продуцируются, как правило, в стационарной фазе процесса ферментации или в определенных условиях в экосистеме (Гаузе, 1958; Анисимова, 2008; Актуганов и др., 2019). В подавляющем большинстве случаев многие виды актиномицетов способны синтезировать не один, а несколько вторичных метаболитов (Yoon et al., 2002; Cho, 2012). Стрептомицеты имеют сложные метаболические пути, ответственные за производство вторичных метаболитов и использование органических остатков, существующих в почве (Тяглов и др., 2008;

Шарова и др., 2008; Топкова и др., 2010; Егорова и др., 2019; Garcia-Bernardo et al., 2000; Carrillo et al., 2009).

Современные исследования существенно расширяют представления о том, что подавляющее число обнаруженных в природе метаболитов актиномицетов включает огромное число различных химических веществ (Мамаева, 2003; Бакулин и др., 2014; Климишин и др., 2011; Миндубаев и др., 2015; Бойкова и др., 2019; Джафаров, 2019; Пошехонцева и др., 2021; Pina et al., 2000; Moss et al., 2000; Farkašová et al., 2003; Zehner et al., 2005; Elnakady et al., 2007; Kozhuharova et al., 2008; Widdick et al., 2018; Singh et al., 2020). Они представлены карбоциклическими, алифатическими, азотистыми, гетероциклическими, кислород- и серусодержащими соединениями, в молекулах которых находятся самые различные функциональные группы: эфирные, карбоксильные, amino-, эпокси-, окси-, нитрогруппы (Анисимова, 2008; Lazzarini et al., 2000; Raty et al., 2000; Caffrey et al., 2001; Streshinskaya et al., 2002; Umeyama et al., 2002; Subba et al., 2007; Verma et al., 2009; Sunhare et al., 2013; Xu et al., 2018; Vityaz et al., 2020).

Исследователи отмечают, что метаболиты актиномицетов представляют собой многокомпонентные комплексы различных по химическому строению природных соединений – антибиотиков, литических ферментов, аминокислот, терпеноидов, алкалоидов, что затрудняет формирование устойчивости к ним у вредных организмов (Řezanka et al., 2004; Wang et al., 2018). Актиномицеты продуцируют витамины, гормоны, токсины, стимуляторы роста, и другие полезные для человека вещества (Мальцева, 2002; Ли, 2003; Мамаева, 2004; Егорова и др., 2019; Злобина и др., 2019; Chitte et al., 2000). Данные соединения могут быть использованы в медицине, ветеринарии и защите растений, поэтому актиномицеты являются промышленно и фармацевтически важными бактериями (Климова, 2002; Анисимова, 2008; Machavariani et al., 2014; Colombo et al., 2019).

Вторичные метаболиты, синтезируемые актиномицетами, обладают антибиотическими и противовирусными свойствами (Синева и др., 2017; Fernandez-Ballester et al., 2003; Aigle et al., 2005; Thuy et al., 2005; Niyomvong et al., 2012). Кроме того, описан ряд веществ с другим характером биологического действия, нашедших применение в растениеводстве (Van Wezel et al., 2011; Maffioli et al., 2013; Xu et al., 2017; Kouomou et al., 2019; Pylro et al., 2019).

В литературных источниках описано большое число, образующих антибиотики, видов актиномицетов, причем число их составляет значительную долю от общего количества до сих пор описанных (Березкина и др., 2000; Даниленко, 2004; Сухачева и др., 2001; Антипова и др., 2003; Малков и др., 2003; Галкина и др., 2004; Новикова и др., 2006; Шарова и др., 2007; Климишин, 2010; Лапчинская и др., 2012; Filippovich et al., 2000; Hyun et al., 2000; Izumikawa et al., 2000; Brunati et al., 2004; Pizzul et al., 2006; Saito et al., 2006; Shen et al., 2008; Yang et al., 2008; Yeo et al., 2009; Zenova et al., 2009; Ohlendorf et al., 2012; Gómez et al., 2012; Choudoir et al., 2018). На протяжении нескольких десятилетий актиномицеты продолжают служить источником множества видов антибиотиков (Van Gastel et al., 2000; Koreishi et al., 2005; Ma et al., 2016).

Следует отметить, что в некоторых группах рассматриваемых нами микроорганизмов основная часть вторичных метаболитов распространена в ограниченном количестве. Соответственно, есть все основания утверждать, что в ходе эволюционного процесса указанный метод обмена сформировался у разных групп актиномицетов независимо друг от друга (Anderson et al., 2002; Anisha et al., 2006; Boudjella et al., 2007; Willey et al., 2011; Xu et al., 2018). Кроме того, он снижается в зависимости от усложнения итогового продукта указанного пути (Теречик, 2003; Постолакий и др., 2009; Сергеева и др., 2009; Рогожина и др., 2016).

Таким образом, анализ литературных данных показал, что актиномицеты характеризуется способностью продуцировать широкий спектр вторичных метаболитов, включая антибиотики, экспрессия которых строго контролируется небольшими диффузионными сигнальными молекулами в наномолярных концентрациях (Rusanova et al., 2000; Watkins et al., 2016; Hou et al., 2018). Сигнальные молекулы, идентифицированные до настоящего времени, классифицированы на 3 скелета: γ -бутиролактоны, фураны и γ -бутенолиды (Люцканова и др., 2005; Molinari et al., 2007; Luzhetskyu et al., 2008; Marakasova et al., 2009). Накопленные данные свидетельствуют о структурном разнообразии сигнальных молекул у видов *Streptomyces* и их потенциале в активации путей биосинтеза криптических вторичных метаболитов (Мироновский и др., 2010; Naumova et al., 2001).

С данной точки зрения, по мнению авторов, очень важны актиномицеты, продуцирующие больше двух третьих известных в настоящее время природных антибиотиков (Осташ и др., 2005; Varma et al., 2003; Indhuja et al., 2012; Varalakshmi et

al., 2014). Результаты секвенирования геномов свидетельствуют об огромном потенциале стрептомицетов в качестве продуцентов биологически активных соединений (Долженко, 2012; Garcia-Bernardo et al., 2000; Bentley et al., 2002; Asano, 2006; Grünewald, 2006; Fiedler et al., 2007; Nanjwade et al., 2010).

Одна из причин для обнаружения новых вторичных метаболитов состоит в том, чтобы обойти проблему устойчивых патогенов в растениеводстве, которые больше не восприимчивы к используемым в настоящее время препаратам (Alekhova et al., 2001; Abdel-Razek et al., 2018).

В статье В.В. Прокопенко с соавторами (2019) молекулярно-биологическим методом оценен метаболически активный компонент представителей группы *Actinobacteria*. Авторами установлено, что в прокариотном микробном сообществе растительных субстратов тундры и тайги при инкубировании субстрата при 5°C биомасса метаболически активных психротолерантных представителей филогенетической группы *Actinobacteria* составляет 34% от биомассы всех бактерий, а при температуре 20°C эта доля увеличивается до 56%.

А.А. Бунас с соавторами (2011) получили варианты *S. avermitilis* УКМ Ас 2161 с повышенной биосинтетической активностью. Исследователи осуществляли отбор в условиях уровней выживания 0,1-0,01%. Активность полученных вариантов в 5-6 раз превышала активность исходного штамма. Качественный состав авермектинового комплекса отобранных вариантов, определенный с помощью метода ВЭЖХ, характеризовался наличием фракций авермектинов А1, А2, В1, В2. По данным авторов, содержание фракции В, является основой многих антипаразитарных препаратов и составляет 40%.

В работе R. Naritha с соавторами (2012) описан штамм протеолитических актиномицетов *S. carpaticus*, выделенный из образца морских отложений, отобранных недалеко от Какинада в провинции Андхра-Прадеш (Индия) и продуцирующий протеазу. Учитывая высокую активность штамма, авторы считают, что внеклеточная протеаза, продуцируемая *S. carpaticus*, имеет существенный потенциал для коммерческого применения (Naritha et al., 2012; Bhavana et al., 2014).

Известно, что штаммы актинобактериального рода *Nocardioopsis* продуцируют противомикробные и биоактивные агенты: цитотоксический фунгицидный антибиотик калафунгин, антибактериальный 3-трегалозамин, ингибитор протеинкиназы С,

метилпендолмицин, стауроспорин-подобный ингибитор фермента циклической АМФ-зависимой протеинкиназы (Raine et al., 1996). Бактерии *N. umidischolae* вырабатывают соединение валиномицин – пептидный антибиотик, повышающий проницаемость мембраны для ионов калия (Bennura et al., 2015).

Развитие науки в последние несколько десятилетий, а также освоение и внедрение в широкую научную практику методов молекулярной и геномной инженерии ставят перед исследователями ряд новых задач, решение которых способствует более глубокому изучению метаболитов актиномицетов на молекулярном уровне. Изучено строение генного аппарата актиномицетов, экспрессия и регуляция отдельных генов, свойства и биосинтез *in vivo* специфических метаболитов и ферментов (Bentley et al., 2002; Asano, 2006; Grünwald, 2006). Достаточно подробно исследована организация генетической детерминации вторичных метаболитов актиномицетов, включающих не только гены, кодирующие и регулирующие синтез биологически активных веществ, но и сцепленные с ними гены, придающие устойчивость к собственным антибиотикам (Efimenko et al., 2016; Manucharova et al., 2017, 2020, 2021).

Формирование вторичного обмена, отличающегося многоуровневой химической структурой метаболитов, способствует образованию взаимосвязей между отдельными группами микроорганизмов (Berthold et al., 2002; Biliavska et al., 2017). Следует отметить, что данные метаболиты выполняют функцию аллелохимических агентов, представляя собой вещества, обеспечивающие продуктивное взаимодействие между разными видами (Vasil'chenko et al., 2000; Hatanaka et al., 2005). Как известно, число антагонистических форм среди актиномицетов очень велико и нередко составляет 20-80% (Сергеева и др., 2006; Овчинников и др., 2012; Bhatti et al., 2017).

1.4. Положительное и антагонистическое воздействие актиномицетов на микроорганизмы

В литературе встречаются сведения о том, что сукцессия прокариотных микроорганизмов в разных типах почв характеризуется подавляющей численностью грамотрицательных бактерий, при этом преобладание актиномицетов наблюдается уже на последующих этапах (Новикова, 2005; Козылбаева и др., 2017; Pettis et al., 2009). Выявлено, что количество актиномицетов возрастает по мере снижения биомассы грибов (Звягинцев и др., 2005). Можно предположить, что рассматриваемые нами микроорганизмы сосредоточены на применении отмершего грибного мицелия.

Хитиназная активность у актиномицетов коррелирует с повышенной концентрацией хитина в клеточных стенках грибов (Авраменко и др., 2010; Williamson et al., 2000; Efimenko et al., 2016).

Актиномицеты способны создавать ассоциации с водорослями, напоминающие лишайники. Эта способность стрептомицетов может быть осуществлена в природных альгобактериальных ценозах на выходах карбонатных пород, где стрептомицетам, наряду с водорослями, принадлежит ценозообразующая роль (Зенова и др., 2005, 2013; Широких и др., 2013, 2019; Козылбаева и др., 2017).

В.Г. Булгаковой с соавторами (2010) экспериментально рассмотрены цианобактериально-актиномицетные ассоциации из цианобактерии *Anabaena variabilis* ATCC 29413 и стрептомицетов, выделенных из апогеотропных корней саговниковых растений. Сформированные авторами ассоциации представляют собой талломы, образованные тесным переплетением нитей цианобактерии и гиф стрептомицетов. Как показали результаты данной работы, развитие цианобактерии в ассоциации со стрептомицетом стимулировало ее азотфиксирующую активность, которая в талломе оказалась в десятки раз выше азотфиксирующей активности монокультуры цианобактерии. Авторы отмечают, что в числе физиологических изменений таллома наблюдалось расширение антимикробного спектра и усиление антагонистической активности цианобактерии и актиномицета в составе таллома по сравнению с монокультурами.

В своем лабораторном эксперименте L.I. Domracheva с соавторами (2010) изучили влияние цианобактерий и стрептомицетов на патогенный гриб рода *Fusarium*. Исследователям удалось не только установить фунгицидные свойства, но и изучить межпопуляционные связи в ризосфере яровой пшеницы и в дерново-подзолистой почве.

Механизмы борьбы актиномицетов с грибными фитопатогенами изучены на генетическом уровне экспрессии функциональных генов, отвечающих за образование хитиназ. Биоконтроль многих болезней растений, вызываемых грибами, коррелирует с продукцией данных ферментов. Так, бактерии, продуцирующие хитиназы проявляют антагонизм *in vitro* по отношению к грибам, а хитиназы стрептомицетов ингибируют рост грибов и разрушают их клеточную стенку. В работе Н.А. Манучаровой с соавторами (2017) определена доля метаболически активных прокариотических клеток в гидrolитическом комплексе почв, а также их биомасса и биоразнообразие. По мнению

авторов, увеличение количества клеток и снижение разнообразия почвенного прокариотического комплекса связано с развитием селективной группы гидролитического комплекса хитин-деградирующих микроорганизмов (Manucharova et al., 2016, 2017).

В работе Г.М. Зеновой с соавторами (2013) обсуждается вопрос о роли актиномицетов в процессах формирования и функционирования симбиозов. Для выяснения данного вопроса предпринимались попытки формирования экспериментальных цианобактериально-актиномицетных ассоциаций. По мнению авторов, очевидно, что актиномицеты как ассоциативные симбионты могут оказывать положительное действие на экосистему, вследствие повышения защиты от вредоносных микроорганизмов за счёт выделения антибиотиков.

Помимо всего перечисленного, актиномицеты нередко выступают антагонистами, если рассматривать их в разрезе взаимодействия с фитопатогенами (Звенигородский и др., 2004; Новикова и др., 2006; Закалюкина и др., 2007; Мерзаева, 2007; Милевская, 2008; Рябова и др., 2014; Тодосийчук и др., 2015; Бурцева и др., 2019; Хазиев и др., 2020; Sakdapetsiri et al., 2020).

В работе Ю.М. Поляк с соавторами (2017) отмечено, что полиеновые антибиотики отвечали за высокую фунгицидную активность изолятов исследуемых ими стрептомицетов. Уровень бактерицидной активности и соотношение полиеновых и неполиеновых антибиотиков, по мнению авторов, сильно зависели от состава источников углерода.

Ю.В. Закалюкиной с соавторами (2007) установлено, что почвенные ацидофильные актиномицеты хорошо растут на средах, показатель рН в которых варьирует в пределах 3-7. Данные микроорганизмы обладают антибактериальными свойствами. Статистически показано более активное подавление ацидофильными культурами роста микроскопических грибов и дрожжей, а также нейтрофильными стрептомицетами грамположительных бактерий. Многие авторы утверждают, что при росте на подкисленных средах ацидофильные актиномицеты способны замедлять развитие фитопатогенных грибов.

В патенте Н.Н. Галкина с соавторами (2004) подробно изучен и охарактеризован штамм *S. hygrosopicus* Subsp. 24, выделенный из почвенных образцов Центрального региона России, способный подавлять широкий спектр фитопатогенов. В статье С.А.

Бурцевой с соавторами (2016) рассмотрена возможность практического применения микроорганизмов р. *Streptomyces* в качестве защитных механизмов для борьбы с фитопатогенами. Авторами доказана фунгицидная активность штаммов р. *Streptomyces*, выделенных из почв центральной части Молдовы, в отношении таких возбудителей грибных болезней сельскохозяйственных культур, как *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*.

Е.А. Дегтяревой с соавторами (2009) показана принципиальная возможность биоконтроля фитопатогенных грибов в почве и, в частности, в ризосфере с помощью почвенных стрептомицетов. Для экспериментов по биологическому контролю авторами в качестве потенциальных биофунгицидов отобраны 17 популяций стрептомицетов с выраженной активностью по отношению к тестируемым видам фитопатогенных грибов рода *Fusarium*, в том числе *F. heterosporum*, *F. merismoides*, *F. oxysporum*, *F. solani*, а также к *Verticillium luteoalbum*, *Phoma exigua*. Однако исследования, проведенные авторами, показали, что стрептомицеты с фунгицидной активностью могут угнетать также и различные бактерии, в том числе и те, которые обычно относят к типичным обитателям почвы.

В работе И.И. Новиковой с соавторами (2006), описан штамм *S. chrysomallus* P-21, выделенный из почв Прибалтики (Литва) и отселектированный по признакам антагонистической и фиторегуляторной активности. Запатентованный исследователями штамм обладает высокой эффективностью в отношении *Rhizoctonia solani* (11,5%) и *V. dahliae* (7,5%). Антивирусная активность биопрепарата на основе данного штамма колебалась от 30 до 80% в отношении вирусов картофеля, томата и зерновых культур. Фитостимулирующая активность установлена на уровне широко применяемого в растениеводстве активатора прорастания семян. Кроме того, по сведениям авторов, показатели биохимического состава плодов огурца, перца и томата в опытных вариантах свидетельствуют о существенном увеличении содержания сухого вещества, сахаров, аскорбиновой кислоты и снижении содержания нитратов (Патент № 2226214).

С.Б. Илич с соавторами (2007) занимались исследованиями изолятов стрептомицетов, выделенных из почв юго-восточной Сербии. Авторами изучена бактерицидная активность данных изолятов в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов и дрожжей. Исследования авторов показали, что

полученные изоляты активны по отношению к *Botrytis cinerea* и *Candida albicans* (размер зоны ингибирования составил не менее 31 мм).

Результаты исследований А. Basilio с соавторами (2003) подтверждают идею о том, что виды актиномицетов, выделенные в альтернативных селективных условиях рН и солености, обладают значительной способностью к получению соединений с бактерицидной или фунгицидной активностью.

В опытах R. Solanki с соавторами (2008) изучены морские актиномицеты - эффективные производители различных вторичных метаболитов. Данные микроорганизмы показали высокие бактерицидные, фунгицидные и инсектицидные свойства. По мнению авторов, биоактивные соединения морских актиномицетов обладают различными химическими структурами, которые могут служить основой для синтеза новых препаратов, используемых для борьбы с устойчивыми патогенами.

В работе Т.А. Грачёвой с соавторами (2017) дана характеристика состава и антибиотической активности актинобактерий рода *Streptomyces*, ассоциированных с многоножками - диплоподами, навозными червями и с их пищевыми субстратами (опад, вермикомпост, почва), собранными на территории заповедных зон Крыма. У штаммов, полученных из ассоциаций с животными, обнаружен повышенный антагонизм к тест-бактериям и грибам по сравнению со штаммами, выделенными из их местообитаний. Кроме того, подавляющее большинство культур проявляли высокие антибиотические свойства.

В статье А.З. Миндубаева с соавторами (2015) штаммы стрептомицетов сравнивались на предмет антагонистического подавления тест-организмов различной таксономической принадлежности – бактерий, дрожжей, одноклеточных зеленых водорослей и двух сорных травянистых растений. Различия в антибиотической активности данных стрептомицетов свидетельствуют о том, что они выделены из различных местообитаний.

Sobolevskaya М.Р. с соавторами (2006) впервые получили данные о биологической активности этилацетатных экстрактов стрептомицетов Байкала. Данные экстракты выделенных штаммов рода *Streptomyces* протестированы авторами на наличие соединений, ингибирующих рост патогенных и условно патогенных микроорганизмов, и показали высокую биологическую активность.

Впервые И.А. Теркиной с соавторами (2004) исследованы распределение, численность, видовой состав и свойства актиномицетов родов *Streptomyces* и *Micromonospora* в озере Байкал. Экспериментальным путем учеными доказано, что актиномицеты, которые способны подавлять рост антибиотико-резистентных штаммов бактерий, продуцируют более активные антимикробные вещества, чем уже известные препараты. Причем, данные вещества, по мнению авторов, обладают как бактерицидным, так и фунгицидным действием.

О.А. Лапчинской с соавторами (2012) изучен штамм-продуцент *S. griseocarneus* Subsp. ВКПМ-S887, который при испытании методом штриха на глюкозонитратном агаре №2 Гаузе подавляет рост грамположительных (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*, *Micrococcus luteus*) и грамотрицательных (*Bacterium paracoli*, *Commomonas terrigena*) бактерий, дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*). Однако, по данным авторов, штамм не действует на *Escherichia coli*.

В исследованиях D. Subramanian с соавторами (2017) изучен штамм *S. carpaticus* - МК-01, выделенный из морской воды, собранной в районе Тэджон-Кост на острове Чеджу, содержащий антимикробные соединения, которые могут использоваться в качестве потенциального источника антибиотиков против патогенов рыб. Неочищенный этилацетатный экстракт штамма *S. carpaticus* - МК-01 проявил обширную антибактериальную активность в отношении грамположительных патогенных бактерий рыб, а именно *Streptococcus iniae* с максимальной зоной ингибирования ($0,92 \pm 0,03$ мм). Этилацетатный экстракт данного штамма показывает значительное увеличение антиоксидантной активности (Subramanian et al., 2017).

Таким образом, анализ литературных источников подтверждает сведения о том, что во всем мире учеными интенсивно исследуются микробы–антагонисты, которые не только угнетают фитопатогены в зоне корня, но и вырабатывают антибиотики, которые поступают в ткани растений, и делают их более устойчивыми к возбудителям болезней (Широких и др., 2011, 2013; Maskey et al., 2004; Vadjji et al., 2017; Бурцева и др., 2019). Очевидно, применение микробов–антагонистов не может служить универсальным методом борьбы с болезнями сельскохозяйственных растений, но в ряде случаев препараты микробов – антагонистов следует использовать (Чулуун и др., 2014; Цулукидзе и др., 2019; Блинова и др., 2020; Reghioua et al., 2006).

1.5. Влияние актиномицетов на растения

В научной литературе встречается большое количество сведений о том, что взаимодействия между растениями и микроорганизмами играют исключительно важную роль в жизни растений, обеспечивая их питание, защиту от фитопатогенов, а также адаптацию к стрессам и регуляцию развития (Бурцева и др., 2016; Широких и др., 2021; Sabaratnam et al., 2002). К сожалению, современные сорта растений интенсивного типа в силу своих генетических особенностей, не всегда способны к полноценному взаимодействию с полезной микрофлорой, а многие из используемых микробных препаратов не отвечают возросшим требованиям к эффективности, безопасности и качеству продукции современного агропроизводства (Бойкова и др., 2002; Милевская, 2008; Широких и др., 2013; Сидорова, 2019).

Бактерии могут вызывать различные патогенные симптомы, болезни или существовать в растениях в виде бессимптомных эндофитов (Мерзаева и др., 2006; Shaaban et al., 2018). Есть штаммы с достаточно высокими показателями антагонистической активности, которые проявляют значительное токсическое действие на растения (Жерносекова, 2012; Товстик и др., 2019; Langlois et al., 2003; Hristeva, 2016).

В природных условиях растения часто образуют многокомпонентные симбиозы, в которых участвуют актиномицеты, микоризные грибы, ризобактерии, а в случае бобовых и ризобии (Николаев и др., 2015). По данным Т.И. Громовых с соавторами (2005) из почвы лесного питомника Красноярского края в 1997 году выделен штамм 19/97М *S. ateritius* для защиты хвойных культур от фитопатогенных грибов родов *Fusarium* и *Alternaria*. Результаты С.А. Бурцевой с соавторами (2016) показали, что штаммы *Streptomyces sp.* 9, 12 и 66 и их естественные варианты оказали положительное влияние на семена перечисленных исследуемых культур, увеличилась средняя длина основного корня и количество корней. По данным авторов, экзометаболиты *S. massasporeus* CNMN-Ас-06 увеличивают скорость прорастания семян. В работе отмечено, что количество листьев испытуемых растений увеличилось на 12,5%, а общая площадь составила 28,7% по сравнению с контрольными растениями.

Следует отметить, что актиномицеты играют важнейшую роль в создании почвенного плодородия и оптимизации условий произрастания растений, что проявляется в стимуляции их роста, развития и увеличении урожайности в 2-2,5 раза

(Норовсурэн и др., 2007; Бурцева и др., 2014; Чулуун и др., 2014; Назарова и др., 2019; Широких и др., 2020; Pylro et al., 2019).

В связи с этим, закономерен интерес к изучению факторов, которые могут оказывать влияние на связь актиномицетов и различных сельскохозяйственных культур в конкретных почвенных условиях. Разработка данного вопроса является важным звеном в экологической характеристике микробного комплекса почвы и поможет развить теоретические основы для целенаправленного регулирования взаимодействий актиномицетов с фитопатогенными микроорганизмами, повреждающими растения.

1.6. Биотехнологические возможности актиномицетов и биопрепараты на их основе для агробiotехнологий

Исследования показывают, что одним из условий получения высокоэффективных биопрепаратов является наличие активных и стабильных штаммов-продуцентов, поэтому очевидна необходимость знания их биологических особенностей: культурально-морфологических и физиолого-биохимических признаков, изменчивости, жизнеспособности, целевой активности (Терехова и др., 2007; Соболевская и др., 2008; Поляк и др., 2017).

На процесс роста и развития продуцентов оказывают влияние многие факторы, к ним относятся температура и pH ферментационных жидкостей, способ и продолжительность культивирования, состав питательных сред (Звягинцев, 2001). При глубинном культивировании адаптация актиномицетов к источникам углерода и азота происходит значительно быстрее, чем при поверхностном, что подтверждается более коротким латентным периодом: лаг фаза сокращается с 24-36 до 18-20 часов. К моменту выхода в стационарную фазу роста экономический коэффициент максимален. В целом культивирование актиномицетов целесообразно проводить в течение 7, 14, 21 суток (Зенова, 1992).

Важной характеристикой для накопления биомассы является обеспеченность культуры источниками углерода, являющимися строительным материалом и источником энергии для клетки (Звягинцев, 2011). Среды для культивирования актиномицетов подбираются индивидуально для каждого продуцента. Они должны содержать в себе источники углерода, азота, а так же различные микро- и макроэлементы. Актиномицеты успешно растут на средах, содержащих моно-,

дисахариды и сахароспирты, обладает способностью утилизировать глицерин, этиловый спирт. Оптимальное для культивирования актиномицетов значение pH 6-8. Температурный диапазон для получения максимального выхода биомассы актиномицетов находится в пределах 25-28 °С (Зенова, 2000; Синева и др., 2017).

Патентный поиск показал ряд штаммов стрептомицетов, перспективных для создания на их основе средств защиты растений: *S. avermitilis* НИЦБ 132 - продуцент авермектинов эффективный в отношении круглых червей, зудных клещей (Патент №2147320), *S. avermitilis* ССМ 4697 - продуцент авермектинов, оказывающих токсическое действие на клещей (Патент №2156301), *S. chrysomallus* P-21 действует против грибных и вирусных фитопатогенов (Патент № 2226214), *S. cinnamomensis* АС-1638 – обладает узким спектром влияния на микроорганизмы (Патент №2241755), *S. globisporus* К-35/15 - используется для защиты растений от вредных насекомых – фитофагов (Патент №2630661), *S. hygroscopicus subsp.* ЦКМ В-4561 - обладает фунгицидными, бактерицидными и инсектицидными свойствами (Патент №2243259).

Н.Е. Агансоновой с соавторами (2000) изучены биотехнологические особенности штамма *S. lateritius* 19/97М в условиях поверхностного и глубинного культивирования. Авторами выявлено, что штамм способен использовать различные субстраты в качестве источника углерода: крахмал, глицерин, моно-, дисахариды. Проведенные исследователями опытно-производственные испытания показали, что использование биопрепаратов на основе данного продуцента увеличивает урожайность злаков в 1,2 раза, а выход здоровых сеянцев в лесном питомнике - в 9,5 раз.

Проведенные исследования И.В. Бойковой с соавторами (2002) позволяют рекомендовать препарат Нимацаль-Т/С (при условии его регистрации на территории РФ) для защиты овощных культур (огурца, баклажана и перца) от паутинных клещей рода *Tetranychus* путем двукратной обработки растений в предложенных авторами концентрациях с интервалом 12 дней. Описанный Н.Н. Галкиным с соавторами (2004) штамм *S. hygroscopicus* Subsp. 24 может быть использован в качестве средства для защиты растений от болезней и вредителей. По мнению авторов, запатентованный ими стрептомицет обладает широким спектром действия на фитопатогенные микроорганизмы и проявляет инсектицидные свойства, вызывая гибель личинок 1 возраста колорадского жука и гусениц.

В.И. Звенигородским с соавторами (2004) создана модель для оценки инсектицидной активности изолятов и обнаружены штаммы актиномицетов, вызывающие летальный эффект на насекомых-вредителей - тараканов и сверчков, которые являются аналогами саранчи. Результаты исследований О.С. Анисимовой (2008) свидетельствуют о том, что штаммы *S. loidensis* П-56 и *S. herbaricolor* S-100, отселектированные по признаку инсектоакарицидной активности и заложенные на длительное хранение различными методами, рекомендуется использовать для разработки эффективных и экологически безопасных биопрепаратов Индоцид и Гербен для включения их в системы интегрированной защиты растений от вредных сосущих членистоногих.

В опытах О.В. Сергеевой (2009) изучено влияние двух штаммов актиномицетов рода *Streptomyces* на морковную листовую блошку. Исследования показали, что препараты начинают гарантированно действовать на 3-и сутки после обработки. В работе И.Г. Широких с соавторами (2013) установлено, что штамм *S. hygroscopicus* А-4 целесообразно использовать в качестве биопрепарата для регуляции численности фитопатогенов на завершительной стадии микробной сукцессии, связанной с окончанием вегетационного периода. В статье Н.Б. Лемановой с соавторами (2015) изложены результаты применения двух изолятов р. *Streptomyces* в качестве основы биопрепаратов – стимуляторов роста при выращивании томата и баклажана.

Анализ литературных источников свидетельствует о том, что на основе актиномицетов производятся биопрепараты проявляющие антагонистическую активность, но нет ни одного средства защиты растений, сочетающего одновременно противовирусные, фунгицидные, антиоксидантные и фитостимулирующие свойства.

1.7. Заключение по обзору литературы

Расширение сведений об объеме и разнообразии актиномицетов, их месте среди прочих микробов, населяющих почву, развивает наши представления о них, как продуцентах специфических биологически активных веществ и вызывает огромный интерес к их исследованию (Бойкова и др., 2005; Сергеева, 2009; Маградзе и др., 2019; Korkmaz et al., 2015). Анализ литературных данных показал, что, несмотря на большое количество работ, посвященных исследованию актиномицетов, данный вопрос до конца не изучен и требует дальнейших комплексных исследований.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Диссертационное исследование спланировано согласно поставленной цели и задачам. Предметом исследования явился поиск новых природных штаммов-антагонистов вирусных и грибных патогенов, обладающих фитостимулирующими и антиоксидантными свойствами. При выполнении работы использовали микробиологические, биотехнологические, биохимические, токсикологические, физико-химические, биологические и статистические методы исследований. Экспериментальные исследования выполнены на кафедре биотехнологии, зоологии и аквакультуры, в научной лаборатории биотехнологий ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет» и на базе филиала ФГБУ «Российский сельскохозяйственный центр» по Астраханской области.

Обработку результатов осуществляли стандартными общепринятыми методиками. Оценку разброса данных в экспериментах проводили подсчетом средних величин и среднего квадратичного отклонения для выявления доверительного интервала при 95%-ном уровне значимости. Для расчетов применяли программы BioStat 2008 и Excel.

2.1. Штаммы микроорганизмов и среды культивирования

Материалами исследований явились штаммы актиномицетов. В опытах использовали двухсуточные и трехсуточные суспензии отобранных штаммов *S. carpathicus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883; 5 вариантов экстрактов (водно-спиртовый в трех модификациях: 80:20; 50:50; 20:80, метанольный и гексановый) штаммов *S. carpathicus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883.

Несмотря на то, что вторичные метаболиты актиномицетов синтезируются в основном в стационарной фазе процесса ферментации (Егоров и др., 2004; Verdy et al., 1994), их компонентный состав у исследуемых штаммов изучен в лаг-фазе роста культуры, так как исследуемые бактерии в данной стадии обладают высокой биологической активностью (Григорян и др., 2020), а концентрация 10^9 КОЕ/мл соответствует концентрации клеток в коммерческих биопрепаратах.

Идентификация штаммов проведена в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ФГБНУ ВНИИСХМ, г. Санкт-

Петербург, Пушкин) с помощью метода секвенирования по Сэнгеру фрагмента последовательности гена 16S рРНК (*rrs*). В данной коллекции штаммы задепонированы.

Для выявления и количественного учета эколого-трофических групп микроорганизмов методом предельных разведений проводили посев на плотные питательные среды: ГРМ-агар, среда Эшби, голодный агар, среда Чапека, а также на среды для выявления актиномицетов: среда Гаузе №2, крахмально-казеиновая среда, агар крахмально-аммиачный, агар глицерин-аргининовый, агар глицерин-нитратный (Теппер и др., 1993; Нетрусов и др., 2005). Выращивание культур проводили в течение 7 суток при $t = 28^{\circ}\text{C}$ в термостате ТС-1/80 СПУ.

Глубинное культивирование актиномицетов проводили на средах, на которых выделены соответствующие изоляты, без использования агар-агара (Егоров, 1995; Зенова и др., 2000). Для опытов использовали двух и трехсуточные культуры. Общее микробное число клеток в суспензии определяли методом глубинного посева на питательный агар и подсчетом клеток в камере Горяева (Звягинцев, 1991; Нетрусов и др., 2005).

В процессе культивирования на жидких питательных средах осуществлялся контроль следующих параметров: рН на рН-метре-иономере «Эксперт-001», отсутствие посторонней микрофлоры путем микроскопирования и высева на ГРМ-агар.

Микроскопирование актиномицетов проводили с использованием бинокулярного микроскопа G 380 с темнопольной и фазово-контрастной приставкой, визуализатором и фотоаппаратом.

Данные штаммы хранятся в коллекции кафедры биотехнологии, зоологии и аквакультуры ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет», в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения ФГБНУ ВНИИСХМ и размещены в жидкой среде с 15% глицерином на Станции низкотемпературного автоматизированного хранения биологических образцов (Liconic Instruments, Лихтенштейн) при -80°C .

Для хранения штаммов на кафедре используется метод периодических пересевов (4-6 раз в год) на сусло-агаре. Культивирование после пересева проводится при температуре 28°C в течение 7-14 дней. Затем культуры хранятся в холодильнике при температуре $+4^{\circ}\text{C}$.

2.2. Отбор почвенных образцов

Отбор почвенных образцов для определения степени засоления почв, микробиологического анализа и скрининга актиномицетов проводили согласно ГОСТ 17.4.4.02-2017.

Образцы почв для анализа брали в характерном для данной местности биотопе с учетом ландшафта, рельефа, растительности, типа почвы и ее окультуренности. Верхний слой почвы обычно богат разнообразными видами бактерий и беден актиномицетами, поэтому перед взятием пробы снимали верхний слой толщиной 1-2 см.

Для химических анализов почву высушивали в бумажных пакетах, после чего хранили при комнатной температуре. Микробиологические исследования проводили сразу после взятия проб.

2.3. Биологические свойства штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

2.3.1. Изучение культурально-морфологических, биохимических свойств и генетических свойств штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

Сравнительное изучение морфологических (форма цепочек спор) и культуральных (окраска воздушного мицелия, окраска субстратного мицелия, наличие растворимых пигментов, наличие меланоидных пигментов) диагностических признаков при росте штаммов актиномицетов выполнили на следующих средах: минеральный агар I, солевой раствор А, овсяный агар, овсяный агар ISP3, глицерин-нитратный агар, глюкозо-аспарагиновый агар, глицерин-аспарагиновый агар ISP5, пептонно-дрожжевой агар с железом ISP6, среда ISP9, крахмально-аммиачный агар ISP4 (Гаузе и др., 1983).

Для изучения морфологического строения репродуктивных структур культуры актиномицетов выращены на среде, наиболее благоприятной для спороношения, минеральном агаре 1, в чашках Петри или на скошенном агаре в пробирках. Тип цепочек и характер поверхности спор определяли у зрелых культур на 14 день роста. Кусочек агара с мицелием помещали на предметное стекло, срезав предварительно весь лишний агар, и просматривали в световой микроскоп.

Культуральные свойства исследовали путем определения цвета воздушного и субстратного мицелия, цвета растворимых пигментов, которые окрашивают среду.

Пигменты, продукты вторичного метаболизма, являются важной биохимической характеристикой актиномицетов (Гаузе и др., 1983).

Определение цвета проводили на 7, 14, 21 день роста культур. Цвет воздушного мицелия определяли на минеральном агаре 1, так как данная среда благоприятна для образования спорносыящего воздушного мицелия. Определение цвета воздушного мицелия проводили при дневном освещении.

Цвет субстратного мицелия (определяли по цвету обратной стороны колонии) обусловлен образованием различных пигментов. Данный цвет изменяется в процессе роста культур вследствие образования нескольких пигментов. В процессе длительного культивирования и хранения культуры иногда теряют способность к образованию пигментов. Определение окраски субстратного мицелия относится также к определению цвета растворимых, окрашивающих сред пигментов.

Образование меланоидных пигментов определяли на пептонно-дрожжевом агаре, содержащем железо, на 2-4 сутки роста. Если при этом образовывался темно-зелено-бурый, бурый или черный растворимый пигмент, то считалось, что культура образует меланоидные пигменты.

Биохимические анализы изолятов актиномицетов проводили: на оксидазу - согласно ГОСТ 32064-2013, на каталазу - ГОСТ 30425-97, на сероводород - ГОСТ 31659-2012, на индол - ГОСТ 30726-2001. Образование сероводорода обнаруживали на питательной среде Треснера, которую засеивали взвесью спор 14-и суточных культур актиномицетов. Отмечали результаты (почернение среды) через 48 часов при 28 °С. Способность штаммов восстанавливать нитраты в нитриты исследовали на жидкой среде Чапека с 1% глицерина.

Для идентификации выделенных активных изолятов актиномицета выделяли геномную ДНК, используя набор реактивов AxyPrep Multisource Genomic DNA Miniprep Kit («Corning», USA). Для амплификации участка гена 16S рРНК (около 1500 пн) применяли праймеры fD1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') и rD1 (5'-CTTAAGGAGGTGATCCAGCC-3') (Weisburg et al., 1991). ПЦР проводили в 50 мкл реакционной смеси, содержащей 5 мкМ смеси нуклеотидтрифосфатов («Хеликон», Россия), по 50 pmol каждого праймера («Евроген», Россия), 0,5 мкл *Taq*-полимеразы (5 ед./мкл) («Хеликон», Россия) и 1 мкл (100–200 нг) геномной ДНК. Реакцию проводили в амплификаторе C1000TM Thermal Cycler («BioRad», США). ПЦР выполняли в течение 36

циклов: предварительная денатурация при 95°C, 3 мин 30 сек; 35 циклов денатурации при 94°C, 1 мин, отжига праймеров при 54°C, 1 мин и элонгации при 72°C, 2 мин. 10 сек.; финальная элонгация при 72°C 7 мин.

Выделенную ДНК визуализировали с помощью электрофореза в 1%-ном агарозном геле с использованием маркера Lambda DNA/HindIII («Fermentas», США) для оценки размера фрагментов и количества ДНК. Фрагменты нужного размера вырезали из геля и очищали с помощью набора PureLink™ Quick kit («Invitrogen», США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Определение нуклеотидной последовательности ПЦР-продукта проводили на генетическом анализаторе ABI 3500xl («Applied Biosystems», США). Поиск гомологичных последовательностей проводили с помощью базы данных NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) и программы BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Для конструирования филогенетических деревьев использовали программу MEGA 6.0 и метод Neighbor-Joining (Tamura et al., 2011). Эволюционные расстояния рассчитаны с использованием модели Maximum Composite Likelihood. Статистическая достоверность кластеров оценивалась с помощью бутстреп-анализа (1000 реплик).

2.3.2. Определение фитотоксичности штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

Метод изучения фитотоксичности на семенах томата. На первом этапе для отбора активных изолятов с фитостимулирующими свойствами определяли фитотоксичность суспензии актиномицетов в лабораторных опытах на семенах томата (*Solanum lycopersicum*) Новичок (ГОСТ 12038-84).

Экспозиция замачивания семян в трехсуточной суспензии составляла 1 час. Обработанные семена помещали по 20 штук и проращивали на увлажненных ватных дисках (по 20 мл стерильной воды) в чашках Петри. В опыте использовали 2 контрольных варианта: 1 – замачивание семян в водопроводной воде, 2 - замачивание семян в стерильной крахмально-казеиновой среде. Повторность опыта трехкратная. Учет всхожести проводили на 7-е и 14-е сутки.

Метод ингибирования роста корня редиса. Фитотоксичность суспензии и экстрактов отобранных активных штаммов исследовали методом ингибирования роста

корня редиса (*Rarhanus sativus*) Хелро при 20 °С в течение 3 суток в двух концентрациях: 0,5 мг/мл и 1 мг/мл (Селивановская, 2011).

Наличие ингибирующего эффекта выявляли, сравнивая всхожесть семян и длину корня в контрольных и опытных вариантах. Контрольные образцы представлены в двух вариантах: контроль №1 – стерильная дистиллированная вода, контроль №2 – стерильная питательная среда (крахмально-казеиновый бульон).

Для проведения биотестирования готовили чашки Петри (по 3 повторности на элюат, каждое из его разведений и контроль), на дно которых укладывали круг из фильтровальной бумаги.

В каждую чашку помещали по 20 семян редиса, затем приливали 5 мл элюата, его разведения или контроля (в качестве контроля использовали дистиллированную воду). Экспозиция составила 3 суток при 20°С. Затем рассчитывали всхожесть и измеряли длину корешка.

Расчет результатов, по которому определяли ингибирующий эффект, оказываемый элюатом и его разведениями осуществлялся по формуле:

$$I (\%) = 100 - (L_0 - 100 / L_K), \text{ где}$$

I - ингибирование, вызываемое присутствием элюата или его разведения;

L_K - средняя длина корня в контроле;

L_0 - средняя длина корня в присутствии элюата или его разведения.

2.3.3. Оценка безвредности штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 в отношении дафний

Безвредность штаммов для животных проверяли в экспериментах *in vivo* на дафниях (*Daphnia magna* Straus) (Селивановская и др., 2011).

Определение токсичности с использованием *D. magna* проводили в инкубационных стаканах. Гибель особей фиксировали визуально.

Для исследования использовали 50-миллиметровые стаканы, в которые добавляли по 20 мл тестируемого вещества (по вариантам): суспензий штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 и их разведений (0,25%; 0,5%; 0,1%; 2%; 3%; 4%; 5%; 10%), водопроводной воды (контроль №1); стерильной картофельной среды (контроль №2). В данные сосуды помещали по 5 рачков в возрасте 6-24 часов. В течение эксперимента кормления дафний не

производили. Через 24 и 48 часов инкубирования (при комнатной температуре) визуально определяли количество погибших особей. В качестве контроля использовали водопроводную воду. Опыт поставлен в трехкратной повторности.

Определение ингибирующего эффекта, оказываемого суспензиями штаммов и их разведениями проводили согласно формуле:

$$I (\%) = (N_{к, \text{исх}} - N_{к, \text{гиб}}) * 100 : (N_{о, \text{исх}} - N_{о, \text{выж}}), \text{ где}$$

I - ингибирование, вызываемое присутствием элюата или его разведения;

$N_{к, \text{исх}}$ - исходное количество особей в контроле;

$N_{к, \text{гиб}}$ - количество погибших особей в контроле;

$N_{о, \text{исх}}$ - исходное количество особей в присутствии элюата или его разведения;

$N_{о, \text{выж}}$ - количество погибших особей в присутствии элюата или его разведения.

2.4. Определение антиоксидантной активности штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

Изучение антиоксидантной активности суспензии и экстрактов трех исследуемых штаммов проводили в 6 вариантах (суспензия, водно-спиртовые экстракты в трёх соотношениях (20:80; 50:50; 80:20), метанольный и гексановый экстракты) с концентрацией 1 мг/мл.

В качестве стандарта антиоксидантной активности использовали аскорбиновую кислоту. Для определения антиоксидантной активности использовали реакцию со стабильным свободным радикалом ДФПГ (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил) (Крешков, 1971; Астафьева и др., 2015). Степень обесцвечивания раствора ДФПГ при добавлении экстрактов определяли спектрофотометрически при 517 нм на спектрофотометре ПЭ-5400В (ООО «ПРОЭКОЛАБ», Россия). Антиоксидантную активность (АОА) оценивали по интенсивности торможения накопления продуктов перекисного окисления и рассчитывали по формуле:

$$АОА = (D_{к} - D_{оп} / D_{к}) * 100\%,$$

где $D_{к}$, $D_{оп}$ – оптическая плотность в контрольном и опытном образцах, соответственно.

2.5. Определение активности штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 в отношении вирусных и грибных патогенов растений

Создание инфекционного фона для определения противовирусной активности. Искусственное заражение рассады томата проводили на стадии 3-4 настоящих листьев ВОМ и ВМТо путем нанесения на листовые пластинки инокулюмов, полученных путем растирания пестиком инфицированных фитовирусами растений. Проростки картофеля искусственно заражали на стадии 3-4 настоящих листьев УВК и ХВК. Идентифицированные изоляты вирусов (ВОМ, ВМТо, УВК, ХВК) взяты из коллекции филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по Астраханской области.

Обработку растений томата и картофеля суспензиями штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04883 проводили двукратно методом опрыскивания через 7 дней после контаминации возбудителями вирусной инфекции. Интервал времени между обработками составил 5 дней. Контрольные растения опрыскивали водопроводной водой, а опытные – суспензиями штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04883. Повторность опыта четырехкратная (по 20 растений в каждом варианте).

Выявление пораженности вирусной инфекцией на томате и идентификация фитовирусов проводилась визуальным, индикаторным и серологическим методами через 3 суток после второй обработки. На картофеле идентификация вирусов проведена идентичным образом с дополнительным применением метода ПЦР-диагностики.

Метод растений-индикаторов. Противовирусную активность суспензий штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 с титром 10^9 КОЕ/мл исследовали на рассаде томата (*Solanum lycopersicum*) сорта Новичок и картофеле (*Solanum tuberosum*) сорта Ред Скарлетт в индикаторной лаборатории филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по Астраханской области.

Для идентификации вирусной инфекции использовали тестирующий набор растений-индикаторов, включающем виды: *Nicotiana glutinosa* L., *N. sylvestris* Spreng. et Comes., *N. rustica* L., *N. tabacum* L.v. Samsun 959, *N. debney* Domin., *Datura stramonium* L., *Gomphrena globosa* L., *Cucurbita digitata* L. (Власов, 1960; Проценко, 1966).

Для индикаторного метода диагностики семена тестирующих растений-индикаторов высевали в горшки диаметром 25-30 см, а затем пикировали по одному в

горшки меньшего диаметра (7-12 см). Используемый торф – верховой кипованный (рН=6,8-7,2). Температура воздуха в период выращивания составляла 20-25°C, что являлось оптимальным режимом для индикаторных растений. В осенне-зимний период использовали светоустановки. В течение вегетации за растениями осуществляли агротехнический уход.

Инокуляцию вирусной инфекции осуществляли на стадии 3-4 листьев. Листья образцов растирали пестиком в фарфоровой ступке, предварительно продезинфицированной кипячением в течение 20 минут.

Для более эффективного травмирования листовой поверхности и увеличению, таким образом, попадания возбудителя в растение, в инокулюм или на поверхность листа до заражения абразивных веществ добавляли карборунд. Искусственному заражению подвергались молодые, интенсивно растущие растения. Перед инокуляцией растения затеняли на 24 часа, что способствовало повышению их чувствительности к заражению. В качестве контроля использованы здоровые растения.

Листья натирали фарфоровым пестиком, смоченным в инокулюме. Через несколько минут инокулюм смывали водой из пульверизатора. После инокуляции растения снова затеняли, чтобы они легче переживали последствие механического травмирования листьев. В дальнейшем растения содержались в летний период при естественном освещении, в осенне-зимний – в светоустановке. Наблюдения за индикаторами начинали через 1-2 дня после заражения и проводили регулярно в течение четырех недель, обращая внимание как на инокулированные листья, так и на молодые, отрастающие вновь. Признаки местной реакции появляются через 3-12 дней после инокуляции, системной реакции – через 7-30 дней.

Иммунохроматографический метод на иммунострипах. Материалом для диагностики вирусов методом ИХА служили иммунострипы (ImmunoStrip Test Kit Flashkits, США), которые состоят из пластины микротитра, пропитанной щелочным ферментом, покрытой с обеих сторон антителами выявляемого возбудителя болезни, и пакета с буфером для экстракции образцов (Гиббс и др., 1978; МУК 4.2.3533-18). Для анализа часть листа (0,15 г.) исследуемого растения помещали в пакет с буфером и разминали его. Иммунострип помещали в пакет, погружая только 0,5 см в буферный раствор с инокулюмом до метки «sample» и оставляли на 3-5 минут до появления результата.

Использование иммунострипов позволяет получить практически мгновенный ответ о наличии в растении инфекционного начала, предположенного при визуальном наблюдении. Всё тестирование одного образца занимало 10-15 мин.

Метод ПЦР-диагностики в режиме реального времени. Материалом для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме «реального времени» с использованием микрочипового амплификатора нуклеиновых кислот «АриаДНА» служили пробы ДНК и РНК, полученные из клубней или зеленой массы картофеля (Инструкция..., 2015).

Набор микрочипов «Фитопатогены картофеля. ДНК» предназначен для выявления специфических последовательностей ДНК в геноме *Phytophthora infestans*, *Pectobacterium atrosepticum*, *P. carotovorum* Subsp. *Carotovorum*, *Dickeya dianthicola*, *D. solani*, *Clavibacter michiganensis* Subsp. *Sepedonicus* (CMS) и *Ralstonia solanacearum* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме «реального времени» с использованием микрочипового амплификатора нуклеиновых кислот «АриаДНА».

Набор микрочипов «Фитопатогены картофеля. РНК» предназначен для выявления специфических последовательностей РНК вирусов YVK, XVK, MBK, AVK, SBK, ВСЛК, вирус метельчатости верхушки (моп-топ), а также вириода методом полимеразной цепной реакции с предшествующей обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме «реального времени» с использованием микрочипового амплификатора нуклеиновых кислот «АриаДНА».

Выделение ДНК из подготовленного материала проводили в соответствии с инструкцией к используемому набору (например, «ДНК-сорб-В», производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора).

Анализ результатов проводили с помощью программного обеспечения микрочипового амплификатора нуклеиновых кислот в режиме реального времени «АриаДНА».

Метод диффузии в агар (метод лунок). Для выявления антифунгальной активности суспензий штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 использовали метод диффузии в агар (Теппер и др., 1993; Нетрусов и др., 2005).

Концентрация суспензий тест-культур патогенов соответствовала титру 10^9 КОЕ/мл. В агаре вырезали лунки диаметром 5 мм и вносили в них по 0,1 мл суспензии штаммов. Чашки инкубировали при 28°C в течение 3-7 суток, в зависимости от фитопатогенного микромицета, и измеряли величину (ширину) зоны подавления роста патогенов от края лунки в мм.

Для определения антагонистической активности в качестве тест-объектов использовали 12 изолятов грибов, относящихся к родам *Fusarium*, *Alternaria*, *Phoma*, *Colletotrichum*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Macrosporium*. Данные тест-культуры взяты из коллекции филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по Астраханской области.

Приготовление образцов для анализа. Штаммы выращивали при температуре плюс 28°C и $\text{pH} = 7$ в течение 72 часов при непрерывном перемешивании на шейкере (120 об/мин) на картофельной среде (Гаузе и др., 1983). Концентрацию клеток в суспензии определяли путём посева суспензии на плотную картофельную среду (Нетрусов и др., 2005).

Метанольный и водно-спиртовой экстракты готовили из сухой биомассы исследуемых штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 с титром клеток 10^9 КОЕ/мл, полученной путем высушивания в ротационном вакуумном испарителе (КА RV 10 digital). Сухие биомассы штаммов заливали метанолом или раствором дистиллированной воды и этанола (20:80; 50:50; 80:20) в соотношении 1 мг/мл (Бойкова и др., 2007). После центрифугирования, удаления осадка, высушивания жидкости в ротационном испарителе при температуре от 60 до 70°C получали сухие экстракты.

Для приготовления гексановых экстрактов 250 мл суспензии (концентрация клеток 10^9 КОЕ/мл) штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 экстрагировали 5 мл гексана в течение 3 минут в делительной воронке (Krylova et al., 2003). Гексановый экстракт высушивали в ротационном испарителе. Экстракты сохраняли в морозильной камере при температуре -18°C .

Для получения опытных образцов сухую биомассу суспензии и сухие экстракты штаммов разводили стерильной дистиллированной водой в соотношениях: 0,5 мг/мл и 1 мг/мл.

2.6. Определение механизмов антагонистического действия штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

Изучение компонентного состава метаболитов суспензии и экстрактов штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 (экстракты с концентрацией 1 мг/мл) проводили в 6 вариантах (суспензия, водно-спиртовые экстракты в трёх соотношениях (20:80; 50:50; 80:20), метанольный и гексановый экстракты) методами определения оптической плотности, качественных реакций, ТСХ, ВЭЖХ, ГХ и масс-спектрометрии.

2.6.1. Выявление доминирующих веществ метаболитов штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 методом определения оптической плотности

Спектрофотометрическое исследование проводили с целью выявления групп доминирующих веществ метаболитов исследуемых штаммов. Анализ проводили при длине волны 340 нм. В кювету наливали по 2 мл жидкости.

В результате спектрофотометрического анализа всех исследуемых образцов проанализированы показатели оптической плотности (А) (Астафьева и др., 2015).

2.6.2. Установление основных групп веществ метаболитов штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 методом качественных реакций

Определение флавоноидов, алколоидов, гликозидов и сапонинов суспензии и экстрактов бактерий проводили методом качественных реакций (Астафьева и др., 2015).

Флавоноиды изучали реакцией с раствором аммиака: к 1 мл фильтрата добавляли 3-5 капель раствора аммиака. Так, флавоны, флаванолы, флаваноны приобретают желтое окрашивание, при нагревании переходящее в оранжевое или красное; халконы и ауроны – оранжевое или красное; антоцианы - синее или фиолетовое.

Реакцией осаждения Вагнера-Бушарда определяли наличие алкалоидов: в пробирку с 2 мл экстракта добавляли 3-5 капель реактива Вагнера-Бушарда. Кроме того, данную группу веществ исследовали реакцией Марки: к 2 мл экстракта добавляли 3-5 капель реактива Марки (серная кислота + формалин 40%-ный в соотношении 25:1). В результате данных опытов алкалоиды выпадали в бурый осадок.

Гликозиды исследовали реакцией Келлер-Килиани на углеводную часть молекулы следующим образом: готовили 2 раствора - в первую пробирку наливали 1 – 2 мл ледяной уксусной кислоты, во вторую - 1 – 2 мл концентрированной серной кислоты. В первую пробирку добавляли 1 мл исследуемого экстракта. Затем из первой пробирки осторожно по стенке приливали раствор во вторую пробирку. При наличии гликозидов на границе двух слоев появлялось бурое, темно-бурое окрашивание, сверху окрашенной полосы постепенно возникал сине-зеленый или зеленый слой.

Реакцией пенообразования (модификация физического метода) анализировали присутствие сапонинов. Экстракт (водный) встряхивали в пробирке в течение 15 секунд. Не исчезающая в течение 15 минут пена говорит о возможном присутствии сапонинов.

2.6.3. Разделение и определение активных метаболитов штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 методом ТСХ

Аналитическую ТСХ проводили с использованием пластинок ПТСХ-АФ-А-УФ (10x15 см) марки Sorbfil (ООО «ИМИД», Россия) покрытых силикагелем Macherey-Nage. Хроматографирование проводили восходящим методом (Кирхнер, 1981). Для детектирования после хроматографирования применялась камера с кристаллическим йодом и облучение ультрафиолетовым светом.

Пробы наносили на точки, отмеченные карандашом, длиной 5-7 мм при помощи дозатора по 0,1 мл. Расстояние между отдельными пробами составляло не менее 1 см. После этого ждали, когда растворитель испарится, затем пластинку опускали в сосуд, в котором на дне налит слой элюента. При проведении хроматографии время элюирования составило от 15 до 110 минут.

Для хроматографирования использовали 38 систем растворителей (элюирующих систем) с разной степенью полярности: ацетон, бензол, бензол:метанол (1:1), бензол:метанол:уксусная кислота (1:1:1), бутанол, бутанол:уксусная кислота (1:1), бутанол:уксусная кислота:вода (1:1:1), гексан, гексан:этилацетат (1:1), метанол, уксусная кислота, хлороформ, хлороформ:уксусная кислота (9:1), этилацетат, этанол:гексан:этилацетат (1:1:1), этанол:уксусная кислота (1:1), этилацетат:метанол:вода (1:1:1), этилацетат:тетрахлорэтан:вода (1:1:3), этилацетат:метанол (2:1), вода:лимонный натрий:лимонная кислота (2:1:5), бутанол:вода:этанол (4:2:1), бутанол:метанол (1:1),

этанол:вода (4:1), этанол:вода (2:8), этанол:вода (5:5), этанол:вода (8:2), метанол:бензол:хлороформ (4:2:1), хлороформ:этилацетат (1:2), бензол:метанол (3:1), пропанол:этилацетат:вода (5:1:3), хлороформ:метанол (1:1), пропанол:уксусная кислота:вода (3:3:2), ацетонитрил, ацетонитрил:вода (2:2), изопропиловый спирт, этанол:вода (7:3), хлороформ:метанол (9:1), хлороформ:метанол (95:5).

После разделения анализируемой смеси элюирование прекращали и проводили определение вещества в хроматографических зонах. Для этого пластины облучали ультрафиолетовым светом, а затем помещали в камеру с кристаллическим йодом с сорбентом.

По величине R_f проводили идентификацию компонентов, которая равна отношению расстояния от стартовой линии до центра зоны вещества к расстоянию от стартовой линии до линии фронта. Значение R_f – величина постоянная для данного соединения в данной системе и зависит от ряда условий: способа элюирования, качества и активности сорбента, толщины слоя, качества растворителей, количества нанесенного вещества, длины пробега растворителей, положения стартовой линии и почти не зависит от температуры.

2.6.4. Определение активных метаболитов штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 методом ВЭЖХ

Определение органических кислот в водно-спиртовых экстрактах трех исследуемых штаммов проводили методом ВЭЖХ в НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИгенетика с использованием анионообменных колонок и супрессионной системы с кондуктометрическим детектированием. Для определения органических кислот использовали жидкостной хроматограф Waters – Alliance 2695 с диодно-матричным детектором Waters 2996 при длине волны 220 нм.

2.6.5. Газохроматографическое определение активных метаболитов штамма *S. carpaticus* RCAM04697

Качественный и количественный состав низкомолекулярных органических соединений (НОС) суспензии и гексанового, водно-спиртового (50:50), метанольного экстрактов штамма *S. carpaticus* RCAM04697 исследовали методом ГХ/МС на газовом хромато-масс-спектрометре SHIMADZU GCMS-QP2010 Ultra в лаборатории

гидробиологии ФГБУН Института озераедения РАН. Использовали неполярную колонку МТХ-1; 30 м; 0,25 мм; 0,25 мкм. В качестве газа-носителя служил гелий.

Масс-спектры снимали в режиме сканирования по полному диапазону масс (30-1090 m/z) в программированном режиме температур (35° – 3 мин, 2°/мин до 60° – 3 мин, 2°/мин до 80° – 3 мин, 4°/мин до 120° – 3 мин, 5°/мин до 150° – 3 мин, 15°/мин до 240° – 10 мин) с последующей пошаговой обработкой хроматограмм.

Идентификацию выявленных НОС проводили с использованием библиотек масс-спектров «NIST-2014» и «Wiley» (<https://www.nist.gov/news-events/news/2014/07/latest-nist-mass-spectral-library-expanded-coverage-features>; Wiley et al., 2011). Количественный анализ выполняли с использованием декафторбензофенона и бензофенона в качестве внутренних стандартов.

2.7. Оптимизация состава питательных сред на колбах

Оценку продуктивности клеток штаммов RCAM04697, RCAM04882, RCAM04883 осуществляли при культивировании на крахмально-казеиновой среде, среде Гаузе №2, картофельной среде (Гаузе и др., 1983). Режим культивирования: температура плюс 28°C, время 72 часа при непрерывном перемешивании на шейкере (120 об/мин). Концентрацию клеток оценивали путем высева суспензии на аналогичные плотные питательные среды (Звягинцев, 1991; Нетрусов и др., 2005) и определения оптической плотности при длине волны 340 нм (Астафьева и др., 2015).

2.8. Периодическое культивирование штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 в биореакторе с целью получения биомассы и антимикробных метаболитов

Оптимизацию условий культивирования проводили в вихревом биореакторе БИОК-022 с контроллером (ЗАО «Саяны», Россия), имеющим рабочий объем 5 л, с использованием подобранной питательной среды (картофельный отвар). Посевной материал для биореактора получали во встряхиваемых колбах объемом 0,75 л со 100 мл среды. Для засева колб использовали бактериальные суспензии трехсуточных культур *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883, смытые с чашек Петри из расчета начальной оптической плотности в колбах $1 \cdot 10^9$

КОЕ/мл по стандарту мутности МакФарланд. Процесс выращивания культуры в биореакторе вели при соблюдении следующих условий:

- температура культивирования $(28 \pm 1) ^\circ\text{C}$;
- непрерывная работа шейкера при скорости перемешивания 120 об/мин при показателе $p\text{O}_2$ (не ниже 20%);
- давление воздуха в биореакторе 0,04-0,05 МПа;
- удельный расход воздуха в минуту 1,0-1,5 л/л среды.

Отбирали промежуточные и заключительные пробы для микроскопирования мазков, измерения рН, оптической плотности, подсчета концентрации клеток методом предельных разведений.

Из контрольно-измерительных приборов использовали датчики рН и $p\text{O}_2$, спектрофотометр ПЭ-5400В (ООО «ПромЭкоЛаб», Россия), весы лабораторные электронные ВЛТЭ-150 (ФГУП СПб Завод «Госметр», Россия), термометры. Для стерилизации питательной среды и других жидкостей использовали стерилизатор паровой настольный с автоматическим управлением процесса стерилизации ГК-10-2 (ОАО «ТЗМОИ», Россия).

2.9. Методы получения экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

Экспериментальные образцы биопрепаратов для вегетационных испытаний готовили путем добавления в качестве загустителя к трехсуточным суспензиям штаммов (каждый по отдельности) *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 (живые клетки, споры и продукты метаболизма) с титром клеток 10^9 КОЕ/мл карбоксиметилцеллюлозы в количестве 1%.

В результате получали концентрированные экспериментальные образцы биопрепаратов.

2.10. Методики деляночных полевых испытаний экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

Полевые испытания экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 проводили на базе филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по Астраханской области (г. Астрахань) и ИП ГКФХ Умхаджиев Саид Лом-Алиевич (Астраханская область, Енотаевский район, с. Михайловка).

Во всех деляночных полевых испытаниях использовали основные методики и схемы, общепринятые в селекционных и научно-исследовательских учреждениях. Статистическую обработку данных выполняли по Б.А. Доспехову (Доспехов, 1985).

Предшественниками томата и картофеля являлись зерновые культуры. Посев и посадку осуществляли по технологии, рекомендованной для возделывания использованных культур с учетом погодных условий.

2.10.1. Деляночные полевые испытания экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 томате

Полевой опыт на томатах сорта Ажур F1 проводили в пяти вариантах: контроль 1 – без обработок, контроль 2 - с обработкой коммерческим биопрепаратом Лепидоцид СК (эталон), три варианта с обработкой экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883.

Обработку экспериментальными образцами биопрепаратов на основе исследуемых штаммов проводили в утренние часы (расход рабочей жидкости — 300 л/га, норма расхода — 4 л/га). За время проведения испытания проведено 7 обработок.

Испытания проводили в открытом грунте на территории филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по Астраханской области. Предпосевная обработка почвы включала перекопку на глубину 23-25 см. Закладку опыта осуществили методом организованных повторений с разбросным способом их размещения (Доспехов, 1985). Весь период вегетации растения поливали водопроводной водой с помощью капельного орошения.

Перед высевом семена замачивали в чашках Петри по вариантам. Высев проведен 11 марта в специальные рассадные ящики, которые находились в теплице. Температурный режим теплицы характеризовался следующими показателями: среднесуточная температура днем в солнечную погоду составляла 23-29°C, в пасмурную 21-23°C; ночью 17-21°C. Интенсивность естественного освещения в Астраханской области в марте являлась достаточной, поэтому рассада не страдала от недостатка света и дополнительного освещения не требовалось.

Из абиотических факторов существенное влияние на рост и развитие томатов, формирование урожая оказывали погодные условия. Анализ агроклиматических факторов в 2016 году показал, что за период январь – апрель выпало 113,6 мм атмосферной влаги, что на 20,6 мм больше среднегодового значения. В пределах нормы выпали дожди в первой декаде мая. Однако вторая и третья декады месяца характеризовались засухой с суммой осадков 7,4 мм, при норме 22 мм. В целом дефицит атмосферной влаги в мае составил 37,3%, при температуре воздуха на 31,4% выше нормы.

Развитие опытных растений в июне проходило при повышенных температурах и неравномерном выпадении осадков. В первой декаде, когда растения находились в фазе бутонизации, дожди полностью отсутствовали, а среднесуточная температура воздуха на 4,5 °С превышала норму. Практически отсутствовали осадки и в третьей декаде июня. Но, во второй декаде их выпало в 3,2 раза больше нормы. Период цветения и образования плодов в июле проходил также при дефиците атмосферной влаги, причем количество выпавших осадков равнялось только 5,4 мм при среднегодовом значении 47 мм. Ход среднесуточных температур составил 20,3 °С. Вегетация растений в августе продолжалась в условиях недостатка влаги, который составил 20 мм или 45,5%. При норме осадков 44 мм выпало только 24 мм.

В целом за вегетационный период (май-сентябрь) в зоне нахождения опытного участка выпало 94,3 мм осадков при норме 163 мм или 57,8%. Дефицит увлажнения равнялся 68,7 мм или 42,2%.

Рассаду выращивали в полных горшочках объемом - 0,3 л одного диаметра из пластмассы. На дне горшочков располагались отверстия для улучшения водновоздушного режима в корнеобитаемом слое. Полив рассады проводился вручную.

Вторая обработка, при которой корневую систему рассады погружали в экспериментальные образцы биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 с титром клеток 10^9 КОЕ/мл проведена перед высадкой в открытый грунт на стадии 4-6 настоящих листьев. В контроле 1 растения погружали в водопроводную воду, в контроле 2 – в раствор препарата Лепидоцида на 20 минут.

Третья и четвертая обработки проведены на стадии активного роста растений в виде пролива под корень экспериментальными образцами биопрепаратов. В опытных вариантах и контроле 2 (эталон) пролив проведен 6 мая и 24 июня.

Обработку растений методом опрыскивания экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 в опытных вариантах и биопрепаратом Лепидоцид в варианте - контроль 2 (эталон) осуществляли 18 мая (пятая обработка), 29 июня (шестая обработка) и 6 июля (седьмая обработка).

2.10.2. Деляночные полевые испытания экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 на картофеле

Полевой опыт на картофеле (*Solanum tuberosum*) сорта Ред Скарлетт представлен двумя вариантами: 1) обработка картофеля экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697; 2) контрольный участок без обработок.

Обработку экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 проводили в утренние часы (расход рабочей жидкости — 300 л/га, норма расхода — 4 л/га). За время проведения испытания проведено 3 обработки с промежутком 10 дней.

Анализ агроклиматических факторов в 2017 году за вегетационный период проведения испытаний показал, что апрель характеризовался неустойчивым температурным фоном, отличался поздними заморозками, сильными ветрами, обильными осадками. За декаду выпало от 0,3 до 24 мм, 3-426% от нормы.

В мае средние месячные температуры воздуха оказались близки к средним многолетним значениям (16,6-18,4⁰С). Осадки выпадали редко, за месяц на территории области выпало от 7 до 67 мм, 28-279% от нормы. У картофеля, в зависимости от сроков посадки, наблюдали образование боковых побегов, отмечали появление соцветий,

цветение. Почва на глубине 10 см прогревалась до 19-23⁰С. Влагообеспеченность, благодаря своевременным поливам, оставалась хорошей. В полуметровом слое почвы содержалось от 90 до 160 мм продуктивной влаги, что благоприятствовало клубнеобразованию.

В июне максимальные температуры воздуха повышались в последние дни месяца до 35-38⁰С. Минимальные температуры в воздухе и на поверхности почвы в первой декаде июня понижались до 4-9⁰С. За месяц выпало от 11 до 88 мм (41-352% от нормы). На посадках картофеля продолжался рост клубней и сбор урожая. Условия для роста клубней складывались преимущественно удовлетворительные. В почве благодаря проводимым на опытном участке поливам содержалось достаточное количество влаги. Почва на глубине 10 см в последние дни прогревалась до 30⁰С и выше.

В июле преобладал повышенный температурный фон, отмечался значительный недобор осадков (1-17 мм, 7-72% от нормы). Средние месячные температуры воздуха составили 26,4-27,1⁰С и оказались выше средних многолетних значений на 1,2-2,2⁰С. Запасы продуктивной влаги в полуметровом слое почвы на посадках картофеля составляли около 80 мм.

Август характеризовался засушливой погодой. За месяц с температурой 30⁰С и выше отмечено 27-30 дней. Минимальные температуры в воздухе понижались до 12-15⁰С, на поверхности почвы до 12-14⁰С. Осадки в большинстве дней августа не выпадали. В сентябре средние месячные температуры воздуха являлись выше средних многолетних значений на 2,1-2,9⁰С, а количество осадков составило 10-26 мм, 48-113% от нормы.

Испытания включали три обработки: первая и третья заключались в проливе под корень экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* РСАМ04697, вторая проведена с помощью ранцевого опрыскивателя. Агротехнические мероприятия, которые проводились на участке, являлись общепринятыми для зоны нижнего Поволжья.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Поиск новых штаммов актиномицетов с фитостимулирующей активностью

3.1.1. Изучение актиномицетов в засоленных почвах

Астраханская область является районом пустынно-степного типа почвообразования, характеризующимся малым количеством атмосферных осадков, низкой влажностью воздуха и высоким испарением.

Характерной чертой почвенного покрова области является его комплексность, связанная с развитым микрорельефом, где незначительные различия в перераспределении осадков оказывают существенное влияние на растительный покров, солевой режим почв и процесс гумификации. Почвы представлены в северных районах зональными светло-каштановыми, в более южных районах - бурыми полупустынными, в Волго-Ахтубинской пойме, дельте и подстепных ильменах – пойменными. Интразональные солонцы и солончаки встречаются повсеместно среди всех типов почв.

Главным критерием образования почв области является засушливый климат и разреженный характер растительности (Норовсурэн и др., 2007; Зенова и др., 2011). Важнейшим экологическим фактором является засоление почв. В Астраханском регионе к засоленным относят почвы, содержащие в каком-либо горизонте более 0,25% водорастворимых солей от общего веса сухого остатка. При таком показателе в Волго-Ахтубинской пойме около 17% почв, в дельте – почти 50%.

Засоление данных типов почв в условиях засушливого климата определяется повышающимися водными стоками, которые в дельте р. Волга приводят к вымыванию кристаллов солей из почвенного горизонта лугов небольшого уровня залегания, а также низко залегающими сильно засоленными материнскими породами (Ковда, 1973; Коринец, 2009; Новикова, 2009; Косолапов и др., 2013).

Солончаки и солонцы — своеобразные природные экосистемы, в которых высокие концентрации солей и недостаток влаги создают специфические условия для существования живых организмов. Данные факторы обуславливают снижение интенсивности биологического круговорота и низкое таксономическое разнообразие живых организмов. Сильное засоление этих почв способствует формированию специфических микробных сообществ с доминированием актиномицетов (Соболевская и др., 2004). В настоящее время детально исследованы климатический и водный

режимы, миграция химических элементов, растительность и почвы солончаков. Однако микробиоценоз солончаков и солонцов остается слабо изученным.

Микробиологические исследования почвенных экосистем проводили на территории Астраханской области. Отобраны 23 образца аллювиальной луговой, бурой полупустынной, аллювиальной дерновой и светло-каштановой почв.

В результате анализа величины сухого остатка установлено, что исследуемые почвы характеризуются степенью засоления от слабозасоленной до очень сильнозасоленной. Среднее содержание плотного (сухого) остатка в исследуемых почвах колебалось от 0,3% до 2,9%. Все образцы почв слабощелочные, величина pH находилась в пределах от 7,1 до 7,8 (Григорян и др., 2018).

Очень сильнозасоленными явились почвенные образцы №8, №9, №6, №11, №13, в которых величина сухого остатка составила от 2,3% до 2,9%. Самые низкие показатели степени засоления обнаружены в образцах почв №2, №12, №14, №19, №5, №16, №10, величина сухого остатка в них не превышала 0,3%. Максимальная величина сухого остатка 2,9% определена в почвенном образце №13 (Красный Яр, с. Забузан) (табл. 1).

Рассматривая численность трофических категорий, в которые вошли такие организмы, как амилолитические и сахаролитические, олигонитрофилы, сапротрофы, олиготрофы, можно сказать, что перечисленные микроорганизмы содержатся в изучаемых почвах в количестве 10^6 - 10^7 КОЕ/г. Среди них выявлены различные бактерии, включая актиномицеты (Григорян и др., 2018)

Таблица 1 - Характеристика исследуемых почвенных образцов по степени засоления

Тип почвы	№ почвенного образца	Место отбора	Величина рН	Засоленность почвы	
				Величина сухого остатка водной вытяжки, %	Степень засоления
Аллювиальная луговая	1	г. Астрахань, Ленинский р-н	7,4	1,3	сильнозасоленная
	3	Харабалинский р-н, с. Тамбовка	7,3	1,4	сильнозасоленная
	20	Камызякский р-н, п. Хмелевка	7,5	1,1	сильнозасоленная
	18	Лиманский р-н	7,8	1,4	сильнозасоленная
Бурая полупустынная	2	Приволжский р-н, пос. Новоначаловский	7,5	0,3	слабозасоленная
	4	г. Астрахань, Трусовский р-н	7,3	0,4	слабозасоленная
	7	Приволжский р-н, с. Яксатово	7,5	1,6	сильнозасоленная
	8	Приволжский р-н, Ч/с 1, 2й проезд Рождественского	7,4	2,3	очень сильно засоленная
	11	Наримановский р-н, ул. Магистральная/Строительная	7,8	2,4	очень сильно засоленная
	12	г. Астрахань, Ленинский р-он, пос. Мошаик	7,2	0,3	слабозасоленная
	14	Енотавский р-н, с. Пришиб	7,3	0,3	слабозасоленная
	17	Приволжский р-н, с. Началово,	7,6	2,0	сильнозасоленная
	19	Приволжский р-н, Ч/с 2, с. Яксатово	7,3	0,3	слабозасоленная
	22	Кировский р-н, Началовское шоссе	7,7	1,2	сильнозасоленная
Аллювиальная дерновая	5	Красноярский р-н, с. Сеитовка	7,1	0,3	слабозасоленная
	6	Икрянинский р-н, пос. Красные Баррикады	7,6	2,8	очень сильно засоленная
	9	г. Астрахань, Советский р-н	7,5	2,6	очень сильно засоленная
	13	Красный Яр, с. Забузан	7,6	2,9	очень сильно засоленная
	15	г. Астрахань, Кировский р-н	7,2	0,4	слабозасоленная
	16	Володарский р-н, с. Диановка	7,4	0,3	слабозасоленная
	21	Володарский р-н, с. Крутое	7,5	1,4	сильнозасоленная
Светло-каштановая	10	Черноярский р-н 2 км от села Зубовка	7,2	0,3	слабозасоленная
	23	Ахтубинский р-н, г. Ахтубинск	7,5	1,1	сильнозасоленная

Изучение качественного состава микроорганизмов в почвах показало большое его разнообразие. Из физиологических групп обнаружены гетеротрофы, включающие микроорганизмы, способные усваивать высокие (сапротрофы) и низкие (олиготрофы) концентрации органических веществ. Среди них выделены микроскопические грибы, бактерии, в том числе, актиномицеты.

Сравнительная характеристика количественного состава микроорганизмов, полученная в результате посева почвенных разведений на твердые питательные среды, свидетельствует о том, что максимальная численность микроорганизмов наблюдалась на крахмально-казеиновой среде ($2,0 \cdot 10^6$ – $22,0 \cdot 10^6$ КОЕ/г почвы), которая на порядок превышала численность микроорганизмов, выделенных на других питательных средах. Необходимо отметить, что максимальное и минимальное количество микроорганизмов на данной среде обнаружено в образцах бурой полупустынной почвы. Установлено, что число микроорганизмов, выделенных на других питательных средах (ГРМ-агар, среда Эшби, «Голодный» агар, среда Чапека, среда Гаузе №2, агар крахмально-аммиачный, агар глицерин-аргининовый, агар глицерин-нитратный) находилось в пределах одного порядка и варьировало от $0,3 \cdot 10^6$ до $9,9 \cdot 10^6$ КОЕ/г почвы (табл. 2).

В исследуемых почвенных образцах обнаружены сапротрофные микроорганизмы ($2,2 \cdot 10^6$ КОЕ/г – $4,8 \cdot 10^6$ КОЕ/г почвы), участвующие в деструкции органических веществ в почве. Численность олиготрофных микроорганизмов составила от $1,1 \cdot 10^6$ КОЕ/г до $4,5 \cdot 10^6$ КОЕ/г почвы (Григорян и др., 2018).

Таблица 2 - Количественный учет микроорганизмов в исследуемых почвах

Тип почвы	№ почвенного образца	Количество микроорганизмов, выделенных на питательных средах, КОЕ/г почвы								
		ГРМ-агар (10 ⁶)	Среда Эшби (10 ⁶)	Агар голодный (10 ⁶)	Среда Чапека (10 ⁶)	Среда Гаузе №2 (10 ⁶)	Среда крахмально-казеиновая (10 ⁶)	Агар крахмально-аммиачный (10 ⁶)	Агар глицерин-аргининовый (10 ⁶)	Агар глицерин-нитратный (10 ⁶)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Аллювиальная луговая	1	3,8	1,9	2,5	0,6	4,2	4,0	6,8	5,6	7,2
	3	2,2	2,5	2,6	0,4	3,2	3,0	5,9	4,9	6,6
	20	3,7	3,1	1,1	2,2	3,9	10,0	5,3	5,4	8,6
	18	3,2	6,1	4,5	4,5	3,4	4,0	7,5	9,4	8,6
Бурая полупустынная	2	3,0	2,1	1,3	0,4	2,5	2,0	4,1	5,0	5,9
	4	2,7	1,5	1,5	0,3	3,5	3,0	6,2	6,0	3,9
	7	2,9	2,2	2,6	0,4	2,5	3,0	5,5	5,7	4,6
	8	2,8	2,7	2,3	0,4	3,5	3,0	5,7	6,2	5,7
	9	3,5	4,9	1,5	3,8	5,0	8,0	9,5	9,3	9,5
	12	2,8	1,2	1,5	4,2	2,5	7,0	3,2	6,2	7,3
	14	3,2	3,6	2,2	5,2	3,0	4,0	3,5	4,8	4,9
	17	2,5	3,2	1,7	1,9	2,9	9,0	6,5	7,5	5,9
	19	3,5	2,5	2,3	4,2	4,1	3,0	4,9	5,0	5,5
22	4,5	6,5	1,5	4,6	3,5	10,0	8,6	9,3	8,9	
Аллювиальная дерновая	5	3,2	3,5	2,7	0,7	4,2	7,0	9,4	9,0	8,2
	6	3,1	4,1	3,0	0,5	4,1	22,0	8,5	8,8	8,4
	11	3,3	3,2	2,5	3,5	4,5	10,0	8,4	8,7	9,5
	13	3,0	2,4	1,6	6,2	3,5	7,0	4,1	4,4	7,2
	15	3,3	5,7	3,1	2,8	2,8	9,0	9,5	8,6	9,6
	16	2,9	2,0	2,0	2,6	4,3	4,0	4,7	5,2	6,9
	21	3,2	3,4	2,2	2,5	2,2	4,0	2,1	5,7	7,2
Светло-каштановая	10	3,8	5,3	2,3	2,8	4,8	9,0	9,9	9,6	8,7
	23	4,8	7,0	1,7	5,2	2,5	9,0	9,4	8,4	9,0

Несмотря на то, что образцы почв №18 (аллювиальная луговая), №22 (бурая полупустынная), №23 (светло-каштановая) являются сильнозасоленными, численность азотфиксирующей и сахаролитической микрофлоры в них оказалась самой высокой. Количество аборигенной олиготрофной микрофлоры наибольшее в образце №18 и составило $4,5 \cdot 10^6$ КОЕ/г почвы.

Анализ общей численности физиологических групп показывает, что во всех образцах почв доминируют актиномицеты, но в образцах почв №5, №6, №9, №10, №11, №12, №15, №18, №22, №23 их количество наибольшее ($2,0 \cdot 10^6$ КОЕ/г – $22,0 \cdot 10^6$

КОЕ/г). Высокий титр актиномицетов, возможно, связан с доминированием спор, а не мицелия.

Микроскопическое исследование полученных колоний показало присутствие различных морфотипов клеток: палочки, кокки, а также склонные к полиморфизму клетки. На ГРМ-агаре доминируют грамположительные спорообразующие и грамотрицательные палочки. Олигонитрофильная микрофлора на среде Эшби характеризовалась грамотрицательными и грамположительными палочками и полиморфными клетками. На голодном агаре обнаружены грамположительные мелкие полиморфные формы. На среде Чапека выявлены микромицеты родов *Alternaria*, *Aspergillus* и *Fusarium*. Выявлено, что относительное число грибов в почве уменьшалось при одновременном увеличении их видового состава. Амилолитические микроорганизмы представлены грамположительными актиномицеподобными формами, часть из которых принадлежала к стрептомицетам.

В результате выделен 21 изолят актиномицетов. Следует отметить, что результатами проведенных анализов подтверждается, что типичные формы актиномицетов, относящиеся к аэробам и образующие мицелий, широко распространены в почвах Астраханской области. Установлено, что наибольшее многообразие и распространение почвенных комплексов *Streptomyces* встречается в образцах почв с повышенной степенью засоления (№5, №6, №9, №11, №18, №22, №23) (Методические указания..., 2003; Григорян и др., 2018). В образце с сильнозасоленной почвой №6 на крахмально-казеиновой среде выявлено максимальное количество актиномицетов $22,0 \cdot 10^6$ КОЕ/г. В результате проведения корреляционно-регрессионного анализа установлена взаимосвязь между числом выделенных штаммов актиномицетов и степенью засоленности почвы с коэффициентом корреляции $r=0,5379$ (рис. 1).

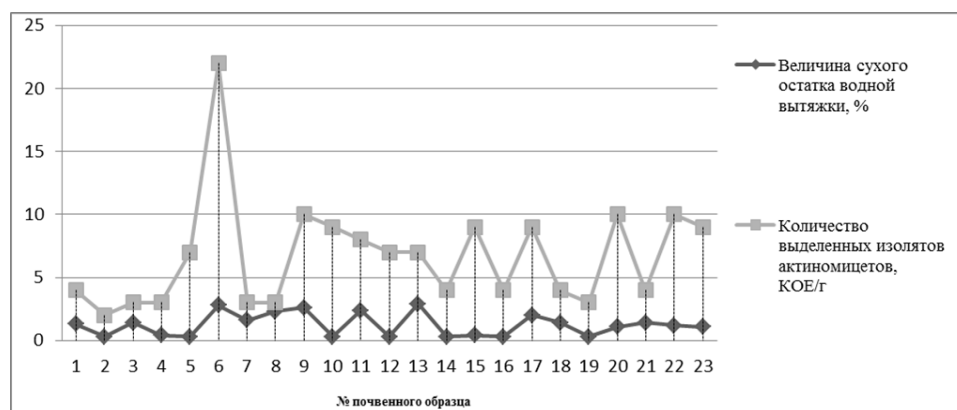


Рисунок 1 - Зависимость числа выделенных изолятов актиномицетов от степени засоленности почвы

Установлено, что в специфичных почвенно-экологических условиях региона, характеризующихся высокими концентрациями солей и недостатком влаги, одними из наиболее распространенных почвенных микроорганизмов являются актиномицеты, в том числе стрептомицеты. Наибольшее многообразие и распространение почвенных комплексов актиномицетов ($2,0 \cdot 10^6$ КОЕ/г – $22,0 \cdot 10^6$ КОЕ/г) встречается в образцах почв с повышенной степенью засоления (№6, №9, №11, №18, №22, №23).

В результате исследования качественного состава эколого-трофических групп микроорганизмов выделен 21 изолят актиномицетов, в составе которых присутствуют стрептомицеты.

3.1.2. Исследование фитотоксичности и фитостимулирующей активности выделенных изолятов актиномицетов

В связи с тем, что в процессе жизнедеятельности актиномицетов в окружающую среду вырабатывается комплекс вторичных метаболитов, оказывающих влияние на другие организмы, возникла необходимость оценить его фитотоксическое и фитостимулирующее действие на томаты. Семена томатов сорта Новичок обрабатывали суспензией всех полученных изолятов актиномицетов (ГОСТ 12038-84). На 4-е сутки культивирования установлено прорастание семян томатов в контрольных и опытных вариантах (Григорян и др., 2018). На 14 сутки экспозиции наибольшая всхожесть наблюдалась при обработке семян суспензией изолятов актиномицетов №2 (76,7%), №3 (68,3%), №10 (70,0%), №11 (71,7%), №18 (75,0%) (табл. 3).

Таблица 3 - Влияние актиномицетов на всхожесть семян томата сорта Новичок

№ изолята	Среднее количество проросших семян, %	
	через 7 суток	через 14 суток
1	11,7±1,7	31,7±3,3
2	48,3±1,7	76,7±1,7
3	19,7±2,5	54,3±1,6*
4	13,3±1,7	47,4±9,7
5	6,7±1,7	45,0±2,7
6	15,7±3,4	47,8±5,0
7	15,0±2,9	51,7±1,7
8	3,0±2,9	16,7±1,7
9	0,3±0,5	27,2±9,4
10	6,8±2,9	49,0±5,0
11	40,0±5,0	71,7±6,0
12	0,7±0,3	22,3±8,6
13	8,3 ±1,7	21,7±1,7
14	1,0±0,6	11,7±1,7
15	11,7±3,3	18,3±1,7
16	5,0±2,9	47,4±9,7

17	10,3±0,3	21,7±1,7
18	38,3±3,3*	75,0±2,9
19	4,7±0,3	13,3±4,4
20	1,3±0,7	13,3±1,7
21	12,1±2,2	28,5±3,1
Контроль №1	21,7±1,7	65,0±2,9
Контроль №2	18,3±3,3	58,3±6,0

Примечание: * - различия с контролем достоверны при $p \leq 0,05$

На 14-е сутки экспозиции наибольшая всхожесть наблюдалась при обработке семян суспензиями тех же изолятов бактерий №2 (76,7%), №11 (71,7%), №18 (75,0%) (Григорян и др., 2018). Анализ полученных данных свидетельствует о том, что токсическое действие на томат наблюдалось в вариантах опыта с изолятами №8, №12, №14, №17, №19, полученных из бурых полупустынных почв, с изолятами №9, №13, 15, 21 – из аллювиальных дерновых почв, с изолятом №20 - из аллювиальной луговой.

Популяция клеток актиномицетов может приспосабливаться к различным условиям среды, меняя свои биохимические свойства (Федоров и др., 1974; Анисимова О.С., 2008). По нашему мнению, реакцией актиномицетов на агрессивные факторы существования, такие как засушливый климат и высокая соленость почв, является физиологическая перестройка биохимического состава, которая может быть обусловлена продуцированием токсинов. Следовательно, в данных почвах создаются токсичные условия для развития растений, а актиномицеты играют одну из ключевых ролей в увеличении токсичности. Биометрические показатели растений томата определяли на 21-е сутки эксперимента. Наиболее высокие биометрические показатели растений - биомасса (15,3-17,0 мг), длина корня (3,7-5,0 см), длина стебля (2,0-2,7 см) выявлены в вариантах с изолятами актиномицетов: №2, №11, №18 (Григорян и др., 2020).

Изолят №11 выделен из бурых полупустынных почв с очень сильной степенью засоления в Наримановском районе Астраханской области. Изолят №2 выделен из бурой полупустынной почвы со слабой степенью засоления в поселке Новоначаловский Приволжского района Астраханской области. Изолят №18 выделен из аллювиальной луговой почвы с сильной степенью засоления в Лиманском районе Астраханской области. Изолят №10 получен из светло-каштановой почвы со слабой степенью засоления в Приволжском районе Астраханской области. Изолят №3 получен из аллювиальной луговой почвы с сильной степенью засоления в Харабалинском районе с. Тамбовка.

3.1.3. Заключение по разделу 3.1.

Из 23 образцов аллювиальной луговой, бурой полупустынной, аллювиальной дерновой и светло-каштановой почв различной степени засоления (величина сухого остатка от 0,3% до 2,9%) выделен 21 изолят актиномицетов. Данные бактерии исследованы на фитотоксичность на растениях томата Новичок. В результате выбраны 3 изолята (№2, №11, №18), проявивших высокую фитостимулирующую активность.

3.2. Исследование культурально-морфологических, биохимических и генетических свойств штаммов

Изолят №11 характеризовался образованием круглых колоний с вишнево-красным мицелием субстрата и коричневым воздушным мицелием с черным рассеянным пигментом на картофельном агаре.

По красному и фиолетовому цвету субстратного мицелия на минеральном агаре 1 исследуемые бактерии отнесены к серии *Violaceus* (Гаузе и др., 1983). К данной серии принадлежат стрептомицеты, образующие на минеральном агаре 1 воздушный мицелий серого цвета с различными оттенками, а субстратный мицелий – красного, фиолетового или синего цвета с различными оттенками. Окраска субстратного мицелия обусловлена образованием разных пигментов. Многие пигменты обладают антибиотическими свойствами и принадлежат к различным группам химических соединений – гризеородина-рубромидина, целикомицина-актинородина, антрациклинов, продигиозинов, литмодицина-гранатицина. Виды данной серии образуют прямые и спиральные цепочки спор; поверхность спор гладкая бородавчатая или покрыта шипами или волосками.

Таким образом, исследуемый изолят №11 идентифицирован, как *S. prunicolor* (Гаузе и др., 1983). Он характеризуется следующей морфологией: цепочки спор прямые, извитые, длинные; споры гладкие. На минеральном агаре 1 и овсяном агаре воздушный мицелий розовато-серый, серовато-розовый; субстратный мицелий фиолетовый, черно-фиолетовый; растворимый пигмент отсутствует. На глицерин-нитратном агаре воздушный мицелий серовато-розовый; субстратный мицелий темно-красновато-фиолетовый, темно-фиолетовый, черно-фиолетовый; растворимый пигмент отсутствует. На органическом агаре 2 воздушный мицелий белый до розоватого; субстратный мицелий темно-фиолетовый, буровато-фиолетовый; растворимый пигмент отсутствует.

или буроватый. Меланоидные пигменты не образуются. Антибиотик, который характерен для данного штамма – гризеородин.

Согласно определителю бактерий Берджи (Хоулт др., 1997) исследуемые бактерии отнесены к группе основной категории II (грамположительные эубактерии, имеющие клеточные стенки). Стрептомицеты и близкие роды (группа 25) по определителю Берджи (Хоулт др., 1997) – гетерогенная группа, для всех таксонов которой характерны клеточные стенки, содержащие глицин. Нити не распадаются на фрагменты и могут образовывать обильный воздушный мицелий с длинными цепочками спор (р. *Streptomyces*). На воздушном и вегетативном мицелии образуют склероции, короткие цепочки крупных конидий.

С помощью метода секвенирования установлено, что фрагмент *rrs* гена изолята №11 имеет уровень сходства 100% с аналогичным фрагментом типового штамма *S. carpaticus* K-11, что позволяет отнести изучаемый изолят к данному виду (Yan et al., 2018). Изолят идентифицирован, как *Streptomyces carpaticus* RCAM04697 (рис. 2).

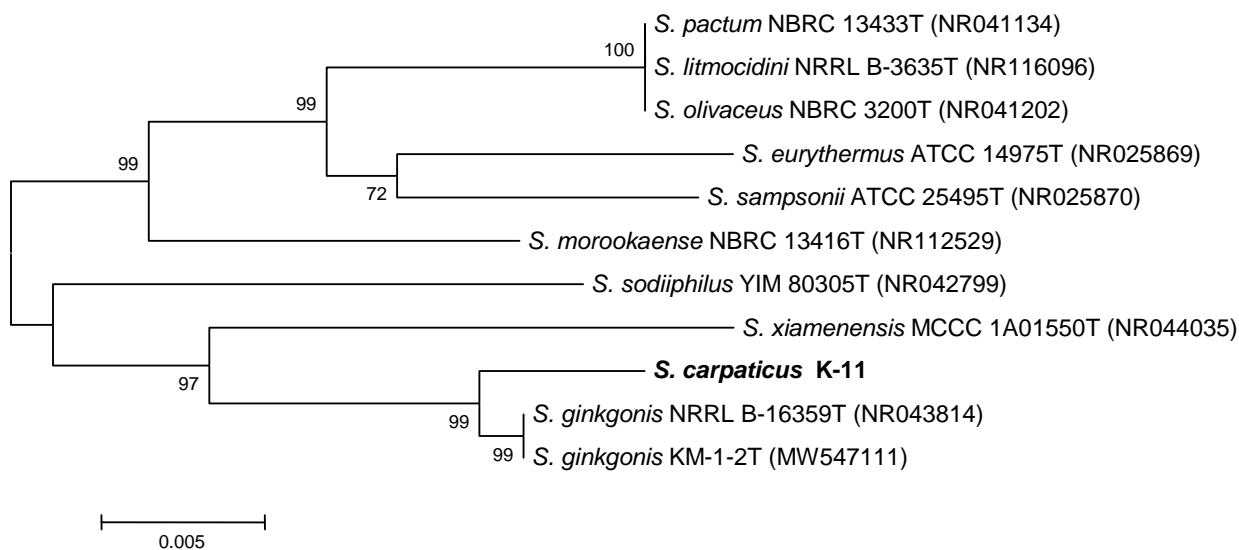
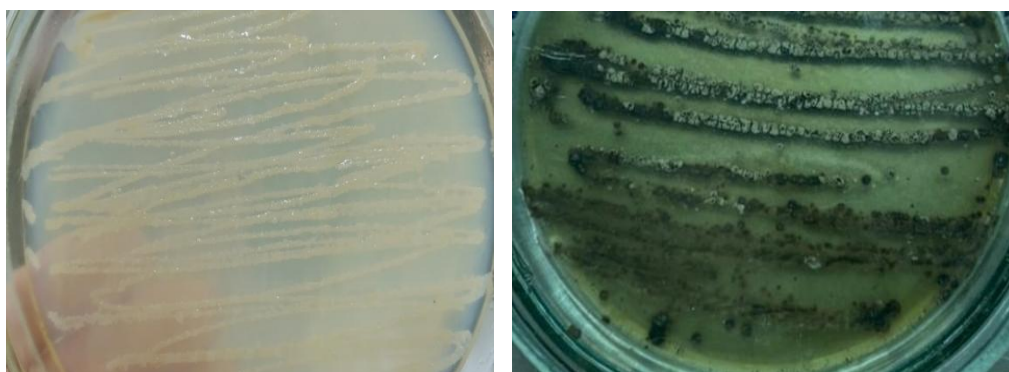


Рисунок 2 - *Rrs*-филограмма, отражающая таксономическое положение изолята №11 в пределах рода *Streptomyces**

Примечание: * Указаны уровни поддержки кластеров более 30%

Rrs-дендрограммы демонстрируют таксономическое положение изучаемого изолята в пределах рода *Streptomyces*. Штамм *S. carpaticus* RCAM04697 сформировал единый кластер с типовым штаммом *S. ginkgonis* KM-1-2T при высоком уровне поддержки 99% (рис. 3).



А

Б

Рисунок 3 – Штамм *S. carpaticus* RCAM04882 на картофельном агаре: А – 7-е сутки культивирования; Б – 14-е сутки культивирования (ориг., 2021)

Штамм *S. carpaticus* RCAM04697 (приложение 1) выделен 10.10.2013г. из бурой полупустынной почвы с очень сильной степенью засоления в Наримановском районе Астраханской области (ул. Магистральная/Строительная, на 2-ой линии ул. Магистральная) (Григорян и др., 2018) (рис. 4).

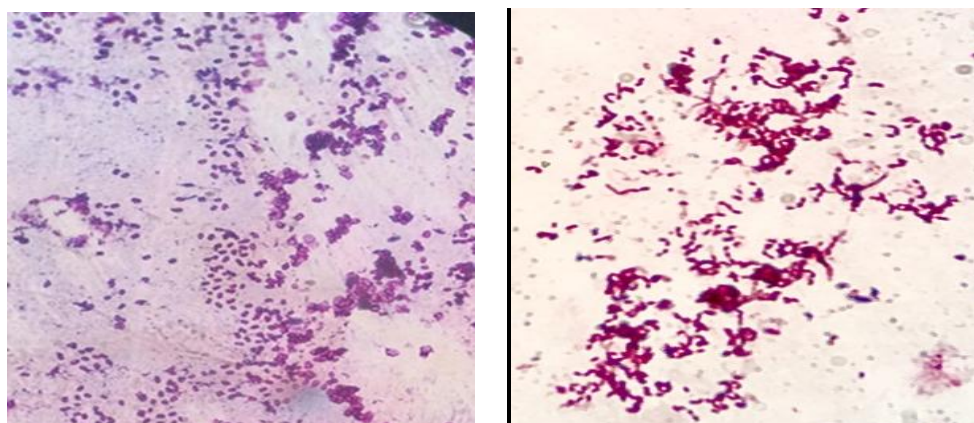


Рисунок 4 - Морфологические признаки штамма *S. carpaticus* RCAM04697 (ориг., 2018)

По данным А.И. Нетрусова с соавторами (2006) штамм *S. carpaticus* систематизируется следующим образом: домен - *Bacteria*; филум B14 - *Actinobacteria*; спороактиномицеты - стрептомицеты и родственные роды. Филум B14 *Actinobacteria* объединяет грамположительные бактерии, содержит один класс с тем же названием, включающий пять подклассов и десять подпорядков. Бактерии рода *Streptomyces* являются продуцентами важнейших антибиотиков.

В авторском патенте описан штамм *S. carpaticus* RCAM04697, характеризующийся следующими культурально-морфологическими признаками (Григорян и др., 2019): спораносцы прямые или извилистые, короткие; споры овальные и шаровидные с гладкой оболочкой, размером $0,7-1,0 \times 1,0-1,1$ мкм; на крахмально-

казеиновой среде колонии округлые, уплощенные, слабоскладчатые, с мучнистой поверхностью (d=4 мм); воздушный мицелий темно-коричневый; субстратный мицелий вишнево-красный; пигмент на среду не влияет; на сусло-агаре колонии мелкие (d=1,5 мм), округлые; воздушный мицелий светло-коричневый, субстратный мицелий желто-бурый; среда не окрашена; на картофельном агаре колонии округлые, уплощенные (d=5 мм); воздушный мицелий светло-серый, субстратный мицелий темно-коричневый; меланоидные растворимые пигменты отсутствуют; оптимальное значение pH 7,0-7,1. Данный штамм не нуждается в факторах роста, стабилен и не является генетически модифицированным (Григорян и др., 2019).

Согласно литературным источникам штамм имеет следующее систематическое положение (Verslyppe et al., 2014): порядок – *Streptomycetales*, подотряд – *Streptomycineae*, семейство – *Streptomycetaceae*, род – *Streptomyces*, вид – *S. carpaticus*, полное научное название – *S. carpaticus* Maximova and Terekhova, 1986.

Культурально-морфологическими особенностями изолята №2 являлось образование круглых колоний с желтым мицелием субстрата и пепельно-серым воздушным мицелием на картофельном агаре. Изолят №18 развивался на данном агаре, образуя круглые колонии с белым мицелием субстрата и бледно-розовым воздушным мицелием (Григорян и др., 2020). Согласно определителю бактерий Берджи (Хоулт др., 1997) исследуемые бактерии относятся к группе основной категории II (грамположительные эубактерии, имеющие клеточные стенки) (Хоулт др., 1997).

Актиномицеты группы *Thermomonospora* и близкие роды (группа 27) по определителю Берджи (Хоулт др., 1997) характеризуются тем, что их нити не распадаются на фрагменты и образуют воздушный мицелий со спорами, расположенными в цепочках (р. *Nocardiosis*). Данные аэробные спорообразующие актиномицеты образуют разветвленный вегетативный мицелий, несущий воздушные гифы. Исследуемые бактерии хемоорганотрофы. Клеточная стенка содержит мезо-диаминопимелиновую кислоту, характерные сахара или другие аминокислоты в ее составе отсутствуют.

Бактериям рода *Nocardiosis* характерен хорошо развитый субстратный мицелий, длинные и густоразветвленные гифы, может происходить фрагментация на кокковидные и палочковидные элементы. Воздушный мицелий, как правило, хорошо развитый и обильный, воздушные гифы полностью распадаются на споры различной длины. Растут

при температуре 10-45⁰С. В качестве источников углерода и энергии могут использовать различные соединения. По данным А.И. Нетрусова с соавторами (2006) данные бактерии имеют следующее систематическое положение: домен – *Bacteria*, филум B14 – *Actinobacteria*, спороактиномицеты - нокардиоформы. Нокардиоформы – это грамположительные, морфологически различные организмы – прямые и изогнутые палочки. Некоторые роды могут образовывать воздушный мицелий и цепочки артростор. Большинство – свободноживущие сапротрофы, обитатели почв.

С помощью метода секвенирования установлено, что изоляты №2 и №18 наиболее близки к типовому штамму *N. umidischolae* NBRC 100349T (99,84% и 99,82%, соответственно) и идентифицированы, как *Nocardiosis umidischolae* RCAM04882 и *Nocardiosis umidischolae* RCAM04883, соответственно (рис. 5).

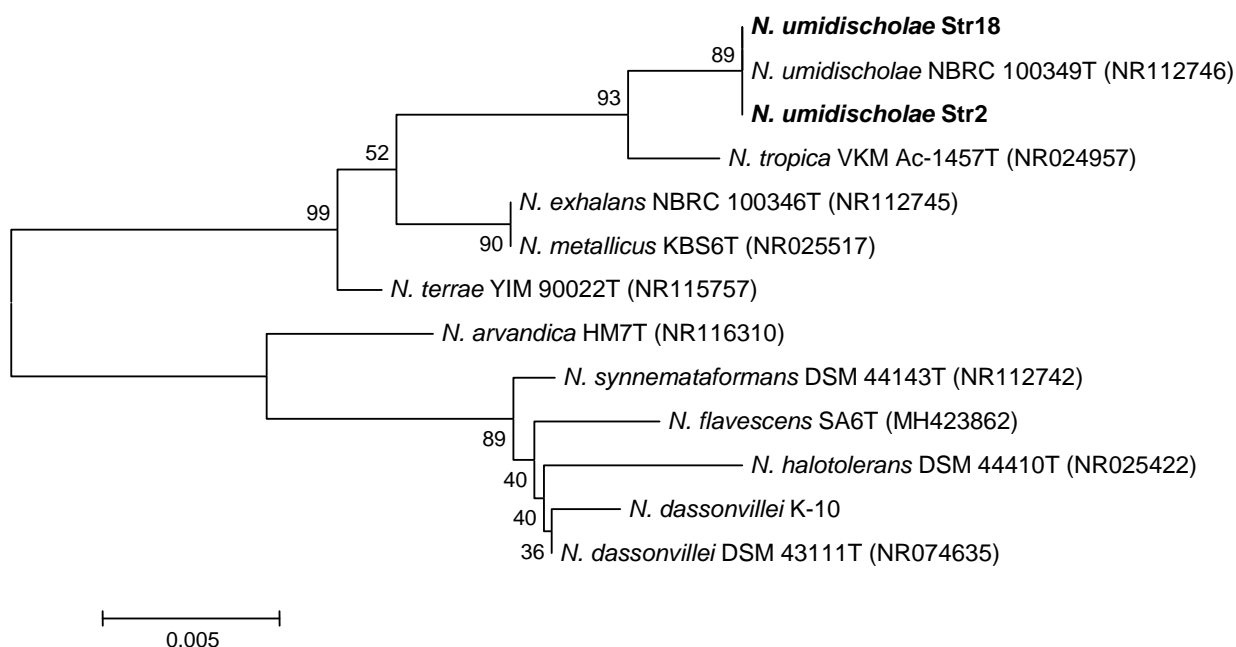
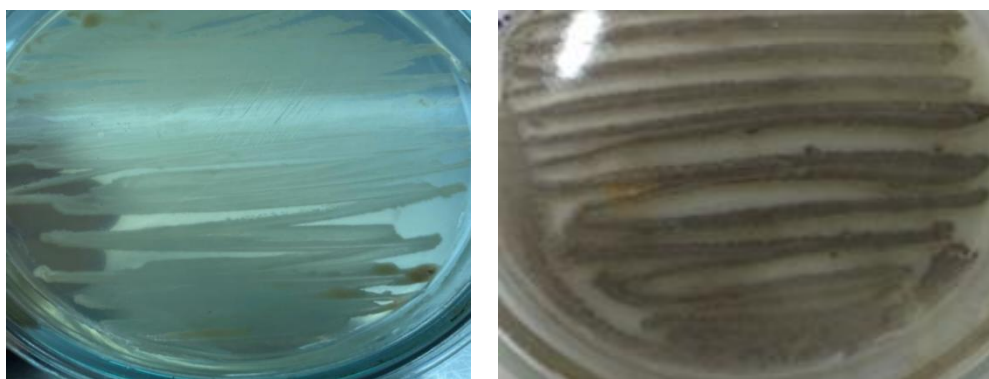


Рисунок 5 - *Rrs*-филограмма, отражающая таксономическое положение изолятов №2 и №18 в пределах рода *Nocardiosis**

Примечание: * Указаны уровни поддержки кластеров более 30%

Rrs-дендрограммы демонстрируют таксономическое положение изучаемых бактерий в пределах рода *Nocardiosis*. Согласно литературным источникам штаммы *N. umidischolae* RCAM04882 (рис. 6, 7), *N. umidischolae* RCAM04883 имеют следующее систематическое положение (Peltola et al., 2001): подкласс – *Actinobacteridae*, порядок – *Actinomycetales*, семейство – *Nocardiosaceae*, вид - *N. umidischolae*, полное научное название – *N. umidischolae* Peltola et al., 2002.



А

Б

Рисунок 6 – Штамм *N. umidischolae* RCAM04882 на картофельном агаре: А – 7-е сутки культивирования; Б – 14-е сутки культивирования (ориг., 2021)



А

Б

Рисунок 7 – Штамм *N. umidischolae* RCAM04883 на картофельном агаре: А – 7-е сутки культивирования; Б – 14-е сутки культивирования (ориг., 2021)

Штамм *N. umidischolae* RCAM04882 (приложение 2) выделен 04.11.2013г. из бурой полупустынной почвы со слабой степенью засоления в поселке Новоначаловский Приволжского района Астраханской области (в 250 метрах от трассы Началовское шоссе) (Григорян и др., 2018) (рис. 8).

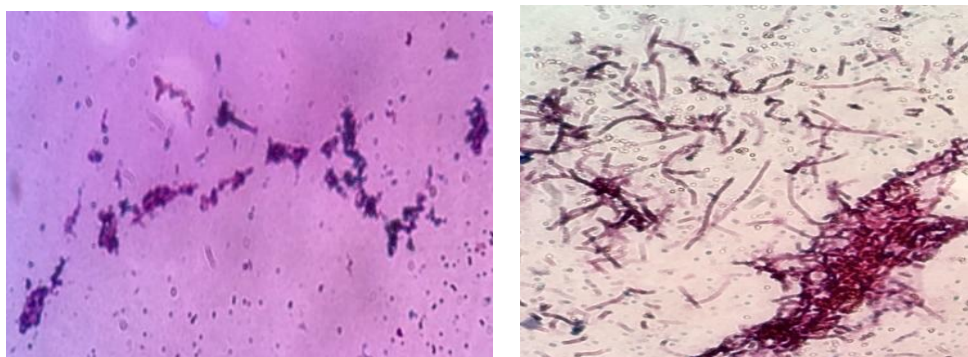


Рисунок 8 - Морфологические признаки штамма *N. umidischolae* RCAM04882 (ориг., 2018)

Штамм *N. umidischolae* RCAM04883 (приложение 3) выделен 04.11.2013г. из аллювиальной луговой почвы с сильной степенью засоления в Лиманском районе

Астраханской области (60 км от Астрахани, на границе Икрянинского и Лиманского р-на, 2 км от федеральной трассы) (Григорян и др., 2018) (рис. 9).

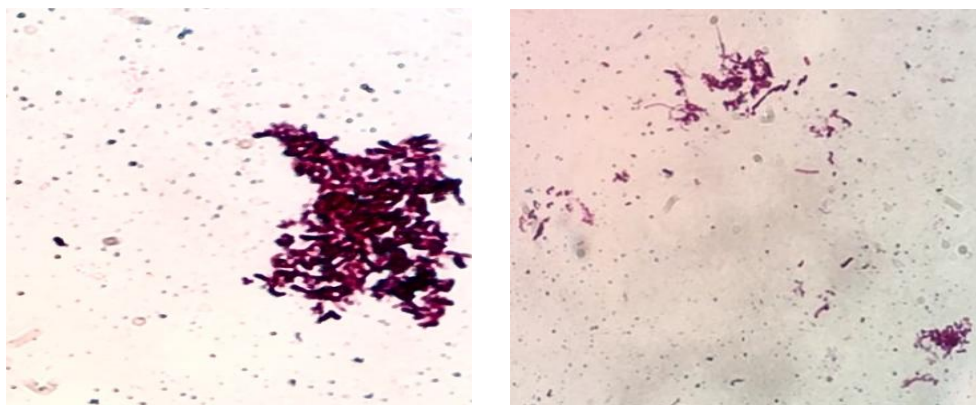


Рисунок 9 - Морфологические признаки штамма *N. umidischolae* RCAM04883 (ориг., 2018)

По результатам исследования биохимических свойств трех идентифицированных штаммов установлено, что данные бактерии оксидазо- и каталазоположительные, не образуют сероводород и индол, культивируются на средах с глюкозой, мальтозой, фруктозой, сахарозой, лактозой, маннитом; на среде с ксилозой, арабинозой, раффинозой, инозитом рост отсутствует; восстанавливают нитраты до нитритов.

3.2.1. Заключение по разделу 3.2.

Таким образом, на основе изучения культурально-морфологических, биохимических свойств, а также данных секвенирования 16S рРНК изолят №11 определили, как *Streptomyces carpaticus* RCAM04697, изолят №2 – как *Nocardiopsis umidischolae* RCAM04882, изолят №18 идентифицирован, как *Nocardiopsis umidischolae* RCAM04883.

3.3. Исследование активности штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 в отношении вирусных и грибных патогенов растений

3.3.1. Противовирусная активность суспензий штаммов актиномицетов в лабораторных условиях на томате и картофеле

Идентификацию образцов томата на предмет вирусоносительства методами растений-индикаторов и иммунострипов проводили в лаборатории вирусных,

бактериальных и грибных болезней сельскохозяйственных культур филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по Астраханской области (табл. 4).

Таблица 4 - Противовирусная активность суспензий штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04883 в лабораторных условиях на томате

Вариант эксперимента	Количество инокулированных растений, шт.	Количество растений без симптомов	
		шт.	%
Контроль при инокуляции ВОМ	80	2	2,5
Контроль при инокуляции ВМТо	80	4	5,0
<i>S. carpaticus</i> RCAM04697			
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ВОМ	80	32	40,0
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ВМТо	80	26	32,5
<i>N. umidischolae</i> RCAM04882			
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ВОМ	80	27	33,8
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ВМТо	80	21	26,3
<i>N. umidischolae</i> RCAM04883			
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ВОМ	80	22	27,5
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ВМТо	80	15	18,8

Полученные данные свидетельствуют о том, что суспензии исследуемых штаммов проявляют противовирусную активность в отношении ВОМ и ВМТо. Наибольшие показатели противовирусной активности на данные фитовирусы представлены при обработке суспензией штамма *S. carpaticus* RCAM04697: при инокуляции ВОМ количество бессимптомных растений составило 33,8%, при ВМТо – 26,3% (рис. 10).



А



Б

Рисунок 10 – Противовирусная активность в лабораторных условиях на томатах: А – контроль при инокуляции ВОМ, Б – обработка суспензией штамма *S. carpaticus* RCAM04697 (ориг., 2021)

Наименьшее значение противовирусной активности на исследуемые вирусы установлено при обработке суспензией штамма *N. umidischolae* RCAM04883 (ВОМ – 27,5%; ВМТо – 18,8%). Противовирусная активность суспензии штамма *N. umidischolae* RCAM04882 не превышала 33,8% в отношении ВОМ и 26,3% в отношении ВМТо. Анализ полученных данных показал, что ВМТо менее устойчив к действию штаммов актиномицетов (18,8%-32,5%), чем ВОМ (27,5%-40,0%).

Изучение противовирусной активности штаммов актиномицетов на картофеле методами растений-индикаторов, иммунострипов и ПЦР-диагностики показало присутствие свойств, способствующих снижению развития и распространения фитовирусов (табл. 5).

Таблица 5 - Противовирусная активность суспензий штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04883 в лабораторных условиях на картофеле

Вариант эксперимента	Количество инокулированных растений, шт.	Количество растений и клубней без симптомов	
		шт.	%
Контроль при инокуляции УВК	80	3	3,8
Контроль при инокуляции ХВК	80	2	2,5
<i>S. carpaticus</i> RCAM04697			
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции УВК	80	41	51,3
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ХВК	80	33	41,3
<i>N. umidischolae</i> RCAM04882			
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции УВК	80	39	48,8
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ХВК	80	29	35,0
<i>N. umidischolae</i> RCAM04883			
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции УВК	80	32	40,0
Обработка суспензией штамма растений после инокуляции ХВК	80	26	32,5

Выявлено, что суспензии исследуемых штаммов обладают противовирусными свойствами в отношении УВК и ХВК. Максимальное значение противовирусной активности на данные вирусные патогены представлено при обработке суспензией штамма *S. carpaticus* RCAM04697: при инокуляции УВК количество бессимптомных растений составило 51,3%, при ХВК – 41,3%. Минимальный показатель

противовирусной активности на исследуемые вирусы выявлен при обработке суспензией штамма *N. umidischolae* RCAM04883 (УВК – 40,0%; ХВК – 32,5%) (рис. 11).



Рисунок 11 – Противовирусная активность в лабораторных условиях на картофеле: А – контроль при инокуляции УВК, Б – обработка суспензией штамма *N. umidischolae* RCAM04883 (ориг., 2021)

Противовирусная активность суспензии штамма *N. umidischolae* RCAM04882 не превышала 48,8% в отношении УВК и 35,0% в отношении ХВК. Установлено, что УВК менее устойчив к действию штаммов актиномицетов (40,0%-51,3%), чем ХВК (32,5%-41,3%). Таким образом, лабораторные опыты по изучению противовирусных свойств суспензий исследуемых бактерий свидетельствует о сдерживании развития и распространения вирусных возбудителей ВОМ, ВМТо, УВК, ХВК.

3.3.2. Фунгицидная активность суспензий штаммов актиномицетов в лабораторных условиях в отношении фитопатогенных грибов

Различную степень фунгицидной активности суспензии штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04883 проявили по отношению ко всем 12 исследованным фитопатогенным грибам, относящихся к родам *Fusarium*, *Alternaria*, *Phoma*, *Colletotrichum*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Macrosporium* (табл. 6).

Таблица 6 - Антагонизм суспензий штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04883 к фитопатогенным грибам

№ п/п	Наименование фитопатогена	Размер зон подавления, мм		
		<i>S. carpaticus</i> RCAM04697	<i>N. umidischolae</i> RCAM04882	<i>N. umidischolae</i> RCAM04883
1	<i>Alternaria solani</i>	31±1	27±1	20±1
2	<i>Alternaria alternata</i>	25±0	22±0	15±0
3	<i>Alternaria infecta</i>	29±1	18±1	10±1
4	<i>Fusarium sporotrichioides</i>	25±0	10±0	8±0*

5	<i>Fusarium oxysporum</i>	22±0	8±0*	4±0*
6	<i>Phoma exigua</i>	10±1*	5±1*	3±1*
7	<i>Colletotrichum atramentarium</i>	8±1*	4±1*	2±1*
8	<i>Phytophthora infestans</i>	17±0	9±0	5±0
9	<i>Phytophthora</i> spp.	15±0	10±0	8±0
10	<i>Pythium</i> sp.	10±1	5±1*	3±1*
11	<i>Rhizoctonia solani</i>	25±0	20±0	15±0
12	<i>Macrosporium solani</i>	6±1*	5±1*	3±1*

Примечание: * – угнетение

Полученные данные свидетельствуют о том, что наибольшей фунгицидной активностью в отношении всех исследуемых фитопатогенных грибов обладает суспензия штамма *S. carpaticus* RCAM04697. Максимальное значение зоны подавления выявлено в варианте с изолятом *Alternaria solani* (31 мм), минимальное – с *Macrosporium solani* (6 мм). Размеры зон подавления в вариантах с остальными тест-объектами колебались 8 мм до 29 мм.

Наименьшие значения антагонистической активности в отношении фитопатогенных грибов зафиксированы у суспензии штамма *N. umidischolae* RCAM04883, зоны подавления которого оставались в пределах от 2 мм до 20 мм. Изучение фунгицидной активности суспензии штамма *N. umidischolae* RCAM04882 к тест-культурам показало, что размеры зон подавления – средние и варьировали от 4 мм до 27 мм.

Таким образом, результаты исследования фунгицидной активности суспензий штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 в лабораторных условиях в отношении вредоносных фитопатогенных грибов, распространенных на территории Астраханской области, подтверждают сведения о том, что актиномицеты, в частности, стрептомицеты, обладают высокой фунгицидной активностью.

3.3.3. Заключение по разделу 3.3.

Выявлена противовирусная активность штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 на томатах и картофеле в лабораторных условиях. При изучении противовирусной активности исследуемых актиномицетов установлено присутствие свойств, способствующих снижению развития и распространения фитовирусов. Суспензии данных бактерий проявляли противовирусную активность в отношении ВОМ и ВМТо. Наибольшие показатели

противовирусной активности обнаружены при обработке суспензией штамма *S. carpaticus* RCAM04697. Анализ полученных данных показал, что ВМТо менее устойчив к действию штаммов актиномицетов (18,8%-32,5%), чем ВОМ (27,5%-40,0%).

Обнаружено, что суспензии исследуемых штаммов обладают противовирусными свойствами в отношении УВК и ХВК. Максимальное значение противовирусной активности обнаружено при обработке суспензией штамма *S. carpaticus* RCAM04697: при инокуляции УВК количество бессимптомных растений составило 51,3%, при ХВК – 41,3%.

Таким образом, результаты лабораторных опытов по изучению противовирусных свойств суспензий исследуемых бактерий показали сдерживание развития и распространения вирусных возбудителей ВОМ, ВМТо, УВК, ХВК. Анализ данных, полученных в результате исследования фунгицидной активности суспензий штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 свидетельствует о том, что наибольшей активностью в отношении 12 фитопатогенных грибов обладает суспензия штамма *S. carpaticus* RCAM04697.

3.4. Изучение безвредности штаммов и их антиоксидантных свойств

3.4.1. Определение ингибирующего эффекта штаммов актиномицетов в лабораторном опыте на дафниях

Исследование по выявлению безвредности штаммов актиномицетов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 не показало негативного влияния на выживаемость особей *D. magna*. Следовательно, в суспензиях и водных растворах данных бактерий не содержится токсичных для дафний веществ (табл. 7).

Таблица 7 - Выживаемость *D. magna* при воздействии суспензий и водных растворов штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

Время учета, час	Выживаемость, %										
	Водные растворы суспензии								Суспензия	Контроль №1	Контроль №2
	0,25%	0,5%	1%	2%	3%	4%	5%	10%			
<i>S. carpaticus</i> RCAM04697											
24	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
48	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>N. umidischolae</i> RCAM04882											

24	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
48	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>N. umidischolae</i> RCAM04883											
24	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
48	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

К завершению эксперимента в опытных вариантах и контроле (№1, №2) гибели дафний не наблюдали (рис. 12).



Рисунок 12 - *D. magna* в варианте с суспензией штамма *S. carpaticus* RCAM04697 на 48 часе учета (ориг., 2021)

Таким образом, суспензии и водные растворы исследуемых штаммов не оказывают угнетающего влияния на выживаемость особей *D. magna*, что позволяет отнести их к классу нетоксичных веществ для водных организмов (Лесников и др., 1974).

3.4.2. Фитотоксичность суспензий и экстрактов штаммов актиномицетов в лабораторном опыте на редисе

При определении фитотоксичности суспензий и экстрактов штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 прорастание семян редиса наблюдалось через 72 часа инкубации. Наибольшее прорастание выявлено при обработке гексановыми экстрактами исследуемых актиномицетов, которое составило от 64,5% до 90,1% (табл. 8, рис. 13).

Таблица 8 - Влияние штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 на всхожесть семян редиса

№ п	Вариант	Среднее количество проросших семян, %					
		<i>N. umidischolae</i> RCAM04882		<i>S. carpaticus</i> RCAM04697		<i>N. umidischolae</i> RCAM04883	
		0,5 мг/мл	1 мг/мл	0,5 мг/мл	1 мг/мл	0,5 мг/мл	1 мг/мл
1	Гексановый экстракт	77,3	74,1	90,1	87,5	69,0	64,5
2	Метанольный экстракт	59,8	55,9	59,2	57,0	66,4	65,0
3	Водно-спиртовой экстракт (20:80)	67,2	65,2	75,7	70,8	68,3	65,2
4	Водно-спиртовой экстракт (50:50)	72,2	60,1	74,1	73,8	70,2	63,3
5	Водно-спиртовой экстракт (80:20)	75,5	60,3	86,6	84,1	77,5	69,1
6	Суспензия	69,4		75,5		57,9	
7	Контроль №1	42,1					
8	Контроль №2	44,4					

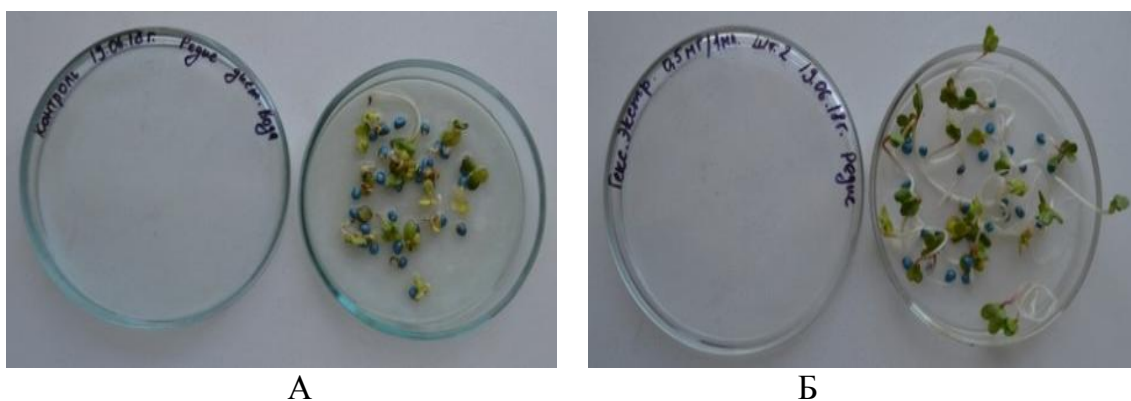


Рисунок 13 - Исследование влияния штаммов *S. carpaticus* RCAM04697 на всхожесть семян редиса: А – контроль, Б – опыт (ориг., 2018)

Максимальная всхожесть обнаружена в варианте при обработке гексановым экстрактом штамма *S. carpaticus* RCAM04697 в концентрации 0,5 мг/мл – 90,1%, которая выше контроля на 45,7-48,0%.

Обработка метанольными экстрактами бактерий показала наименьшую всхожесть, которая колебалась от 55,9% до 66,4%. Однако следует отметить, что по сравнению с экстрактами, суспензия изучаемых микроорганизмов характеризовалась всхожестью от 57,9% (штамм *N. umidischolae* RCAM04883) до 75,5% (штамм *S. carpaticus* RCAM04697), у штамма *N. umidischolae* RCAM04882 - 69,4%. У штамма *N. umidischolae* RCAM04883 максимальная всхожесть обнаружена в водно-спиртовом экстракте (80:20) в концентрации 0,5 мг/мл – 77,5%.

Анализ данных, полученный в результате проведения исследования, показал, что при сравнении фитотоксического действия на редис трех разных изолятов

актиномицетов значительный эффект наблюдался во всех вариантах суспензии и экстрактов штамма *S. carpaticus* RCAM04697.

Установлено, что во всех вариантах экстрактов трех изолятов бактерий при концентрации 0,5 мг/мл наблюдается увеличение всхожести семян редиса, чем при концентрации 1 мг/мл, что свидетельствует о повышении ингибирующего эффекта при увеличении концентрации изучаемых образцов. Биометрические показатели растений редиса определяли на 14-е сутки эксперимента (рис. 14). В ходе опыта измеряли длину корня.

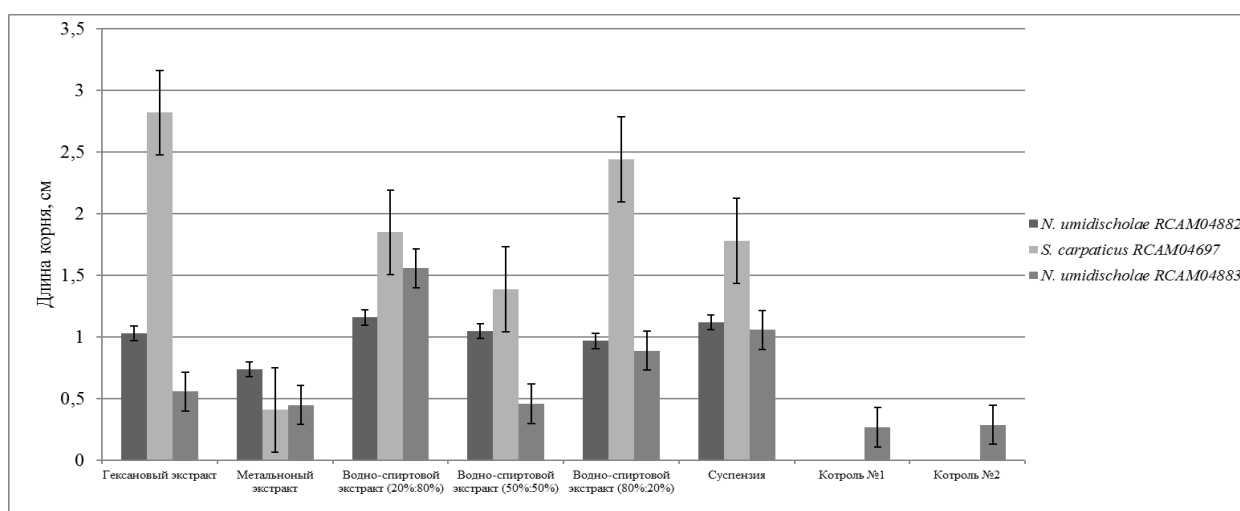


Рисунок 14 – Влияние штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 на биометрические показатели редиса (конц. 0,5 мг/мл)

Наиболее высокие биометрические показатели растений, характеризующиеся длиной корня выявлены в гексановом экстракте штамма *S. carpaticus* RCAM04697 2,67-2,82 см, превышающем контроль на 2,55 и 2,53 см – 2,38 и 2,40 см; и водно-спиртовом экстракте 80:20 в концентрации 0,5 мг/мл – 2,44 см, превышающем контроль на 2,15-2,17 см. Достаточно низкие значения длины корня редиса в варианте с данными бактериями установлены в метанольном экстракте, которые составили 0,31-0,41 см. Длина корня в остальных вариантах данных актиномицетов не превышала 1,85 см.

Самые низкие значения длины корня представлены у штамма *N. umidischolae* RCAM04883 и составили 0,28 см (гексановый экстракт, 1 мг/мл). Один из высоких показателей длины корня у данных бактерий обнаружен в водно-спиртовом экстракте 20:80 в концентрации 0,5 мг/мл и составил 1,56 см. Остальные биометрические данные штамма *N. umidischolae* RCAM04883 характеризуются длиной корня от 0,37 см до 0,89 см.

Длина корня редиса при обработке штаммом *N. umidischolae* RCAM04882 колебалась от 0,69 см (метанольный экстракт, 1 мг/мл) до 1,16 см (водно-спиртовой экстракт, 0,5 мг/мл).

Установлено, что все варианты экстрактов трех штаммов нетоксичны, и концентрация 0,5 мг/мл оказалась эффективнее, чем концентрация 1 мг/мл, которая проявляет ингибирующие свойства. Проявление высокой фитостимулирующей активности у гексановых экстрактов может быть связано с присутствием соединений стероидной природы, которые, по литературным данным, являясь физиологически активными веществами, обладают высокой биологической активностью (Джафаров и др., 2010). При экстракции гексаном, который является неполярным растворителем, извлекается большая группа веществ, характеризующихся биологической активностью (Чудина и др., 2011).

3.4.3. Антиоксидантная активность суспензий и экстрактов штаммов актиномицетов

При определении антиоксидантной активности использовали трехсуточные суспензии штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883, а также их экстракты: водно-спиртовые (80:20, 50:50, 20:80), метанольные и гексановые.

Для определения антиоксидантной активности использовали реакцию со стабильным свободным радикалом ДФПГ. Свободным радикалом считается химическое соединение, имеющее один или более неспаренных электронов, образованное в результате либо потери, либо приобретения одного электрона. Неспаренным считается электрон, занимающий в единственном числе молекулярную или атомную орбиталь. Высокая реакционная способность радикалов приводит в физиологических условиях к ускорению процессов окисления, разрушающих молекулярную основу клетки и вызывает в результате многочисленные патологические состояния.

Антиоксиданты — вещества, замедляющие или предотвращающие окисление органических соединений. Они защищают организм от негативных воздействий свободных радикалов. Антиоксидант соединяется со свободным радикалом и ставит заслон разрушительному действию лишнего электрона. Важнейшими антиоксидантами

являются: витамины С, Е, β-каротин, селен, биофлавоноиды (витаминоподобные вещества, содержащиеся в кожуре растений – апельсины, лимоны, томаты).

Исследования показали, что изоляты актиномицетов обладают высокими значениями антиоксидантной активности относительно принятого стандарта аскорбиновой кислоты. Отметим, что аскорбиновая кислота, выбранная нами в качестве стандарта, способна восстанавливать многие электроактивные вещества неорганической и органической природы, которые также способны проявлять как антиоксидантные, так и прооксидантные свойства. Анализируя полученные сведения, можно заметить, что все изучаемые пробы обладают показателями антиоксидантной активности, которые варьируют от 35,2% (водно-спиртовой экстракт 80:20) до 88,8% (суспензия штамма *S. carpaticus* RCAM04697), что существенно выше показателя аскорбиновой кислоты – 12,5% (табл. 9).

Таблица 9 - Антиоксидантная активность штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

№ п/п	Вариант	АОА, %		
		<i>S. carpaticus</i> RCAM04697	<i>N. umidischolae</i> RCAM04882	<i>N. umidischolae</i> RCAM04883
1	Гексановый экстракт	37,2±0,15	63,8±0,07	61,0±0,08
2	Метанольный экстракт	56,1±0,18	46,9±0,11	59±0,05
3	Водно-спиртовой экстракт (20:80)	76,0±0,08	38,8±0,06	58±0,09
4	Водно-спиртовой экстракт (50:50)	63,5±0,05	59,7±0,15	58±0,13
5	Водно-спиртовой экстракт (80:20)	35,2±0,12	71,4±0,02	61±0,05
6	Суспензия	88,8±0,09	62,8±0,05	43±0,07
7	Контроль	12,5		

Антиоксидантная активность гексанового экстракта оказалась самой высокой у штамма *N. umidischolae* RCAM04882 и составила 63,8%, а у штамма *S. carpaticus* RCAM04697 самой низкой – 37,2% (рис. 15).



Рисунок 15 - Определение антиоксидантной активности гексанового экстракта штамма *S. carpaticus* RCAM04697 (ориг., 2019)

Наибольшее значение антиоксидантной активности метанольного экстракта установлено у штамма *N. umidischolae* RCAM04883 и составило 59,0%, наименьшее у штамма *N. umidischolae* RCAM04882 – 46,9%. Среди трех разных вариантов водно-спиртовых экстрактов достаточно высокий процент отмечен в модификации 20:80 штамма *S. carpaticus* RCAM04697 (76,0%), однако низкая антиоксидантная активность проявляется в такой же модификации водно-спиртового экстракта у штамма *N. umidischolae* RCAM04882 и составляет – 38,8%. Максимальный показатель антиоксидантной активности суспензии выявлен у штамма *S. carpaticus* RCAM04697 (88,8%), минимальный у штамма *N. umidischolae* RCAM04883 (43,0%).

Следует отметить, что при сравнении антиоксидантной активности в пределах суспензии и экстрактов одного изолята актиномицетов не наблюдается четкой закономерности, так как данный показатель у штамма *S. carpaticus* RCAM04697 достаточно высок в суспензии 88,8%, у штамма *N. umidischolae* RCAM04882 - в водно-спиртовом экстракте (80:20) 71,4%, а у штамма *N. umidischolae* RCAM04883 – в гексановом и водно-спиртовом экстрактах (80:20) 61,0%. В связи с чем, можно предположить, что антиоксидантная активность проявляется дифференцированно в различных вариантах изолятов актиномицетов.

Наибольшую антиоксидантную активность проявили суспензия 88,8% и водно-спиртовый экстракт (20:80) 76,0% штамма *S. carpaticus* RCAM04697. Максимальная антиоксидантная активность штамма *N. umidischolae* RCAM04882 обнаружена в гексановом и водно-спиртовом (80:20) экстрактах 63,8% и 71,4%, соответственно.

3.4.4. Заключение по разделу 3.4.

В опыте на дафниях штаммы *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 оказались нетоксичными.

При исследовании фитотоксичности на редисе выявлено, что все варианты экстрактов трех штаммов нетоксичны, установлен выраженный ростстимулирующий эффект, а концентрация 1 мг/мл оказалась эффективнее, чем концентрация 0,5 мг/мл.

Определение антиоксидантной активности штаммов показало, все суспензии и экстракты изучаемых бактерий показали большую антиоксидантную активность в сравнении с контролем, а антиоксидантная активность суспензии штамма *S. carpaticus* RCAM04697 оказалась наибольшей.

3.5. Исследование химического состава метаболитов штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

3.5.1. Исследование химического состава метаболитов актиномицетов методом качественных реакций

Для установления основных групп веществ, проявляющих антагонистическую активность, в анализируемых экстрактах проведены качественные реакции на обнаружение гликозидов, сапонинов, алкалоидов, флавоноидов исследуемых бактерий.

Наличие флавоноидов установлено во всех анализируемых образцах данных бактерий, за исключением гексанового экстракта. Реакция на определение алкалоидов показала их присутствие в гексановых экстрактах всех штаммов, водно-спиртовых экстрактах (50:50; 80:20) и метанольном экстракте штамма *N. umidischolae* RCAM04882, в водно-спиртовых экстрактах (20:80) штаммов *N. umidischolae* RCAM04883 и *S. carpaticus* RCAM04697 (табл. 10).

Таблица 10 - Химический состав суспензий и экстрактов штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 и *S. carpaticus* RCAM04697

Реакция	Группа веществ	№ штамма	Полученный результат*					
			Водно-спиртовой экстракт (20:80)	Водно-спиртовой экстракт (50:50)	Водно-спиртовой экстракт (80:20)	Гексановый экстракт	Метанольный экстракт	Суспензия
С раствором аммиака	флавоноиды	RCAM04882	+	+	+	-	+	+
		RCAM04883	+	+	+	-	+	+
		RCAM04697	+	+	+	-	+	+
Пенообразование	сапонины	RCAM04882	-	-	-	-	-	-
		RCAM04883	-	-	-	-	-	-
		RCAM04697	-	-	-	-	-	-
Осаждения Вагнера-Бушарда	алкалоиды	RCAM04882	-	+	+	+	+	-
		RCAM04883	+	-	-	+	-	-
		RCAM04697	+	-	-	+	-	-
Келлера-Килиани	гликозиды	RCAM04882	+	+	+	-	+	+
		RCAM04883	+	+	+	-	-	+
		RCAM04697	+	+	+	-	-	+

Примечание: * «-» - отсутствие ожидаемого результата; «+» - наличие ожидаемого результата

Алкалоиды – это физиологически активные соединения, участвующие в регулировании роста и обмена веществ, многие из которых являются сильнейшими ядами (Орехов, 1955). Некоторые алкалоиды обладают избирательным действием на

различные отделы нервной системы, сосуды и мышцы. Кроме того, алкалоиды активно применяются в сфере защиты растений в качестве инсектицидов (Matolcsy et al., 2002).

Результаты качественных реакций, свидетельствуют об отсутствии сапонинов во всех исследуемых образцах. Гликозиды выявлены во всех изучаемых пробах за исключением гексанового экстракта, а также метанольного экстракта штаммов *N. umidischolae* RCAM04883 и *S. carpaticus* RCAM04697. Противовирусная активность гликозидов в отношении ДНК- и РНК-содержащих вирусов подтверждена в работе Reddy et al. (2020). Гликозиды являются средством удаления ядовитых веществ путем их связывания и превращения в инертные формы. Они представляют собой форму сохранения сахаров в качестве резерва питания (Халецкий, 1966).

В составе метаболитов трех штаммов обнаружены флавоноиды, алкалоиды и гликозиды. Наличие флавоноидов установлено во всех исследуемых образцах штаммов, за исключением гексанового экстракта (рис. 16).



Рисунок 16 – Определение наличия флавоноидов в суспензиях и экстрактах штамма *N. umidischolae* RCAM04882 методом качественных реакций (ориг., 2019)

Флавоноиды обладают фунгицидными, бактерицидными и антиоксидантными свойствами, способны изменять активность многих ферментов обмена веществ (Cowan, 1999; Middleton et al., 2000; Астафьева и др., 2015). В работе Dai W. с соавторами выявлено, что флавоноиды способны проявлять ингибирующее действие на РНК-содержащие вирусы (Dai et al., 2019).

3.5.2. Исследование компонентного состава метаболитов штаммов актиномицетов методом ТСХ

Изучение компонентного состава суспензии и экстрактов трех штаммов проводили методом ТСХ. ТСХ пригодна для исследования летучих и нелетучих соединений и применяется для анализа витаминов, стероидов, лекарственных веществ,

синтетических органических материалов, эфирных масел, смол, пестицидов и других веществ (рис. 17).



Рисунок 17 – Нанесение суспензий штаммов актиномицетов на хроматографические пластины для исследования компонентного состава методом ТСХ (ориг., 2019)

Определение группы веществ осуществляли по значениям R_f и элюентам по Кирхнеру (1981). Для каждой хроматографической зоны подсчитан показатель R_f (табл. 11).

Таблица 11 - Идентификация хроматографических зон на хроматограммах штамма *N. umidischolae* RCAM04882

№ п/п	Элюент	Суспензия $R_f \pm 0,02$	Водно-спиртовой экстракт $R_f \pm 0,02$			Гексановый экстракт $R_f \pm 0,02$	Метанол ный экстракт $R_f \pm 0,02$
			20:80	50:50	80:20		
1	Ацетон	0,0705	0,0349	0,0562	0,0751	-	-
2	Бензол	-	-	-	-	-	-
3	Бензол: метанол (1:1)	0,1149	-	-	0,0602	-	0,0779
4	Бензол: метанол: уксусная кислота (1:1:1)	0,3049 0,1929 0,0976	-	-	-	-	-
5	Бутанол	-	0,7176	-	0,6706	-	-
6	Бутанол: уксусная кислота (1:1)	0,7407	-	-	-	-	0,9438
7	Бутанол: уксусная кислота: вода (1:1:1)	0,7222	-	-	-	-	-
8	Гексан	-	-	-	-	-	-
9	Гексан: этилацетат (1:1)	-	-	-	-	-	-
10	Метанол	0,1666	-	-	-	-	-
11	Уксусная кислота	0,1369 0,2328 0,3698	-	-	-	-	-
12	Хлороформ	-	-	-	-	-	-
13	Хлороформ: уксусная кислота (1:1)	0,0344	-	-	-	-	-
14	Этилацетат	-	-	-	-	-	-
15	Этанол: гексан: этилацетат (1:1:1)	-	-	-	-	-	-
16	Этанол: уксусная кислота (1:1)	0,3975	-	-	-	-	-

17	Этилацетат: метанол: вода (1:1:1)	-	0,1460	-	0,1460	-	-
18	Этилацетат: тетрахлорэтан: вода (1:1:3)	-	-	-	-	-	-
19	Этилацетат: метанол (2:1)	-	-	-	-	-	-
20	Вода: лимонный натрий: лимонная кислота (2:1:5)	0,8556	-	-	-	-	-
21	Бутанол: вода: этанол (4:2:1)	0,2816	0,2561	0,3256	0,2439	-	0,2250
22	Бутанол: метанол (1:1)	0,6538	0,7375	0,6364	0,6875	-	-
23	Этанол: вода (4:1)	0,7682	-	-	-	-	-
24	Этанол: вода (2:8)	0,8505	0,8667	-	0,8667	-	-
25	Этанол: вода (5:5)	0,9333	-	-	-	-	0,8720
26	Этанол: вода (8:2)	0,7037	-	-	-	-	-
27	Метанол: бензол: хлороформ (4:2:1)	-	-	-	-	-	-
28	Хлороформ: Этилацетат (1:2)	-	-	-	-	-	-
29	Бензол: метанол (3:1)	-	-	-	-	-	-
30	Пропанол: этилацетат: вода (5:1:3)	0,2195 0,3171 0,4390	-	-	-	-	-
31	Хлороформ: метанол (1:2)	0,1222	0,0795	-	0,0739	-	-
32	Пропанол: уксусная кислота: вода (3:3:2)	0,8555 0,9222	-	-	-	-	-
33	Ацетонитрил	0,0112	-	0,0667	-	-	-
34	Ацетонитрил: вода (2:2)	0,1149	0,0889	0,1111	0,1000	-	0,8888
35	Изопропиловый спирт	0,2280	-	-	-	0,7865	0,7752
36	Этанол: вода (7:3)	-	-	0,4444	-	-	-
37	Хлороформ: метанол (9:1)	-	-	-	-	-	-
38	Хлороформ: метанол (95:5)	0,1222	0,0795	-	-	-	-

В суспензии и экстрактах штамма *N. umidischolae* RCAM04882 разделение показали 26 из 38 элюентов разной степени полярности. В суспензии штамма наилучшее разделение и качество хроматографических зон достигнуто с помощью элюирующих систем: бензол: метанол: уксусная кислота (1:1:1), уксусная кислота, пропанол: этилацетат: вода (5:1:3), пропанол: уксусная кислота: вода (3:3:2).

В водно-спиртовых экстрактах разделение показали элюирующие системы – ацетон, бензол: метанол (1:1), бутанол, этилацетат: метанол: вода (1:1:1), бутанол: вода: этанол (4:2:1), бутанол: метанол (1:1), этанол: вода (2:8), хлороформ: метанол (1:1), ацетонитрил, ацетонитрил: вода (2:2), этанол: вода (7:3), хлороформ: метанол (95:5). В гексановом экстракте разделение показал изопропиловый спирт с показателем $R_f=0,7865$.

В метанольном экстракте разделение показали элюирующие системы: бензол: метанол (1:1), бутанол: уксусная кислота (1:1), бутанол: вода: этанол (4:2:1), этанол: вода (5:5), ацетонитрил: вода (2:2), изопропиловый спирт.

Наилучшими системами, показавшими разделение в нескольких экстрактах и суспензии, являлись ацетон, бутанол: вода: этанол (4:2:1), бутанол: метанол (1:1), ацетонитрил: вода (2:2). Элюирующая система бутанол: вода: этанол (4:2:1) показала разделение в суспензии с показателем $R_f=0,2816$, в водно-спиртовом экстракте 20:80 с $R_f=0,2561$, в водно-спиртовом экстракте 50:50 с $R_f=0,3256$, в водно-спиртовом экстракте 80:20 с $R_f=0,2439$, в метанольном экстракте с $R_f=0,2250$ (Grigoryan et al., 2020).

Схожие данные обнаружены при идентификации зон на хроматограммах при исследовании штамма *N. umidischolae* RCAM04883 (табл. 12).

Таблица 12 - Идентификация хроматографических зон на хроматограммах штамма *N. umidischolae* RCAM04883

№ п/п	Элюент	Суспензия $R_f \pm 0,02$	Водно-спиртовой экстракт $R_f \pm 0,02$			Гексановый экстракт $R_f \pm 0,02$	Метано- льный экстракт $R_f \pm 0,02$
			20:80	50:50	80:20		
1	Ацетон	0,1904	0,1000 0,2125	0,0889	0,0344	-	-
2	Бензол	-	-	-	-	-	-
3	Бензол: метанол (1:1)	0,0930	-	-	-	-	0,0697
4	Бензол: метанол: уксусная кислота (1:1:1)	0,0778 0,2222 0,3444	-	0,8667	-	-	-
5	Бутанол	0,6250	-	0	0,6746	-	-
6	Бутанол: уксусная кислота (1:1)	0,6556	-	0,7889 0,9222	-	0,9438	-
7	Бутанол: уксусная кислота: вода (1:1:1)	0,7222	-	0,8202	-	-	-
8	Гексан	-	-	-	-	-	-
9	Гексан: этилацетат (1:1)	-	-	-	-	-	-
10	Метанол	0,1097	-	0,0769	0,0555	-	-
11	Уксусная кислота	0,1195 0,1829 0,3049 0,8902	0,7528	-	-	-	-
12	Хлороформ	-	-	-	-	-	-
13	Хлороформ: уксусная кислота (1:1)	0,0795	-	0,0787	-	-	-
14	Этилацетат	-	-	-	-	-	-
15	Этанол: гексан: этилацетат (1:1:1)	-	0,1176	-	-	-	-
16	Этанол: уксусная кислота (1:1)	0,4137 0,1724	0,88070	0,9000	-	-	-

17	Этилацетат: метанол: вода (1:1:1)	0,1176	0,0833	-	0,1279	-	-
18	Этилацетат: тетрахлорэтан: вода (1:1:3)	0,7558	0,7558	-	-	-	-
19	Этилацетат: метанол (2:1)	-	-	-	-	-	-
20	Вода: лимонный натрий: лимонная кислота (2:1:5)	0,8556	-	-	-	-	-
21	Бутанол: вода: этанол (4:2:1)	0,2954	-	0,2584	0,3048	-	0,6790
22	Бутанол: метанол (1:1)	-	0,7683	0,5115	0,5063	-	-
23	Этанол: вода (4:1)	0,3158 0,6974	-	0,7622	-	-	-
24	Этанол: вода (2:8)	0,9111	-	0	0,9213	-	-
25	Этанол: вода (5:5)	0,9111	-	0,4444	0	-	0,8977
26	Этанол: вода (8:2)	0,2857 0,6571	-	0,8778	0,7073	-	0,7857
27	Метанол: бензол: хлороформ (4:2:1)	-	-	-	-	-	-
28	Хлороформ: этилацетат (1:2)	-	-	-	-	-	-
29	Бензол: метанол (3:1)	-	-	-	-	-	-
30	Пропанол: этилацетат: вода (5:1:3)	0,3255	-	0,8764	-	-	-
31	Хлороформ: метанол (1:2)	0,1222	-	0,0667	-	-	-
32	Пропанол: уксусная кислота: вода (3:3:2)	0,7222	-	0,7865	-	-	-
33	Ацетонитрил	0,0795	0,0843	-	0,0224 0,1378	-	-
34	Ацетонитрил: вода (2:2)	0,0805	0,0714	0,1236	0,1279	-	0,8414
35	Изопропиловый спирт	0,3376	-	0,1282 0,9103	-	-	0,1093
36	Этанол: вода (7:3)	-	-	0,4444	-	-	-
37	Хлороформ: метанол (9:1)	-	-	-	-	-	-
38	Хлороформ: метанол (95:5)	0,1222	-	1,0667	-	-	-

В суспензии и экстрактах штамма *N. umidischolae* RCAM04883 разделение показали 28 из 38 элюентов разной степени полярности.

Наилучшее разделение обнаружено в суспензии штамма *N. umidischolae* RCAM04883 элюирующими системами: бензол: метанол: уксусная кислота (1:1:1); уксусная кислота; этанол: уксусная кислота (1:1); этанол: вода (4:1); этанол: вода (8:2).

Наилучшим элюентом для водно-спиртовых экстрактов штаммов оказался ацетон с показателями $R_f=0,1000$, $R_f=0,2125$, $R_f=0,0889$, $R_f=0,0344$; бутанол:метанол (1:1) с показателями $R_f=0,7683$, $R_f=0,5115$, $R_f=0,5063$; ацетонитрил:вода (2:2) с показателями $R_f=0,0714$, $R_f=0,1236$, $R_f=0,1279$. В гексановом экстракте разделение показала система бутанол: уксусная кислота (1:1) с показателем $R_f=0,9438$ (Grigoryan et al., 2020). В метанольном экстракте разделение показали элюирующие системы: бензол: метанол (1:1); бутанол: вода: этанол (4:2:1); этанол: вода (5:5); этанол: вода (8:2); ацетонитрил: вода (2:2); изопропиловый спирт.

Результаты ТСХ штамма *S. carpaticus* RCAM04697 показали разделение 20 из 38 элюентов разной степени полярности (табл. 13).

Таблица 13 - Идентификация хроматографических зон на хроматограммах штамм *S. carpaticus* RCAM04697

№ п/п	Элюент	Суспензия $R_f \pm 0,02$	Водно-спиртовой экстракт $R_f \pm 0,02$			Гексановый экстракт $R_f \pm 0,02$	Метанольный экстракт $R_f \pm 0,02$
			20:80	50:50	80:20		
1	Ацетон	0,0823 0,2705	0,040	0,1111 0,8889	0,0448	-	0,8965
2	Бензол	-	-	-	-	-	-
3	Бензол:метанол (1:1)	0,0909	-	-	-	-	0,0465
4	Бензол:метанол: уксусная кислота (1:1:1)	0,3049 0,1829 0,0976	-	0,8667	-	0,9545	-
5	Бутанол	-	-	0,4881	0,6913	-	-
6	Бутанол:уксусная кислота (1:1)	0,7561	-	0,8111 0,9222	-	-	-
7	Бутанол:уксусная кислота:вода (1:1:1)	0,6700	-	0,7978	-	-	-
8	Гексан	-	-	-	-	-	-
9	Гексан: этилацетат (1:1)	-	-	-	-	-	-
10	Метанол	0,1623	-	0,0641	0,0694	-	-
11	Уксусная кислота	0,1369 0,2297 0,3698 0,5753	0,7303	-	-	-	0,9111
12	Хлороформ	-	-	-	-	-	-
13	Хлороформ: уксусная кислота (1:1)	0,0459	-	0,8587	-	-	-
14	Этилацетат	-	-	-	-	-	-
15	Этанол:гексан: этилацетат (1:1:1)	-	0,0235	-	-	-	-
16	Этанол:уксусная кислота (1:1)	0,4268 0,5542	-	0,9000	-	-	-
17	Этилацетат: метанол:вода (1:1:1)	-	0,0611	-	0,1176	-	-
18	Этилацетат: тетрахлорэтан: вода	0,8876	0,0602	-	-	-	0,5487

	(1:1:3)						
19	Этилацетат: метанол (2:1)	-	-	-	-	-	-
20	Вода: лимонный натрий: лимонная кислота (2:1:5)	0,8333	-	-	-	-	-
21	Бутанол: вода: этанол (4:2:1)	0,3239	-	0,2472	0,2891	-	0,6707
22	Бутанол: метанол (1:1)	0,7179	0,3171	0,4943	0,5375	-	-
23	Этанол: вода (4:1)	0,0205	-	0,7403	-	-	-
24	Этанол: вода (2:8)	0,8390	-	-	0,9111	0,9444	-
25	Этанол: вода (5:5)	0,9444	-	-	-	-	0,8850
26	Этанол: вода (8:2)	0,6584	0,6818 0,8523	0,9111	0,6913	-	0,7826
27	Метанол: бензол: хлороформ (4:2:1)	-	-	-	-	-	-
28	Хлороформ: этилацетат (1:2)	-	-	-	-	-	-
29	Бензол: метанол (3:1)	-	-	0,9341	-	-	-
30	Пропанол: этилацетат: вода (5:1:3)	0,4634 0,3659 0,2805	-	0,8876	-	-	-
31	Хлороформ: метанол (1:2)	0,1000	-	0,0889 0,6167	-	-	-
32	Пропанол: уксусная кислота: вода (3:3:2)	0,8333	-	0,7753	-	-	-
33	Ацетонитрил	0,0444	0,0225	-	0,0337 0,1235	-	-
34	Ацетонитрил: вода (2:2)	0,0689	0,0833	0,1011	0,1279	-	0,8426
35	Изопропиловый спирт	0,1429	-	0,1410 0,8974	0,1176	-	-
36	Этанол: вода (7:3)	-	-	-	-	-	-
37	Хлороформ: метанол (9:1)	-	-	-	-	-	-
38	Хлороформ: метанол (95:5)	-	-	-	-	-	-

ТСХ водно-спиртовых экстрактов штамма *S. carpaticus* RCAM04697 показала разделение в элюирующих системах: ацетон; бензол:метанол: уксусная кислота (1:1:1); бутанол; бутанол:уксусная кислота (1:1); бутанол:уксусная кислота:вода (1:1:1); метанол; уксусная кислота; хлороформ: уксусная кислота (1:1); этанол:гексан: этилацетат (1:1:1); этанол:уксусная кислота (1:1); этилацетат: метанол:вода (1:1:1); этилацетат: тетрагидрофуран: вода (1:1:3); бутанол:вода: этанол (4:2:1); бутанол:метанол (1:1); этанол:вода (4:1); этанол:вода (2:8); этанол:вода (8:2); бензол:метанол (3:1); пропанол: этилацетат:вода (5:1:3); хлороформ: метанол (1:2); пропанол: уксусная кислота: вода (3:3:2); ацетонитрил; ацетонитрил: вода (2:2); изопропиловый спирт

По данным хроматографии гексанового экстракта штамма *S. carpaticus* RCAM04697 установлено разделение веществ лишь в двух элюирующих системах с показателями Rf: бензол:метанол:уксусная кислота (1:1:1) с Rf=0,9545 и этанол:вода (2:8) с Rf=0,9444. ТСХ метанольного экстракта штамма *S. carpaticus* RCAM04697 свидетельствует о том, что разделение веществ с показателем Rf=0,9111 выявлено в элюирующей системе уксусная кислота. Кроме того, разделение веществ выявлено в системах: ацетон; бензол:метанол (1:1); этилацетат: тетрахлорэтан: вода (1:1:3); бутанол:вода: этанол (4:2:1); этанол:вода (5:5); этанол:вода (8:2); ацетонитрил: вода (2:2).

Наилучшие системы для разделения хроматографических зон штамма *S. carpaticus* RCAM04697, которые показали разделение в 5 из 6 образцов - ацетон, этанол:вода (8:2), ацетонитрил:вода (2:2). Зная значения Rf и элюент, можно установить предполагаемое вещество, которое обнаружено в результате тонкослойной хроматографии (табл. 14).

Таблица 14 - Определение группы веществ по значениям Rf и элюентам (по Кирхнеру, 1981)

№ п/п	Элюент	Группы веществ	Наименование образца		
			<i>N. umidischolae</i> RCAM04882	<i>N. umidischolae</i> RCAM04883	<i>S. carpaticus</i> RCAM04697
1	Ацетон	производные пиридина: γ-пиридинкарбоновая кислота, α- пиридинкарбоновая кислота	водно-спиртовой экстракт 50:50 Rf 0,0562	-	-
2	Этанол:вода (7:3)	аминокислота: оксипролин	водно-спиртовой экстракт 50:50 Rf 0,4444	-	-
3	Этанол:вода (4:1)	антибиотик: алтиомицин	-	-	суспензия Rf 0,0205
4	Хлороформ: метанол (95:5)	антибиотик: нарбомицин	суспензия Rf 0,1222		-
		антибиотик: форомацидин С	-	водно-спиртовой экстракт 50:50 Rf 1,0667	-
		антибиотик: тилозин	водно-спиртовой экстракт 20:80 Rf 0,0795	-	-
5	Метанол	антибиотик: эритромицин	суспензия Rf 0,1666	-	-
6	Бензол: метанол (1:1)	фенол: протокатеховый альдегид	водно-спиртовой экстракт 80:20 Rf 0,0602	метанольный экстракт Rf 0,0697	-

Таким образом, учитывая полученные данные, следует отметить, что исследуемые бактерии являются богатым источником различных веществ, которые могут быть использованы в различных отраслях промышленности, включая сельское хозяйство.

В водно-спиртовом экстракте 50:50 штамма *N. umidischolae* RCAM04882 определены производные пиридина: α - пиридинкарбоновая кислота, γ - пиридинкарбоновая кислота с показателем Rf 0,0562 (Кирхнер, 1981). С помощью элюирующей системы этанол:вода (7:3) в водно-спиртовых экстрактах 50:50 двух штаммов выделена аминокислота – оксипролин с показателем Rf=0,4444. (рис. 18).

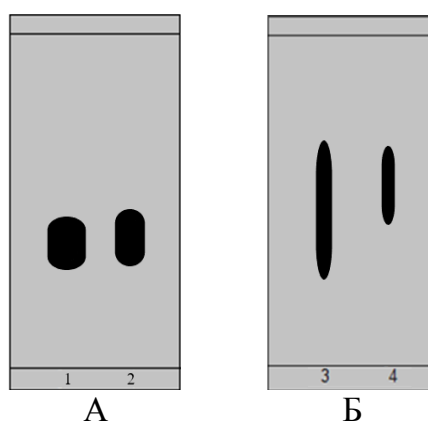


Рисунок 18 - Схематический вид пластинок; 1 – водно-спиртовый экстракт 50:50 *S. carpaticus* RCAM04697; 2 – водно-спиртовый экстракт 50:50 *N. umidischolae* RCAM04883; 3 – суспензия штамма *N. umidischolae* RCAM04882; 4 – суспензия штамма *S. carpaticus* RCAM04697; А - система – бутанол : вода : этанол (1:2:1); Б - система – пропанол : этилацетат : вода (5:1:3); В - система – бензол : метанол (1 : 1)

Антибиотик алтиомицин установлен в суспензии штамма *S. carpaticus* RCAM04697 (Rf=0,0205) с помощью системы этанол:вода (4:1). С помощью элюирующей системы хлороформ:метанол (95:5) в суспензии штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 и *N. umidischolae* RCAM04883 выделен антибиотик нарбомицин (Rf=0,1222), в водно-спиртовом экстракте 20:80 штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 (Rf 0,0795) идентифицирован антибиотик тилозин, в водно-спиртовом экстракте 50:50 штамма *N. umidischolae* RCAM04883 выявлен антибиотик форомацидин С (Rf=1,0667). Антибиотик эритромицин установлен в суспензии штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 с помощью метанола, показатель Rf=0,1666. С помощью системы бензол:метанол (1:1) в экстрактах (водно-спиртовый штамма *N. umidischolae* RCAM04882, метанольный штамма *N. umidischolae* RCAM04883) определен фенол – протокатеховый альдегид.

Таким образом, ТСХ исследуемых штаммов свидетельствует о присутствии ряда веществ, обладающих ценными биотехнологическими свойствами, большая часть из

которых обладает бактериостатическими и бактерицидными свойствами. Производные пиридина (γ -пиридинкарбоновая кислота, α - пиридинкарбоновая кислота) проявляют выраженные авитаминоподобные свойства. Их используют в качестве сырья для получения ценных противотуберкулезных препаратов, а также в производстве гербицидов (Строев, 1986). Аминокислота оксипролин содержится в коллагене и поэтому часто встречается во многих желатиновых продуктах. Используется в качестве диагностического маркера обмена костной ткани и фиброза печени (Brinckmann et al., 2005).

Антибиотик алтиомицин используется как цитостатический препарат в терапии некоторых онкологических заболеваний и является первым антибиотиком, у которого обнаружена противоопухолевая активность (Овчинников, 1987). Антибиотик нарбомицин обладает бактерицидной активностью, но у некоторых микроорганизмов к нему проявляется устойчивость (Шемякин, 1961). Антибиотик форомацидин С обладает бактериостатическим и бактерицидным действиями. Он эффективен в отношении стрептококков, стафилококков и возбудителей анаэробной инфекции, преимущественно активен против грамположительных бактерий. По литературным данным микроорганизмы практически не развивают устойчивость к данному антибиотику (Прохоров, 1978). Антибиотик тилозин обладает широким спектром действия против грамположительных бактерий, включая стафилококки, стрептококки, коринебактерии. Показано, что он активен в отношении *Campylobacter coli*, некоторых спирохет и микоплазм (Хирш и др., 1999).

Эритромицин является бактериостатическим антибиотиком, спектр действия которого включает грамположительные микроорганизмы: *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus anthracis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium minutissimum*; грамотрицательные микроорганизмы: *Campylobacter jejuni*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Bordetella pertussis*, *Haemophilus influenzae*, *Brucella spp.*, *Legionella pneumophila* и другие микроорганизмы: *Treponema spp.*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Entamoeba histolytica*, *Chlamydia trachomatis*, *Rickettsia spp.*, *Listeria monocytogenes* (Ющук и др., 2012). Протокатеховый альдегид — один из простейших представителей полифенолов, который обладает антиоксидантными свойствами (Hackman et al., 1948).

3.5.3. Исследование компонентного состава метаболитов штаммов актиномицетов методом ВЭЖХ

Методом ВЭЖХ исследовали компонентный состав водно-спиртовых экстрактов трех штаммов. Исследование компонентного состава метаболитов методом ВЭЖХ штамма *N. umidischolae* RCAM04882 свидетельствует о наличии органических кислот: фумаровая, яблочная, молочная, изолимонная, уксусная, лимонная.

Органические кислоты, выявленные при хроматографии штамма *N. umidischolae* RCAM04883 следующие: уксусная, изолимонная, молочная, фумаровая (Григорян и др., 2020). Результаты изучения штамма *S. carpaticus* RCAM04697 данным методом выявили кислоты: изолимонная, уксусная, фумаровая, молочная, пировиноградная, яблочная (рис. 19).

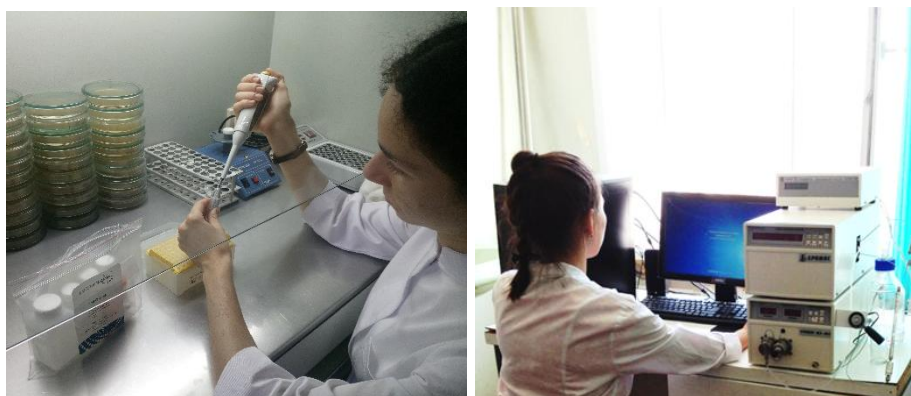


Рисунок 19 – Определение органических кислот в водно-спиртовых экстрактах трех исследуемых штаммов методом ВЭЖХ (ориг., 2019)

При проведении ВЭЖХ водно-спиртовых экстрактов бактерий штамма *N. umidischolae* RCAM04882 из шести органических кислот, выявленных в результате анализа, наибольшее содержание составила уксусная кислота – от 0,337 г/л до 51,448 г/л, которая выявлена в трех концентрациях водно-спиртового экстракта (табл. 15).

Таблица 15 - Органические кислоты водно-спиртовых экстрактов штамма *N. umidischolae* RCAM04882

№ п/п	Тривиальное Название	Название по ИЮПАК	Содержание, г/л		
			конц. 20:80	конц. 80:20	конц. 50:50
1	Изолимонная кислота	1-гидрокси-1,2,3-пропантрикарбоновая кислота	0,460	-	-
2	Уксусная кислота	этановая кислота	51,448	14,392	0,337
3	Фумаровая кислота	транс-бутендиовая кислота	0,001	0,002	0,001
4	Яблочная кислота	2-гидроксипропановая кислота	-	0,029	-
5	Молочная кислота	2-гидроксипропановая кислота	-	0,168	-
6	Лимонная кислота	2-гидрокси-1,2,3-пропантрикарбоновая кислота	-	0,003	-

Уксусная кислота - одноосновная карбоновая кислота, которая обладает мощными антиоксидантными и противомикробными свойствами (Goldwhite, 2003). Фумаровая кислота также выявлена в трех концентрациях водно-спиртовых экстрактов с содержанием от 0,001 г/л до 0,002 г/л. Она вызывает ускоренное образование АТФ, способствует накоплению питательных веществ и аскорбиновой кислоты, а также является одним из главных антиоксидантов. Данная кислота, являясь транс-изомером, характеризуется антисептическими и бактерицидными свойствами (Milas, 1943).

Изолимонная кислота обнаружена в водно-спиртовом экстракте (20:80) с содержанием 0,460 г/л. Изолимонная кислота относится к группе регуляторов энергетического обмена веществ, обладает антистрессовыми, антигипоксическими и антиоксидантными свойствами (Комов и др., 2004). За счет окислительно-восстановительных реакций, процессов дыхания и синтеза АТФ кислота стимулирует адаптивные и компенсаторно-защитные возможности, активизирует физиологические функции органов и тканей. Кроме того, ВЭЖХ водно-спиртового экстракта (80:20) показала присутствие яблочной (0,029 г/л), молочной (0,168 г/л) и лимонной (0,003 г/л) кислот (Григорян и др., 2020).

По результатам ВЭЖХ водно-спиртовых экстрактов штамма *N. umidischolae* RCAM04883 установлено наличие четырех органических кислот (табл. 16).

Таблица 16 - Органические кислоты водно-спиртовых экстрактов штамма *N. umidischolae* RCAM04883

№ п/п	Тривиальное название	Название по ИЮПАК	Содержание, г/л		
			конц. 20:80	конц. 80:20	конц. 50:50
1	Изолимонная кислота	1-гидрокси-1,2,3-пропантрикарбоновая кислота	0,449	-	-
2	Уксусная кислота	этановая кислота	-	-	0,337
3	Фумаровая кислота	транс-бутендиовая кислота	0,001	0,001	0,001
4	Молочная кислота	2-гидроксипропановая кислота	-	0,184	-

Наибольшим содержанием обладала изолимонная кислота (0,449 г/л), которая выявлена в водно-спиртовом экстракте (20:80). Наименьшее содержание фумаровой кислоты (0,001 г/л) зафиксировано во всех трех концентрациях водно-спиртового экстракта. Уксусная кислота с содержанием 0,337 г/л установлена в водно-спиртовом экстракте (50:50), а молочная кислота в водно-спиртовом экстракте (80:20) и составила 0,184 г/л (Григорян и др., 2020).

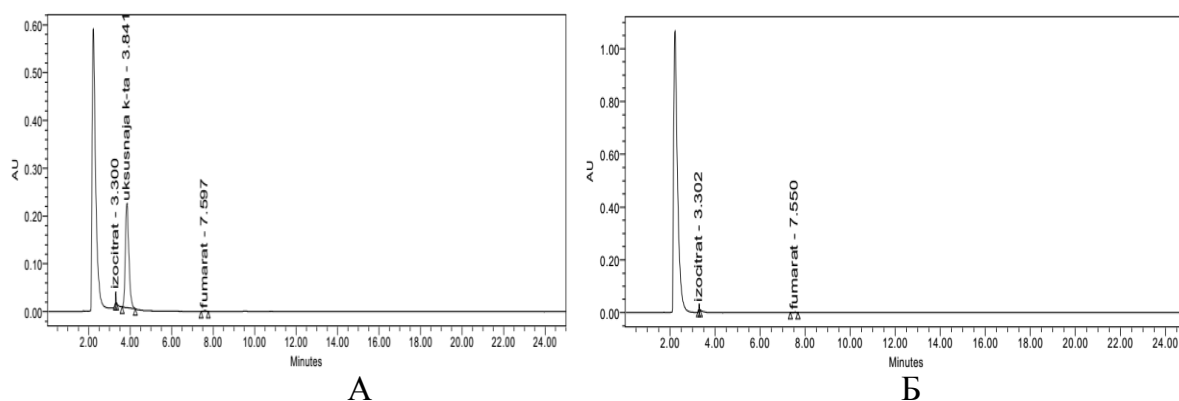
По результатам высокоэффективной жидкостной хроматографии водно-спиртовых экстрактов штамма *S. carpathicus* RCAM04697 установлено наличие шести органических кислот (табл. 17).

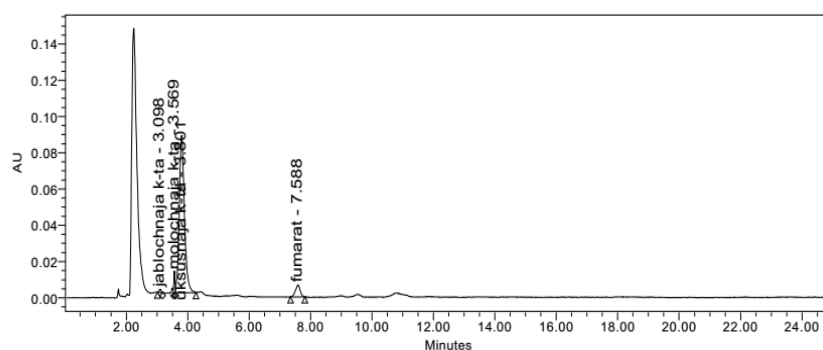
Таблица 17 - Органические кислоты водно-спиртовых экстрактов штамма *S. carpathicus* RCAM04697

№ п/п	Тривиальное название	Название по ИЮПАК	Содержание, г/л		
			20:80	80:20	50:50
1	Изолимонная кислота	1-гидрокси-1,2,3-пропантрикарбоновая кислота	-	0,484	-
2	Уксусная кислота	этановая кислота	20,395	19,443	21,277
3	Фумаровая кислота	транс-бутендиовая кислота	0,004	0,004	0,004
4	Молочная кислота	2-гидроксипропановая кислота	0,270	-	-
5	Пировиноградная кислота	2-оксопропановая кислота	-	0,082	-
6	Яблочная кислота	2-гидроксипропановая кислота	0,063	-	0,009

В наибольшем количестве обнаружена уксусная кислота, присутствие которой зафиксировано в трех вариантах водно-спиртовых экстрактов: водно-спиртовой экстракт (20:80) – 20,395 г/л; водно-спиртовой экстракт (80:20) – 19,443 г/л; водно-спиртовой экстракт (50:50) – 21,277 г/л. Наименьшее содержание органических кислот, которые представлены фумаровой кислотой выявлено также во всех вариантах водно-спиртовых экстрактов и составило 0,004 г/л, соответственно. Изолимонная кислота с содержанием 0,484 г/л обнаружена в водно-спиртовом экстракте (80:20), в котором также установлено присутствие пировиноградной кислоты (0,082 г/л). Молочная кислота зафиксирована в водно-спиртовом экстракте (20:80), ее содержание составило 0,270 г/л. Яблочная кислота присутствовала в двух образцах: водно-спиртовой экстракт (20:80) с содержанием 0,063 г/л и водно-спиртовой экстракт (50:50) с содержанием 0,009 г/л.

ВЭЖХ водно-спиртовых экстрактов (20:80) выявила идентичные органические кислоты: у трех штаммов – фумаровая, у двух штаммов – изолимонная (рис. 20).



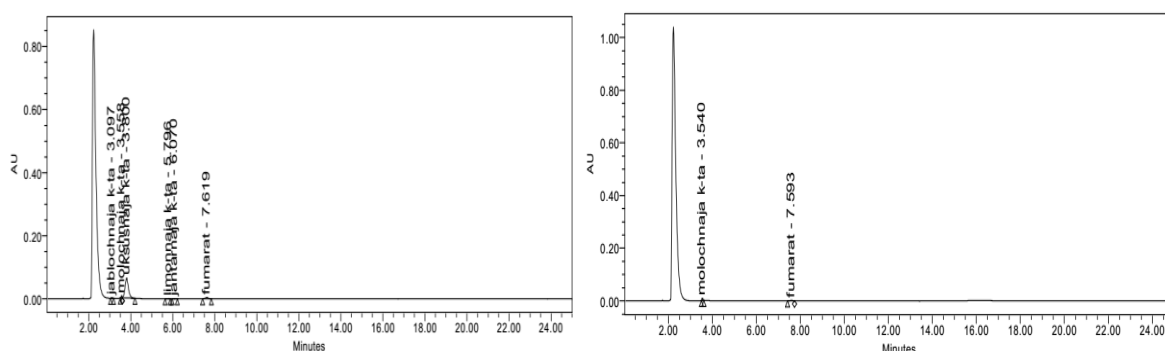


В

Рисунок 20 - ВЭЖХ водно-спиртовых экстрактов (20:80): А - *N. umidischolae* RCAM04882, Б - *N. umidischolae* RCAM04883, В - *S. carpaticus* RCAM04697

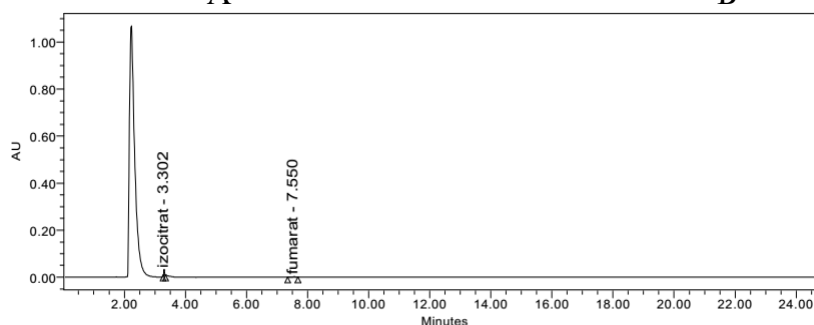
Отметим, что кроме данных кислот изучение водно-спиртового экстракта (20:80) *N. umidischolae* RCAM04882 выявило наличие уксусной кислоты с самым большим содержанием (51,448 г/л). Изолимонная кислота – трикарбоновая кислота, обладающая высокой антиоксидантной активностью (Комов и др., 2004).

Исследование водно-спиртовых экстрактов (80:20) показало присутствие одинаковых органических кислот, в двух штаммах (*N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883) - молочная и в трех штаммах - фумаровая (рис. 21).



А

Б



В

Рисунок 21 - ВЭЖХ водно-спиртовых экстрактов (80:20): А - *N. umidischolae* RCAM04882, Б - *N. umidischolae* RCAM04883, В - *S. carpaticus* RCAM04697

Следует отметить, что ВЭЖХ водно-спиртового экстракта штамма *N. umidischolae* RCAM04882 за исключением представленных выше кислот, выявила присутствие: уксусной (14,392 г/л), яблочной (0,029 г/л), лимонной (0,003 г/л).

Результаты ВЭЖХ водно-спиртового экстракта (50:50) свидетельствуют о получении идентичных результатов при исследовании трех штаммов актиномицетов. Установлено наличие уксусной и фумаровой кислот (рис. 22).

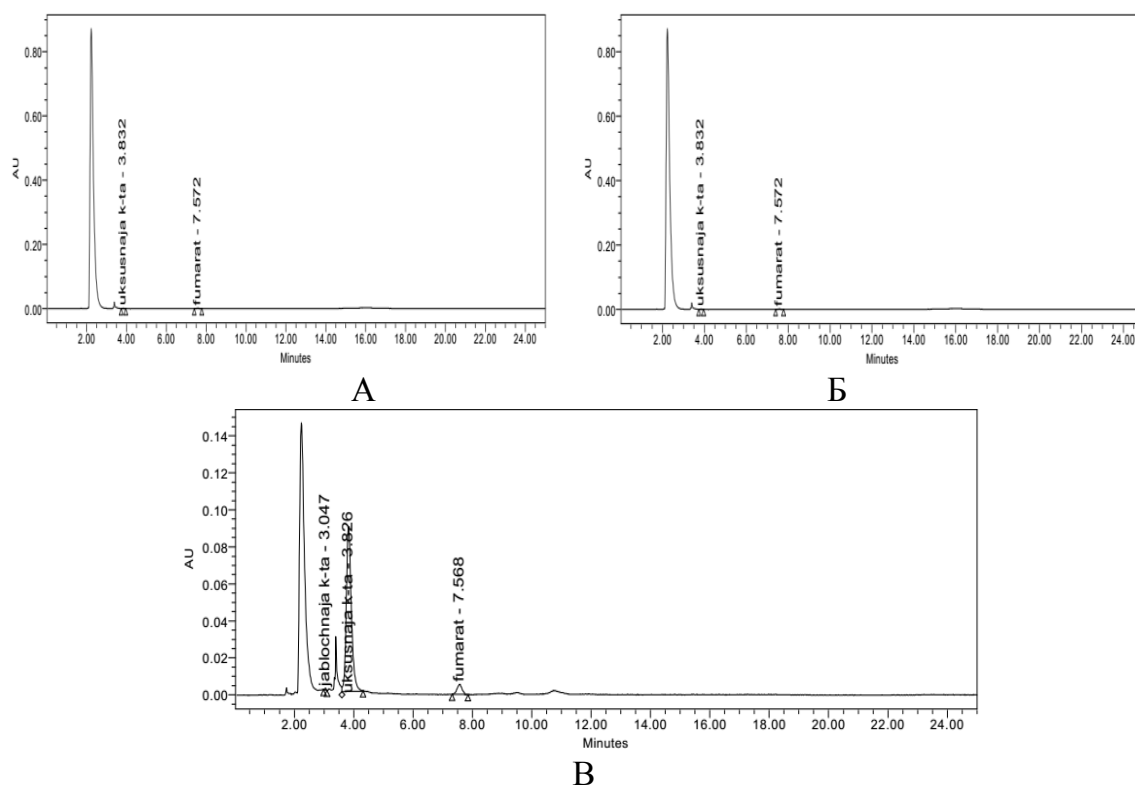


Рисунок 22 - ВЭЖХ водно-спиртовых экстрактов (50:50): А - *N. umidischolae* RCAM04882, Б - *N. umidischolae* RCAM04883, В - *S. carpaticus* RCAM04697

Молочная кислота, или лактат, представляет собой особый элемент, входящий в карбоновую группу и отличается выраженными антибактериальными свойствами (Lamb et al., 2006). В группу карбоновых кислот входит также лимонная, способная ингибировать окисление (Apelblat, 2014). Яблочная кислота отличается высокими бактерицидными свойствами (Нейланд, 1990). В результате исследований в наибольшем количестве у штаммов *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883, *S. carpaticus* RCAM04697 обнаружены уксусная, изолимонная и молочная кислоты. Исследования Zinn М.-К. с соавторами (2020) показали, что уксусная кислота в концентрациях 5%, 7,5% и 10% обладает противовирусным эффектом.

3.5.4. Исследование компонентного состава метаболитов штамма *S. carpaticus* RCAM04697 методами ГХ и МС

Штамм *S. carpaticus* RCAM04697 обладает наиболее выраженными противовирусными, фунгицидными и ростостимулирующими свойствами, в связи с чем,

выбран для более детального исследования компонентного состава метаболитов (рис. 23).



Рисунок 23 – Суспензия и сухая биомасса штамма *S. carpaticus* RCAM04697 для приготовления экстрактов с целью изучения химического состава метаболитов методами ГХ/МС (ориг., 2019)

ГХ/МС анализ показал наличие в составе вторичных метаболитов - спиртов, альдегидов, углеводов, эфиров, сульфатов и других групп НОС, что согласуется с результатами других исследователей и представлениями о стрептомицетах, как о продуцентах биологически активных метаболитов (Bereziuk et al., 2017).

Обнаружено, что именно в гексановом экстракте штамма *S. carpaticus* RCAM04697 содержалось максимальное количество метаболитов – 13 НОС, в метанольном – минимальное – 3 НОС.

В наибольшем количестве обнаружено соединение этил 5-(пиридин-4-ил)-1Н-пиразол-3-карбоксилат (57,8%) 0,00174 мг/г сухого вещества в метанольном экстракте. По данным Karrouchi K. с соавторами вещества, содержащие пиразол, характеризуются противовирусными, противомикробными и противоопухолевыми свойствами (Karrouchi et al., 2018). Противовирусные свойства штамма *S. carpaticus* RCAM04697 исследованы нами ранее в полевых опытах на томатах и картофеле и показали высокую эффективность (Григорян и др., 2019). В метанольном экстракте обнаружены еще два НОС, которых нет в других экстрактах и суспензии: метилпальмитат (15,9%), который находит применение в качестве эмульгатора и стабилизатора эмульсий (Lewis et al., 1993); метиловый эфир 8-октадеценовой кислоты (26,2%), содержащийся в эфирных маслах цитрусовых (табл. 18).

Таблица 18 - Состав экзогенных метаболитов суспензии и экстрактов штамма *S. carpaticus* RCAM04697

№ п/п	Вещество (в скобках IUPAC имя)/формула	LRI*	Гексано-вый экстракт		Водно- спиртовый экстракт (50:50)		Метаноль- ный экстракт		Суспензия	
			%	С	%	С	%	С	%	С
1	2-метилпентан-2,4-диол (2-methylpentane-2,4-diol)/ C ₆ H ₁₄ O ₂	912	20,69	1,05	18,01	0,78	-	-	23,20	1,12
2	3-гексилгидропероксид (3-hydroperoxyhexane)/ C ₆ H ₁₄ O ₂	950	-	-	-	-	-	-	8,91	0,43
3	3-бутенилпентильный эфир (1-but-3- enoxypentane)/ C ₉ H ₁₈ O	967	19,49	0,99	15,59	0,68	-	-	32,17	1,55
4	2-этилгексанол (2- ethylhexan-1-ol)/ C ₈ H ₁₈ O	1056	7,43	0,38	-	-	-	-	-	-
5	5-оксогексил ацетат (5- Oxohexyl acetate)/C ₈ H ₁₄ O ₃	1088	-	-	-	-	-	-	7,67	0,37
6	1-додеканол (dodecan-1- ol)/ C ₁₂ H ₂₆ O	1481	4,69	0,24	10,25	0,45	-	-	3,64	0,17
7	неидентифицированное m/z ?[M+], 97 (100)	1724	6,86	0,35	17,42	0,76	-	-	12,26	0,59
8	2,6,10,14- тетраметилпентадекан [пристан] (2,6,10,14- tetramethylpentadecane)/ C ₁₉ H ₄₀	1728	3,57	0,18	-	-	-	-	-	-
9	неидентифицированное m/z ?[M+], 253 (100)	1787	8,80	0,45	6,19	0,27	-	-	5,17	0,25
10	октадекан (octadecane)/ C ₁₈ H ₃₈	1800	2,27	0,12	3,52	0,15	-	-	0,84	0,04
11	2,6,10,14- тетраметилгексадекан [фитан] (2,6,10,14- tetramethylhexadecane)/ C ₂₀ H ₄₂	1804	3,46	0,18	-	-	-	-	-	-
12	изопропилмиристит (propan-2-yl tetradecanoate)/ C ₁₇ H ₃₄ O ₂	1822	7,15	0,36	10,27	0,45	-	-	5,32	0,26
13	метилпальмитат (methyl hexadecanoate)/ C ₁₇ H ₃₄ O ₂	1929	-	-	-	-	15,9	0,48	-	-
14	8-октадеценал ((E)- octadec-8-enal)/ C ₁₈ H ₃₄ O	2011	2,51	0,13	-	-	-	-	0,84	0,04
15	метильный эфир 8- октадеценовой кислоты (methyl octadec-8-enoate)/ C ₁₉ H ₃₆ O ₂	2078	-	-	-	-	26,2	0,79	-	-
16	тетракозан (tetracosane)/ C ₂₄ H ₅₀	2400	7,55	0,38	-	-	-	-	-	-
17	этил 5-(пиридин-4-ил) - 1Н-пиразол-3-карбоксилат (ethyl 3-pyridin-4-yl-1Н- pyrazole-5-carboxylate)/	2409	-	-	-	-	57,8	1,74	-	-

	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₂									
18	бензол, 1,1'-[2-метил-2-(фенилтио)циклопропилен]бис-((1-метил-2,2-дифенилциклопропил)сульфан)бензол)/ C ₂₂ H ₂₀ S	2567	-	-	18,75	0,82	-	-	-	-
19	2-метилпентокозан (2-methylpentacosane)/ C ₂₆ H ₅₄	2583	5,53	0,28	-	-	-	-	-	-
Всего:			100,0	5,1	100,0	4,4	100,0	4,8	100,0	3,0

Примечание: * – линейный индекс удерживания; % - доля соединения среди всех НОС; С – концентрация соединения в экстракте, мкг/г сухого вещества

Мажорными метаболитами в суспензии, в гексановом и водно-спиртовом экстрактах оказались 3-бутенилпентиловый эфир и 2-метилпентан-2,4-диол (1,2-гександиол). Содержание в суспензии составило 32,17 и 23,2%, в гексановом экстракте – 19,49 и 20,69% и в водно-спиртовом экстракте (50:50) – 15,59 и 18,01% соответственно. 1,2-гександиол обладает бактерицидными, фунгицидными антисептическими свойствами, его используют как консервант, сурфактант, эмульгатор, растворитель, увлажнитель в косметических средствах (Lide et al., 1994; <https://kosmokis.ru/ingredients/12-hexanediol>). В то же время, это соединение не может быть отнесено к опасным приоритетным веществам как для человека, так и для окружающей среды (<https://www.epa.gov/sites/production/files/2019>).

Фунгицидная активность штамма *S. carpaticus* RCAM04697 описана в патенте на изобретение (Григорян и др., 2019). 1-Додеканол, выявленный в гексановом (4,69%), водно-спиртовом (50:50) (10,25%) экстрактах, суспензии (3,64%) и пристан, выявленный в гексановом экстракте (3,57%) входят в состав феромонов, половых аттрактантов и сурфактантов для контроля численности насекомых-вредителей (Никольский, 1966). Комплекс феромонов на основе 1-додеканола высвобождается в виде паров со всей поверхности в течение всего сезона.

Октадекан, обнаруженный в гексановом и водно-спиртовом (50:50) экстрактах и суспензии, является бактериальным и растительным метаболитом. Изопропилмирилат в суспензии составил 5,32%, а в гексановом экстракте – 7,15%, в водно-спиртовом (50:50) – 10,27%. Изопропилмирилат - представляет собой сложный эфир жирной кислоты. Он используется в качестве пестицида против блох, клещей, вшей, который растворяет воск, покрывающий экзоскелет вшей (Lide et al., 1994). 8-Октадеценал,

содержащийся в гексановом экстракте и суспензии, используют в качестве стабилизатора, загустителя и регулятора вязкости.

В водно-спиртовом экстракте (50:50) штамма *S. carpaticus* RCAM04697 обнаружено 8 НОС, из которых 2 – неидентифицированных. Среди 8 соединений наибольшее процентное содержание от общего объема экстракта приходится на бензол,1,1'-[2-метил-2-фенилтио)циклопропилиден]бис- (18,75%). Возможные биологические активности данного соединения не изучены.

2-Этилгексанол обнаружен только в гексановом экстракте и составил 7,43%. 2-Этилгексанол – соединение, относящееся к классу спиртов, которое может оказывать нервно-паралитическое действие в отношении людей (Ernstgard, 2010). Тетракозан (7,55%) идентифицирован в гексановом экстракте и является составляющим компонентом экстрактов, полученных из различных органов растений (Нишанбаев и др., 2019).

2-Метилпентокозан, выявленный в гексановом экстракте, используется в качестве растворителя и промежуточного продукта при производстве химических веществ (Гейн и др., 2014). 3-Гексилгидропероксид выявлен лишь в суспензии (8,91%) и применяется в качестве окислителя в препаративном синтезе.

Распределение по группам НОС суспензии и экстрактов штамма *S. carpaticus* RCAM04697 показало: присутствие во всех вариантах эфиров; присутствие спиртов и углеводов во всех образцах, за исключением метанольного; альдегиды представлены в гексановом экстракте и суспензии; сульфаты установлены только в водно-спиртовом экстракте (50:50) (табл. 19).

Таблица 19 - Группы веществ, выявленные при исследовании экзогенных метаболитов штамма *S. carpaticus* RCAM04697

№ п/п	Группы веществ	Относительное количество, %	Концентрация мг/г сухого вещества
1.	Суспензия		
2.	Спирты	26,84	0,00129
3.	Альдегиды	0,84	0,00004
4.	Углеводороды	0,84	0,00004
5.	Эфиры	37,49	0,00180
6.	Неидентифицированные вещества	17,43	0,00084
7.	Различные функциональные группы	16,57	0,00080
8.	ВСЕГО	100,00	0,0048
9.	Водно-спиртовой экстракт (50:50)		
10.	Спирты	28,26	0,00123
11.	Углеводороды	3,52	0,00015

12.	Эфиры	25,86	0,00113
13.	Неидентифицированные вещества	23,61	0,00103
14.	Сульфаты	18,75	0,00082
15.	ВСЕГО	100,00	0,0044
16.	Гексановый экстракт		
17.	Спирты	32,81	0,00167
18.	Альдегиды	2,51	0,00013
19.	Углеводороды	22,37	0,00114
20.	Эфиры	26,65	0,00136
21.	Неидентифицированные вещества	15,66	0,00080
22.	ВСЕГО	100,00	0,0051
23.	Метанольный экстракт		
24.	Эфиры	42,18	0,00127
25.	Различные функциональные группы	57,82	0,00174
26.	ВСЕГО	100,00	0,0030

При всех вариантах экстракции в составе НОС преобладали спирты и эфиры. Мажорными метаболитами в суспензии, в гексановом и водно-спиртовом (50:50) экстрактах являлись 3-бутенилпентиловый эфир и 2-метилпентан-2,4-диол (1,2-гександиол). Содержание в суспензии составило 32,17% и 23,2%, в гексановом экстракте - 19,49% и 20,69% и в водно-спиртовом экстракте (50:50) - 15,59% и 18,91% соответственно.

Соединение 1,2-гександиол обладает широким антимикробным спектром действия, нарушает потенциал цитоплазматической мембраны и эффективен против как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Данное вещество характеризуется фунгицидными свойствами, его используют как консервант, сурфактант, эмульгатор (Lide et al., 1994). 1,2-гександиол характеризуется антисептическими свойствами, применяется в качестве смягчающего агента и увлажнителя (<https://kosmokis.ru/ingredients/12-hexanediol>).

Распределение по группам НОС суспензии и экстрактов штамма *S. carpaticus* RCAM04697 показало: присутствие во всех вариантах эфиров; присутствие спиртов и углеводов во всех образцах, за исключением метанольного; альдегиды представлены в гексановом экстракте и суспензии; сульфаты установлены только в водно-спиртовом экстракте (50:50). Как показали исследования, выявленные вещества обладают ценными с сельскохозяйственной точки зрения свойствами: противовирусными, противомикробными и противоопухолевыми (этил 5-(пиридин-4-ил) - 1H-пиразол-3-карбоксилат); бактерицидными, фунгицидными и антисептическими

свойствами (1,2-гександиол); инсектоакарицидными (изопропилмиририлат). 1-додеканол входит в состав феромонов, половых аттрактантов и сурфактантов для контроля численности насекомых-вредителей.

Синтез одновременно нескольких вторичных метаболитов, обладающих различной биологической активностью определяет многофункциональность штамма *S. carpaticus* RCAM04697 и перспективу его использования в производстве новых биопрепаратов. Следует отметить, что выявленные метаболиты подтверждают полученные нами ранее сведения о том, что суспензия и экстракты (гексановый, водно-спиртовой (50:50), метанольный) штамма *S. carpaticus* RCAM04697 могут быть использованы в качестве основы для создания биологических средств защиты растений, обладающих высокой биологической эффективностью с инсектицидными, акарицидными, фунгицидными, бактерицидными свойствами.

Обнаруженные метаболиты широкого спектра действия штамма *S. carpaticus* RCAM04697, по-видимому, влияют на способность стрептомицетов к хорошей выживаемости и высокой конкурентоспособности в различных экологических нишах – почве, растениях и семенах.

Считаем необходимым продолжить исследования в области изучения свойств метаболитов актиномицетов, в частности, стрептомицетов, в связи с необходимостью расшифровки эколого-биохимических механизмов их существования, характеризующихся большим потенциалом в различных отраслях промышленности, а особенно в области экологических агротехнологий.

3.5.5. Заключение по разделу 3.5.

Выявленные метаболиты подтверждают полученные нами ранее сведения о том, что суспензия и экстракты (гексановый, водно-спиртовой (50:50), метанольный) штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 могут быть использованы в качестве основы для создания биологических средств защиты растений, обладающих высокой биологической эффективностью в качестве противовирусных средств, фунгицидов, фитостимуляторов и антиоксидантов в агроэкосистемах.

3.6. Получение экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

3.6.1. Оптимизация состава питательных сред и условий глубинного культивирования с целью получения биомассы и антимикробных метаболитов

Для оценки технологических возможностей штаммов RCAM04697, RCAM04882, RCAM04883 проводили анализ роста на картофельной среде, крахмально-казеиновой среде, среде Гаузе №2, оценивая концентрацию клеток в суспензии и оптическую плотность (Гаузе и др., 1983; Астафьева и др., 2015).

Полученные в результате спектрального анализа УФ – спектры штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 имеют максимум поглощения от 323 до 356 нм, что свидетельствует о возможном наличии полиенового антибиотика из группы пентаенов (Поляк и др., 2017). Полиеновые антибиотики отвечают за высокую фунгицидную и бактерицидную активности штаммов актиномицетов (Щетинин, 2000; Стецюк и др., 2011). В связи с этим, подбор оптимальной среды для культивирования штаммов проведен при длине волны 340 нм.

Анализ антагонистической активности штаммов RCAM04697, RCAM04882, RCAM04883 по отношению друг к другу методом штриха показал ее отсутствие. Штаммы культивировали при температуре 28°C и непрерывном перемешивании (120 об/мин). В качестве контроля использовали соответствующие стерильные жидкие питательные среды. Титр клеток в суспензиях выявляли путем посева суспензий на аналогичные плотные питательные среды, на которых их культивировали и определением количества клеток в камере Горяева (Звягинцев, 1991; Нетрусов и др., 2005). Учет данных фиксировали через каждые 24 часа в течение 8 суток. Оказалось, что именно на третьи сутки культивирования установлено наибольшее значение оптической плотности во всех анализируемых средах.

Максимальная продуктивность штамма *S. carpaticus* RCAM04697 установлена на картофельной среде ($8,6 \cdot 10^9$ КОЕ/мл) на третьи сутки культивирования (рис. 24 В). Титр клеток данного штамма на среде Гаузе №2 оказался самым низким из исследуемых сред и составил $0,094 \cdot 10^9$ КОЕ/мл (72 ч) (рис. 24 Б). Количество клеток на крахмально-казеиновой среде не превышало $0,85 \cdot 10^9$ КОЕ/мл (72 ч) (рис. 24 А).

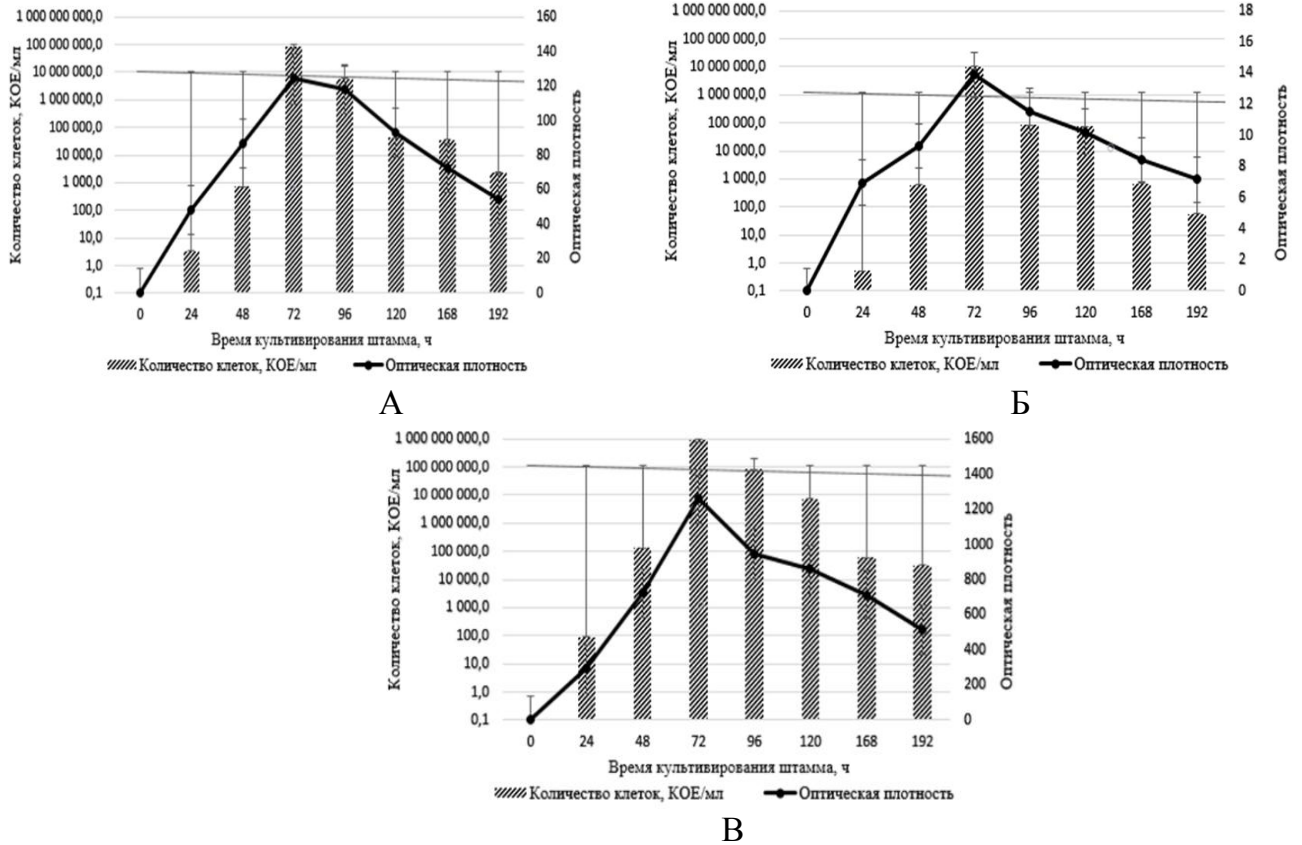
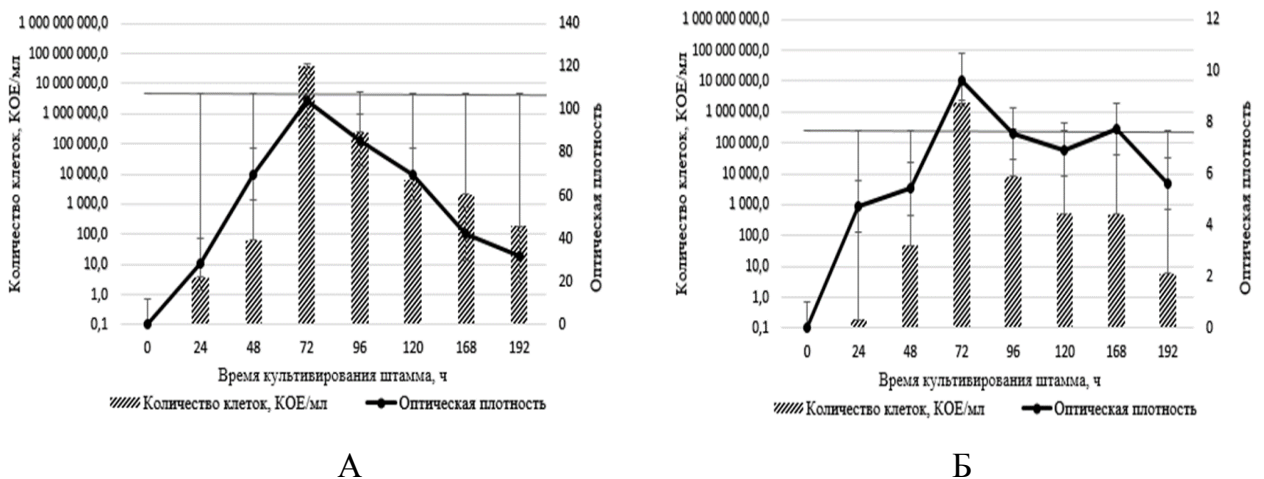
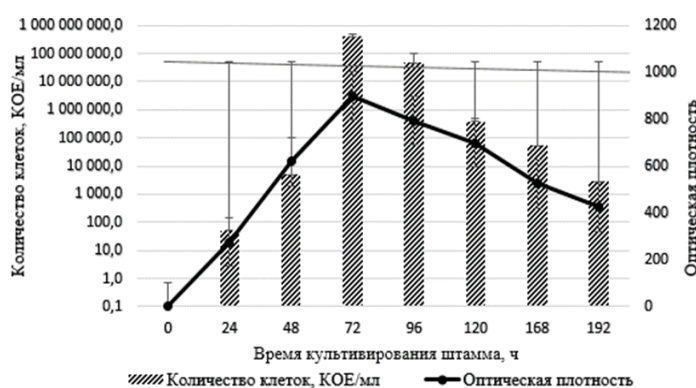


Рисунок 24 – Продуктивность штамма *S. carpaticus* RCAM04697 при культивировании на жидких питательных средах: А - крахмально-казеиновая среда, Б - среда Гаузе №2, В - картофельная среда

Наибольшая продуктивность штамма *N. umidischolae* RCAM04882 установлена на картофельной среде ($4,2 \cdot 10^9$ КОЕ/мл) на третьи сутки культивирования (рис. 25 В). Концентрация клеток данного штамма на среде Гаузе №2 оказалась самой низкой из исследуемых сред и составила $0,021 \cdot 10^9$ КОЕ/мл (72 ч) (рис. 25 Б). Количество клеток на крахмально-казеиновой среде не превышало $0,39 \cdot 10^9$ КОЕ/мл (72 ч) (рис. 25 А).

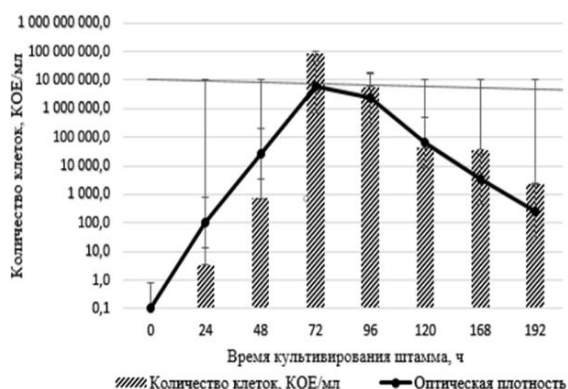




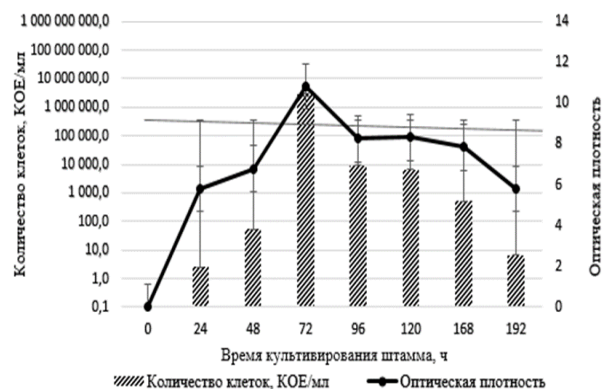
В

Рисунок 25 – Продуктивность штамма *N. umidischolae* RCAM04882 при культивировании на жидких питательных средах: А - крахмально-казеиновая среда, Б - среда Гаузе №2, В - картофельная среда

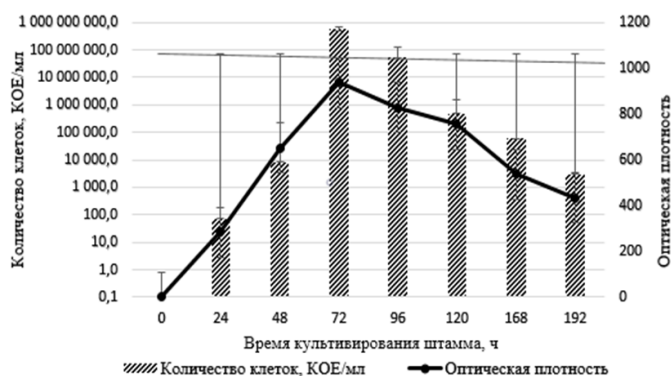
Высокая продуктивность штамма *N. umidischolae* RCAM04883 установлена на картофельной среде ($5,8 \cdot 10^9$ КОЕ/мл) на трети сутки культивирования (рис. 26 В). Титр клеток данного штамма на среде Гаузе №2 имел наименьшее значение и составил $0,027 \cdot 10^9$ КОЕ/мл (72 ч) (рис. 26 Б). Концентрация клеток на крахмально-казеиновой среде не превышала $0,54 \cdot 10^9$ КОЕ/мл (72 ч) (рис. 26 А).



А



Б



В

Рисунок 26 – Продуктивность штамма *N. umidischolae* RCAM04883 при культивировании на жидких питательных средах: А - крахмально-казеиновая среда, Б - среда Гаузе №2, В - картофельная среда

Оптимальную температуру для синтеза биомассы штаммов, равную плюс 28⁰С, определяли по максимальной удельной скорости роста. Процесс культивирования контролировали отбором промежуточных и заключительных проб, подсчетом концентрации клеток и определением оптической плотности. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что картофельная среда является наиболее подходящей для культивирования штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883. На этой среде при плюс 28⁰С через 72 часа культивирования титр клеток составляет 10⁹ КОЕ/мл, что соответствует концентрации клеток в коммерческих биопрепаратах.

По результатам проведенных исследований предложили 1 рецептуру питательной среды (картофельная среда) для глубинного культивирования продуцентов в вихревом биореакторе (БИОК-022) для наработки биомассы и максимального получения метаболитов штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883. Для приготовления картофельной среды тщательно вымывали клубни картофеля, очищали от кожуры, глазков и снова вымывали. 200 г мелко нарезанного картофеля заливали 1 литром водопроводной воды и кипятили 30 минут. Отвар фильтровали через ватно-марлевые фильтры и разливали в сосуды для культивирования. Среду стерилизовали 30 минут при 1,5 атмосферах (рН = 7,0) (Нетрусов и др., 2005).

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что суспензии штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 с активными противовирусными, фунгицидными, фитостимулирующими и антиоксидантными свойствами можно получить через 72 часа культивирования на картофельной среде, при этом титр клеток составляет 10⁹ КОЕ/мл.

3.6.2. Изготовление экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

Комплексную схему изготовления экспериментальных образцов биопрепаратов на основе предлагаемых продуцентов можно представить следующим образом: штаммы *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 и (каждый по отдельности) выращиваются в вихревом биореакторе (БИОК-022) на

картофельной среде (рН = 7,0) при температуре плюс 28°C в течение 72 часов при равномерном перемешивании и постоянной аэрации. Далее в полученные суспензии (живые клетки, споры и продукты метаболизма) с титром клеток 10^9 КОЕ/мл в качестве загустителя добавляется карбоксиметилцеллюлоза (Роговин, 1974) в количестве 1%. Данные растворы являются концентрированными экспериментальными образцами биопрепаратов (рис. 27).

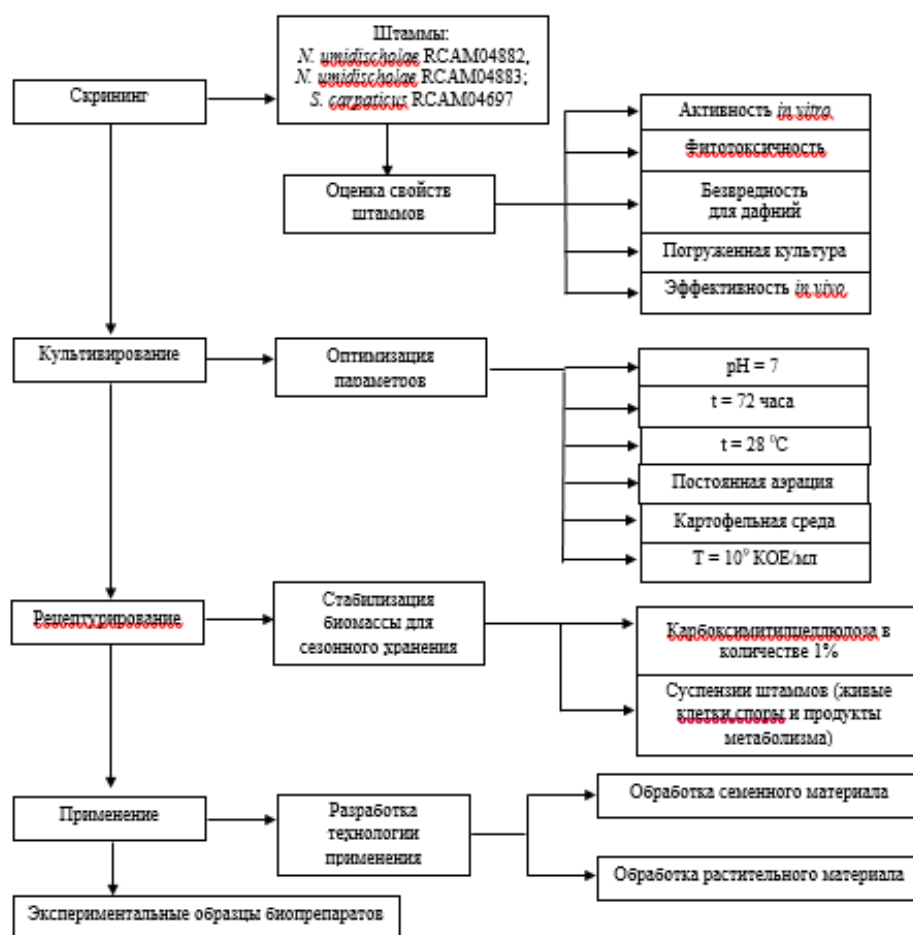


Рисунок 27 - Технологическая схема получения экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883

Схема получения экспериментальных образцов на основе штаммов позволяет получать бактериальные препараты в любой микробиологической лаборатории при минимальных производственных затратах. Среда для выращивания не содержит дефицитных субстратов, что способствует удешевлению и доступности производства.

Предложенную технологию использовали при разработке инструкции по применению экспериментальных образцов средств защиты растений на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae*

RCAM04883, обладающих фитостимулирующими, противовирусными, фунгицидными и антиоксидантными свойствами. По данной технологии изготовили экспериментальные образцы биопрепаратов для полевых испытаний (приложение 6).

3.6.3. Заключение по разделу 3.6.

Предложены состав питательной среды и условия культивирования штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 с целью получения биомассы и синтеза антимикробных метаболитов. Разработана технологическая схема получения экспериментальных образцов биопрепаратов.

3.7. Исследование фитостимулирующей и противовирусной активностей экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 в полевых опытах

3.7.1. Исследование фитостимулирующей и противовирусной активностей экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 в полевом опыте на томатах

Полевой опыт на томатах сорта Ажур F1 проводили в 5 вариантах: контроль 1 – без обработок, контроль 2 - с обработкой коммерческим биопрепаратом Лепидоцид СК (эталон), 3 варианта с обработкой экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 (приложение 7).

После первой обработки (замачивание семян) контрольные растения взошли на 8-10 день, семена, обработанные экспериментальными образцами биопрепаратов, на 5-7 день (16 марта). Полная всхожесть во всех вариантах опыта зафиксирована 28 марта (табл. 20).

Таблица 20 - Всхожесть семян томата Ажур F1

Вариант	Среднее количество проросших семян, %	
	через 7 суток	через 14 суток
Контроль 1 (без обработок)	11,7±1,7*	52,3±1,2
Контроль 2 (эталон)	15,7±3,4	60,3±0,9
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	48,3±1,7*	86,7±0,9
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04882	40,0±5,0	71,7±6,0
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04883	31,7±3,3	70,0±5,0

Примечание: * - различия с контролем достоверны при $p \leq 0,05$

Полученные данные свидетельствуют о том, что на 14 сутки высокая всхожесть выявлена в варианте с обработкой экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 (86,7%), низкая - в контрольных вариантах (контроль 1, контроль 2) и составила, 52,3% и 60,3%, соответственно (Григорян и др., 2021).

Перед пикированием рассады, когда большая часть растений достигла фазы 2-4 листьев, 5 апреля проведен подсчет количества листьев и длины стебля (табл. 21).

Таблица 21 - Биометрические показатели растений томата Ажур F1 в фазу 2-4 настоящих листьев

Вариант	Средняя длина стебля, см	% растений в фазе развития		
		2-го настоящего листа	3-го настоящего листа	4-го настоящего листа
Контроль 1 (без обработок)	8,3±0,3	100	0	0
Контроль 2 (эталон)	9,0±0,6	20	80	0
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	19,3±0,3	0	0	100
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04882	16,0±0,6	0	15	85
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04883	16,7±0,3	0	10	90

Примечание: * - различия с контролем достоверны при $p \leq 0,05$

Анализ данных показал, что растения, обработанные экспериментальными образцами биопрепаратов, опережали контрольные растения по фазам развития. Таким образом, растения в контроле находились в стадии 2-х (контроль 1 – 100%, контроль 2 – 20%) и 3-х настоящих листьев (контроль 2 – 80%), в то время как опытные растения на

100% перешли в фазу 4-го настоящего листа. Исключение составили варианты с обработкой экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 и *N. umidischolae* RCAM04883, в которых часть растений оставалась в стадии 3-х настоящих листьев (15% и 10%, соответственно).

Максимальная длина стебля обнаружена в варианте с обработкой экспериментальным образцом биопрепарата на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697 (19,3 см), наименьшая - в контрольных вариантах (контроль 1, контроль 2) и составила, 8,3 см и 9,0 см, соответственно. Длина стебля растений в остальных вариантах выше 16,0 см. Пикирование рассады проведено 12 апреля при наступлении фазы - первых настоящих листьев. Высадка рассады проводилась 11 мая вручную в подготовленные лунки во второй половине дня, когда температура почвы достигла плюс 18°C.

Вторая обработка, при которой корневую систему рассады погружали в экспериментальные образцы биопрепаратов, проведена перед высадкой в открытый грунт на стадии 4-6 настоящих листьев. В контроле 1 растения погружали в водопроводную воду, в контроле 2 – в раствор препарата Лепидоцида на 20 минут.

На испытательном участке применялось капельное орошение с режимом полива 1 раз в 7 дней с нормой - 20-30 л воды на 1 м² (рис. 28).



Рисунок 28 - Развитие томатов, обработанных экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 на испытательном участке (ориг., 2016)

Третья и четвертая обработки проведены в стадии активного роста растений в виде пролива под корень экспериментальными образцами на основе актиномицетов. В опытных вариантах и контроле 2 (эталон) пролив проведен 6 мая и 24 июня.

Обработку растений методом опрыскивания экспериментальными образцами в опытных вариантах и биопрепаратом Лепидоцид в варианте - контроль 2 (эталон)

осуществляли 18 мая (пятая обработка), 29 июня (шестая обработка) и 6 июля (седьмая обработка).

Стадия бутонизации на томатах опытного участка отмечена в вариантах с обработкой экспериментальными образцами актиномицетов 29 мая. Массовая бутонизация и цветение наблюдались 4 июня. В это время определяли длину стебля, количество побегов, количество бутонов и цветков (рис. 29).

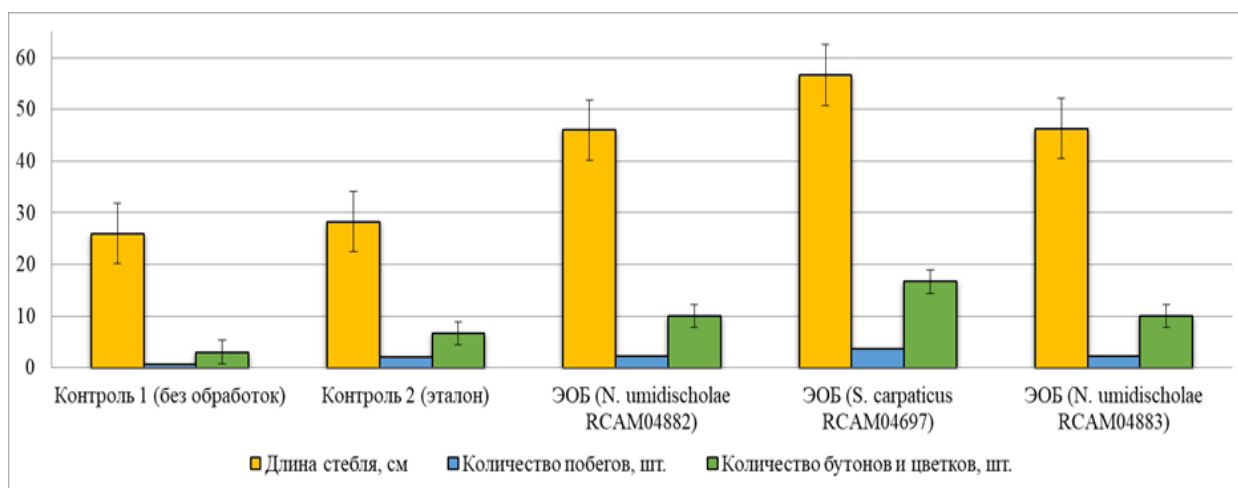


Рисунок 29 - Биометрические показатели растений томата Ажур F1 в стадии бутонизации и цветения*

Примечание: * - ЭОБ - экспериментальный образец биопрепарата

По полученным данным установлено, что в стадии бутонизации биометрические показатели растений, обработанных суспензией, резко отличаются от контрольных вариантов даже визуально. Такой же результат наблюдался в фазу 2-4 настоящих листьев. Максимальная длина стебля зафиксирована в вариантах с обработкой экспериментальным образцом биопрепарата на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697 (56,7 см), наименьшая - в контрольных вариантах (контроль 1, контроль 2) и составила, 26,0 см и 28,3 см, соответственно.

Длина стебля растений в остальных вариантах выше 46,0 см. Кроме того, количество побегов и бутонов (цветков) в 2-4 раза превосходило в образцах томата, обработанного экспериментальными образцами биопрепаратов, по сравнению с контрольными (контроль 1, контроль 2) вариантами.

В конце плодоношения во время уборки испытательного участка 19 сентября проводили измерения биомассы растений и длины корня (табл. 22).

Таблица 22 - Биометрические показатели растений томата Ажур F1 во время уборки урожая (конец плодоношения)

Вариант	Длина корня, см	Биомасса растения, кг
Контроль 1 (без обработок)	40,0±2,9	1,2±0
Контроль 2 (эталон)	41,7±3,3	1,7±0,1
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	83,7±1,8	2,5±0,1
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04882	56,0±0,6	2,1±0,1
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04883	53,3±1,7*	2,1±0,1

Примечание: * - различия с контролем достоверны при $p \leq 0,05$

В результате обработки полученных данных, максимальная длина корня на стадии окончания плодоношения выявлена в вариантах с обработкой экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 (83,7 см), наименьшая - в контрольных вариантах (контроль 1, контроль 2) и составила, 40,0 см и 41,7 см, соответственно (Таблица 8).

Длина корня растений в остальных вариантах выше 53,3 см. Самыми массивными и крупными оказались кусты томата в тех вариантах, где обнаружена наибольшая длина корня - обработка экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 (2,5 кг), а самые угнетенные и слабые кусты встречались среди контрольных образцов.

Следовательно, обработка экспериментальными образцами биопрепаратов на основе актиномицетов оказывает фитостимулирующее воздействие на томаты во всех вариантах опыта.

Определение фунгицидной активности экспериментальных образцов биопрепаратов проведено после второго пролива под корень – 29 июня (табл. 23).

Таблица 23 - Численность микромицетов р. *Fusarium* и р. *Alternaria* в ризосферной почве и распространенность болезней, вызываемых ими

Вариант опыта	% растений с симптомами фузариоза	Титр микроорганизмов рода <i>Fusarium</i> в ризосферной почве, КОЕ/г	% растений с симптомами альтернариоза	Титр микроорганизмов рода <i>Alternaria</i> в ризосферной почве, КОЕ/г
Контроль 1 (без обработок)	15	10^5	10	10^6
Контроль 2 (эталон)	10	10^4	5	10^6
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	0	10^2	0	10^2
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04882	0	10^2	2	10^2
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04883	0	10^2	3	10^2

В контроле количество растений с симптомами фузариоза и альтернариоза составляет 15% и 10%, соответственно. У растений, обработанных экспериментальными образцами биопрепаратов, симптомы данных болезней отсутствуют, а титр микроорганизмов р. *Fusarium* и р. *Alternaria* в ризосферной почве на 2 порядка ниже, чем в контроле и эталоне, что свидетельствует о высокой фунгицидной активности исследуемых прототипов биопрепаратов.

В 2016 г. погодные условия являлись благоприятными для развития вирусных болезней сельскохозяйственных культур. Со второй декады июля установилась умеренно жаркая погода, что способствовало распространению вирусных болезней. Инсектицидные обработки снижали численность и вредоносность тли, что не позволило так же массово распространиться вирусной инфекции. По результатам обследований основные очаги вирусной инфекции томата фиксировались в контрольных вариантах (контроль 1, контроль 2). Единичные случаи проявления вирусных болезней встречались на томатах обработанных экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 и *N. umidischolae* RCAM04883. Для уточнения видового состава вирусной инфекции, возможных переносчиков и резерваторов, проводился отбор образцов с симптомами вирусносительства (Григорян, 2013). Инфекционность заболевания доказана путем заражения растения - хозяина - томата сорта Новичок и *N. debney*, на котором наблюдалась системная мозаика разной

суровости и деформация листьев.

Для определения видового состава вирусной инфекции заражен набор индикаторов: *N. glutinosa*, *N. sylvestris*, *N. tabacum* V. Samsun 959, *N. debney*, *D. stramonium*, *L. esculentum*, *C. sativus*, *C. digitata*. На 3-5 день на *N. glutinosa*, *D. stramonium*, образовались местные некрозы на инокулированных листьях. На 10-14 день на *N. tabacum* V. Samsun 959 наблюдалась системная мозаика.

Индикаторный метод показал наличие в данных образцах вируса мозаики табака. При заражении растения-индикатора *N. sylvestris* через 4-5 дней образовались местные некрозы, что говорит о присутствии томатного штамма ВТМ (ВМТо). На 18-21 день на *N. glutinosa* и *D. stramonium*, кроме местных некрозов, наблюдалась системная мозаика. На томате (сорт Новичок) и *N. tabacum* V. Samsun 959, заражения которых провели инокулюмом с растения – индикатора – *N. glutinosa*, на 35-36 день симптомы носили системный характер в виде мозаики и деформации листьев. В наших опытах на растениях-индикаторах наблюдались следующие симптомы: на *N. glutinosa* отмечена волнистая деформация листьев, а на *D. stramonium* – системная мозаика, поэтому мы отнесли исследуемый штамм ВОМ к группе «DS» (Григорян, 2013).

Таким образом, в результате проведенной идентификации отобранных образцов с опытного участка на томате Ажур F₁ обнаружены три возбудителя вирусной инфекции – ВОМ, ВБТ и ВМТо (рис. 30). Интенсивность проявления данных вирусов в контрольных вариантах, носила эпифитотийный характер. Однако в опытных вариантах также встречались очаги вирусной инфекции: обработка экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 (8% ВОМ и 2% ВТМ), *N. umidischolae* RCAM04883 (10% ВОМ и 3% ВТМ).



Рисунок 30 - Симптомы вирусной инфекции на томате Ажур F₁ (контроль 1) (ориг., 2016)

По данным фитосанитарного мониторинга и расчетам фенологии вредителей в целом по области, проведенных на базе филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по АО, погодные условия зимнего период 2015-2016 гг. являлись удовлетворительными для развития и распространения насекомых-вредителей томата. На овощные культуры залёт тлей начался с 25 апреля. Вторая волна зафиксирована 20 мая с распространением 45-50%. В течение сезона лёт тли являлся массовым. Заселение паутинным клещом на томатах отмечено с 1 июня в численности 1 балл с распространением до 5%.

На территории области повсеместное распространение имела хлопковая совка. Яйцекладка 1 поколения проходила на ранних томатах. Отрождение гусениц первого поколения началось 8 июня. Развивались они на ранних томатах с единичным повреждением цветов и завязи в численности 0,5 – 3 экз./м². После массового отрождения гусениц 2 поколения - 9 июля вредоносность усилилась, а численность достигала от 1 до 5 экз./м². Массовое отрождение гусениц хлопковой совки 3-го поколения началось с 3 августа.

В ходе очередного фитосанитарного мониторинга на испытательном участке (после третьей обработки – опрыскивание) проведен сбор насекомых-вредителей для дальнейшего определения видового состава.

Всего отобрано 55 образцов вредных членистоногих. Вредители, которые зафиксированы на ловушках (желтая клеевая, синяя клеевая, ловушка Мерики) также подвергались идентификации (табл. 24).

Таблица 24 - Видовой состав и численность вредных членистоногих на опытном участке

№	Вариант	Вид	Численность особей, шт.
1	Контроль 1 (без обработок)	бахчевая тля <i>A. gossypii</i> Glover.	185,0±4,9
		бобовая тля <i>A. fabae</i> Black	64,0±1,5
		паутинный клещ <i>T. urticae</i>	270,0±0,3
		люцерновая тля <i>A. crassivora</i> Koch.	97,0±2,2*
		табачный трипс <i>Thrips tabaci</i> Lind.	56,0±1,7*
		черноусый трипс <i>T. nigropilosus</i> Uz.	20,0±2,5
		хлопковая совка <i>Heliothis armigera</i> Hbn.	15,0±0,9
2	Контроль 2 (эталон)	бахчевая тля <i>A. gossypii</i> Glover.	22,7±1,4
		паутинный клещ <i>T. urticae</i>	10,0±0,2

		табачный трипс <i>T. tabaci</i> Lind.	30,0±2,5
		хлопковая совка <i>H. armigera</i> Hbn.	5,0±1,6
3	Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	не обнаружено	-
4	Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04882	бахчевая тля <i>A. gossypii</i> Glover.	6,7±0,3
5	Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04883	бахчевая тля <i>A. gossypii</i> Glover.	6,8±0,9

Примечание: * - различия с контролем достоверны при $p \leq 0,05$

Установлено, что основные виды фитофагов принадлежат к отрядам *Homoptera*, *Thysanoptera* и *Lepidoptera*. Все идентифицированные виды, обнаруженные на опытном участке - полифаги, повреждающие широкий спектр культурных и сорных растений, которые являются переносчиками болезней растений, в частности, вирусной природы (Григорян, 2013). Сопутствующий состав насекомых представлен паутиным клещом *T. urticae* и трипсом *T. tabaci*.

При подсчете численности вредителей выявлено, что в варианте без внесения удобрений и пестицидов (контроль 1) распространенность насекомых значительна. В контроле 2 (эталон) - количество насекомых существенно меньше, чем в контроле 1. Кроме того, отсутствуют такие вредители, как *T. nigropilosus*, *A. crassivora*, *A. fabae*. В вариантах с обработками экспериментальными образцами биопрепаратов наблюдалась значительная гибель насекомых. Однако в вариантах, обработанных экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 и *N. umidischolae* RCAM04883 встречались единичные особи *A. gossypii*.

В связи с тем, что тли – являются основными переносчиками вирусной инфекции на посадках томата, после трех обработок проведен более детальный учет численности имаго тлей на опытном участке. В вариантах с обработкой экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882 и *N. umidischolae* RCAM04883 особи тлей и паутиного клеща после третьей обработки не зафиксированы, что свидетельствует о высокой инсектоакарицидной активности прототипов биопрепаратов. Инсектоакарицидная активность в контрольном варианте №2 (эталон), отличалась от активности в опытных

вариантах и составила 72,5%, хотя эффект действия препарата Лепидоцид на насекомых сходен и основан на контактно-кишечном действии. Установлено, что после третьей инсектоакарицидной обработки максимальная инсектоакарицидная активность (100%) наблюдалась в вариантах с обработками экспериментальными образцами актиномицетов на основе трех исследуемых штаммов. Наименьшая инсектоакарицидная активность наблюдалась при обработке биопрепаратом Лепидоцид в контроле 2 (эталон) и составила 72,5%. Инсектоакарицидная активность при обработке экспериментальными образцами биопрепаратов являлась достаточно высокой и варьировала от 89,5% до 95,5% (Григорян и др., 2021).

Анализ литературных данных показал, что во всем мире учеными интенсивно исследуются антагонистические свойства актиномицетов по отношению к насекомым, которые зарекомендовали себя, как эффективные средства борьбы с вредными членистоногими (Анисимова, 2008). Для них характерна низкая токсичность, специфичность, а также способность к деградации в естественных круговоротах веществ, что позволяет не нарушать природное равновесие при их использовании (Сухорученко и др., 1990; Агансонова и др., 2000; Назарова и др., 2017; Жадамбаа, 2019). По мнению авторов, разнообразие химической природы бактерий обуславливает низкую степень адаптации к ним вредных насекомых (Дорофеева, 2002; Климова, 2002, Долженко, 2009).

В ходе проведения фитосанитарного мониторинга через 5 суток после третьей обработки методом опрыскивания (11 июля) использован экспресс-метод диагностики болезней томата на иммунострипах для выявления и подтверждения визуальной идентификации бактериальных, грибных и вирусных фитопатогенов (табл. 25).

Таблица 25 - Изучение влияния обработок на возбудителей болезней томата Ажур F1 методом ИХА на иммунострипах

Вариант	Распространенность возбудителей болезней, % (11 июля)						
	альтер нариоз	фитоф тороз	черная бактеральная пятнистость	ВОМ	ВМТо	ВБТ	столбур
Контроль 1 (без обработок)	19	8	3	50	10	5	5
Контроль 2 (эталон)	15	5	2	40	28	6	4
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	0	0	0	0	0	0	0

Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04882	2	3	4	5	6	7	8
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04883	0	0	0	0	0	0	0

Результаты ИХА на иммунострипах свидетельствуют о присутствии на опытном участке вирусных (ВОМ, ВМТо, ВБТ), бактериальных (черная бактериальная пятнистость), грибных (альтернариоз, фитофтороз), а также фитоплазменных (столбур) патогенов. Первые проявления альтернариоза на листьях отмечены во второй половине июня. Болезнь отмечалась в виде единичных пятен на листьях нижнего и среднего ярусов; на стеблях и плодах - не выявлена. Альтернариоз на опытном участке установлен в контрольных вариантах - контроль 1 (19%), контроль 2 (15%) и при обработке экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *N. umidischolae* RCAM04882 (2%).

Проявление черной бактериальной пятнистости зафиксировано в середине июля, в дальнейшем в отсутствии достаточного количества влаги интенсивность распространения и развития проходила умеренно. Очаги черной бактериальной пятнистости выявлены в контроле 1 (3%), контроле 2 (2%) и при обработке экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *N. umidischolae* RCAM04882 (4%). Фитофтороз не имел хозяйственного значения на опытном участке. Вредоносность болезни отмечалась в контроле 1, контроле 2 с распространением 8% и 5%, соответственно, и при обработке экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *N. umidischolae* RCAM04882 (3%). Отсутствие осадков и высокие температуры июня и июля сдерживали развитие патогена. Столбур проявился 5–8 июля в контроле 1 (5%) и контроле 2 (4%). Пораженные растения встречались небольшими очагами в опытном варианте при обработке экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *N. umidischolae* RCAM04882 (8%). Характерные признаки данной болезни – повышение кустистости растений, разрастание, позеленение и стерильность цветков, образование воздушных корней на главном стебле. Листовые пластинки имели хлоротичную окраску, реже антоциановую, закрученную внутрь.

Идентификация вирусных патогенов подтвердила результаты индикаторного анализа, представленные выше. Интенсивность проявления вирусов ВОМ, ВМТо, ВБТ в

контрольных вариантах, носила эпифитотийный характер. В вариантах с обработкой экспериментальными образцами биопрепаратов на основе актиномицетов встречались единичные очаги вирусной инфекции, что подтверждает наличие противовирусного эффекта.

При обработке экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *N. umidischolae* RCAM04882 отмечена самая низкая активность относительно перечисленных болезней растений. В вариантах с обработкой экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697 и *N. umidischolae* RCAM04883 наблюдался полный ингибирующий эффект относительно всех болезней томатов, в том числе и вирусных.

В фазу созревания плодов отмечено, что плоды у растений, обработанных экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов актиномицетов, заметно больших размеров, чем у растений в контроле 1 и контроле 2. Таким образом, следует отметить, что обработка экспериментальными образцами биопрепаратов стимулирует процесс роста и развития растений. Сбор урожая на испытательном участке начался 11 июля. Дата последнего сбора урожая - 17 сентября. За весь период вегетации томата проведено 10 сборов: 11 июля, 23 июля, 29 июля, 5 августа, 13 августа, 20 августа, 27 августа, 3 сентября, 10 сентября, 17 сентября. Фитостимулирующее влияние обработок экспериментальными образцами биопрепаратов на основе актиномицетов на растения оценивали по увеличению урожайности томатов (табл. 26).

Таблица 26 - Влияние экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 на увеличение урожайности томата Ажур F1 на испытательном участке

Вариант	Урожайность, кг	
	с варианта	с куста
Контроль 1 (без обработок)	19,8±0,2	2,1±0,1
Контроль 2 (эталон)	32,2±0,4*	3,2±0,3
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	51,6±0,6	7,1±0,3
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04882	54,6±0,6	7,3±0,4
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>N. umidischolae</i> RCAM04883	49,1±0,7	6,5±0,2

Примечание: * - различия с контролем достоверны при $p \leq 0,05$

Разница урожайности в опытных и контрольных вариантах существенна. Наибольшая урожайность томата с варианта зафиксирована при обработке экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *N. umidischolae*

RCAM04882 (54,6 кг) и *S. carpaticus* RCAM04697 (51,6 кг). Урожайность томатов, обработанных экспериментальными образцами на основе актиномицетов, в остальных вариантах не превышала 49,1 кг. Наименьшая урожайность установлена в контрольном варианте без обработок (контроль 1) и составила 19,8 кг. Урожайность в опытных вариантах превышала контрольный №2 (эталон) на 3,2 - 22,4 кг.

Результаты, полученные при расчете урожайности томатов с куста, соответствуют данным, выявленным по урожайности с варианта: максимальная урожайность представлена при обработках экспериментальными образцами биопрепаратов на основе штаммов *N. umidischolae* RCAM04882 (7,3 кг) и *S. carpaticus* RCAM04697 (7,1 кг), минимальная – в контроле 1 (без обработок) и составила 2,1 кг. Урожайность с куста в варианте с обработкой экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *N. umidischolae* RCAM04882 составила 6,5 кг.

По нашему мнению, влияние экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 на фитопатогенные вирусы и грибы объясняется явлением антагонизма, который широко распространен в природных сообществах данных бактерий (Звягинцев и др., 2001). Чаще всего антагонисты действуют на конкурентов продуктами обмена веществ, включая антибиотики, либо вытесняют их вследствие более интенсивного размножения или преимущественного потребления питательных веществ (Гиляров, 1990). В структурном отношении вещества, угнетающие рост бактерий, находятся очень близко к веществам, стимулирующим их рост (Кожевин, 1989).

Кроме того, антагонизм оказывает большое влияние на плодородие почв. Обильно развиваясь в почве, полезные микробы-антагонисты задерживают развитие многих фитопатогенных бактерий и грибов и этим оздоравливают почву (Калакуцкий и др., 1984). Антагонисты участвуют в разложении крахмала, сахаров и других органических веществ, способствуют образованию гумуса (Мишустин, 1975).

Следует отметить, что экспериментальные образцы биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 оказывали положительное влияние на рост и развитие томата: повышали всхожесть, биомассу и урожайность растений. В связи с чем, считаем необходимым отнести данное взаимодействие к протокооперации (Нетрусов и др., 2004).

3.7.2. Исследование фитостимулирующей и противовирусной активностей экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 в полевом опыте на картофеле

Полевой опыт на картофеле сорта Ред Скарлетт представлен двумя вариантами: 1) обработка картофеля экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697; 2) контрольный участок без обработок. В полевом опыте оценивали влияние экспериментального образца биопрепарата на картофель сорта Ред Скарлетт (приложение 8).

Посадка картофеля на опытном участке произведена 10 июля 2017г. Первые всходы появились 28 июля 2017г. Результаты визуальных обследований посадок картофеля показали наличие достаточно ярко выраженных симптомов проявления вирусной инфекции. Среди симптомов, характеризующих присутствие вирусов на картофеле, выявлены: морщинистость и деформация листьев, недоразвитость растений, карликовость. После первой обработки – пролива под корень установлено, что в контрольном варианте распространенность вирусных болезней составила 65%, а в опытном – 30% (Григорян и др., 2018). Эффективность экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 составила 53,9% (табл. 27).

Таблица 27 - Биологическая эффективность экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 в отношении вирусных фитопатогенов на картофеле через пять дней после первого полива под корень

Вариант полива под корень, норма расхода	Дата обработки: 24.08.2017 г.	
	Распространение, %	Биологическая эффективность, %
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S.</i> <i>carpaticus</i> RCAM04697	30,0±1,7	53,9±3,3*
Контроль	65,0±0,5	0

Примечание: * - различия с контролем достоверны при $p \leq 0,05$

На посадках картофеля отобраны образцы с симптомами вирусносительства (морщинистость и деформация листьев, недоразвитость растений, карликовость).

В лабораторных условиях образцы картофеля с симптомами вирусной инфекции диагностированы методом растений-индикаторов (рис. 31).



Рисунок 31 - Растения-индикаторы на базе филиала (ориг., 2017)

После заражения на 12 день на *N. tabacum* v. *Samsun* 959 четко видны симптомы мозаичности листьев и некроза по жилкам. Проведен экспресс-метод ИХА на иммунострипах, а также ПЦР-анализ в режиме реального времени на микрочиповом амплификаторе AriaDNA. Таким образом, в результате фитосанитарного мониторинга посадок картофеля сорта Ред Скарлетт установлена степень пораженности растений вирусной инфекцией. Проведенные анализы показали присутствие на опытном участке поражения картофеля УВК.

В ходе исследования на испытательном участке на начальных этапах встречались яркие симптомы проявления вирусоносительства на посадках картофеля. На данные растения ставились маркировки для проведения строгого мониторинга во время учетов. Материал с симптомами проверяли на наличие вирусной инфекции визуальным, индикаторным, ИХА (иммунострипы) и ПЦР методами в лаборатории на базе филиала «Россельхозцентр». Среди возбудителей вирусной инфекции на картофеле на начальных этапах распространен УВК (рис. 32, 33).



Рисунок 32 - Картофель Ред Скарлетт (УВК, 65-80%) на контрольном участке (ориг., 2017)



Рисунок 33 - Симптомы вирусоносительства на опытном участке (ориг., 2017)

Первый результативный учет развития вирусных болезней проведен 29 августа 2017 г. При учетах после второй обработки 3 сентября 2017 г. на контрольном варианте распространение вирусных болезней увеличилось до 70,8% (табл. 28).

Таблица 28 - Биологическая эффективность экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 в отношении вирусных фитопатогенов на картофеле через пять дней после второй обработки – опрыскивание (учет 08.09.2017 г.)

Вариант полива под корень, норма расхода	Дата обработки: 03.09.2017 г.	
	Распространение, %	Биологическая эффективность, %
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S.</i> <i>carpaticus</i> RCAM04697	20,0±1,8*	71,8±3,5
Контроль	70,8±2,2	0

Примечание: * - различия с контролем достоверны при $p \leq 0,05$

Результаты второй обработки растений картофеля экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 методом опрыскивания свидетельствуют о повышении биологической эффективности до 71,8%.

При учете 18.09.2017 г. после третьей обработки (пролива под корень) в контрольном варианте распространение вирусных болезней увеличилось до 81,2% (табл. 29, рис. 34).

Таблица 29 - Биологическая эффективность экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 в отношении вирусных фитопатогенов на картофеле через пять дней после третьей обработки – пролив под корень (учет 18.09.2017 г.)

Вариант полива под корень, норма расхода	Дата обработки: 03.09.2017 г.	
	Распространение, %	Биологическая эффективность, %
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S.</i> <i>carpaticus</i> RCAM04697	10,0±1,2*	78,2±2,5
Контроль	81,2±0,9	0

Примечание: * - различия с контролем достоверны при $p \leq 0,05$

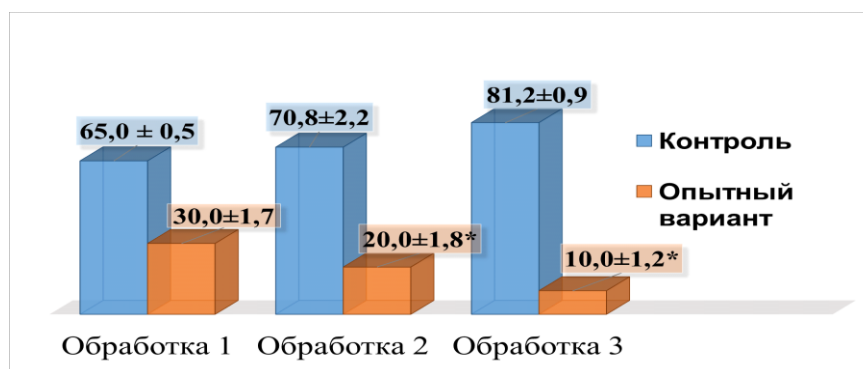


Рисунок 34 - Влияние экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 на распространение вирусных инфекций картофеля в полевом опыте, %

Выявлено, что биологическая эффективность при обработке экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 составила 78,2%. Кроме того, следует отметить, что по урожайности растения опытного варианта превосходили контрольные образцы. На обработанных делянках прибавка по валовой урожайности в опытных вариантах при норме расхода препарата 4 л/га составила 6,9 т/га (35,4%) (Григорян и др., 2018).

Прибавка урожайности товарного картофеля составила на вариантах с обработкой суспензией бактерий при норме расхода 4 л/га –7,6 т/га (47,2%). Биологическая эффективность экспериментального образца биопрепарата составила 77% (табл. 30).

Таблица 30 - Влияние экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 на урожайность картофеля

Вариант опыта	Урожайность, т/га	
	Валовая	Товарная
Экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма <i>S. carpaticus</i> RCAM04697	26,4 ± 2,4	23,7 ± 1,7
Контроль	19,5 ± 1,1	16,1 ± 0,8

Образцы картофеля с подозрением на скрытую зараженность вирусной инфекцией подвергались ПЦР-диагностике. Всего диагностировано 40 растительных образцов картофеля и 40 клубней. Учитывая то, что в опыте 2 варианта с четырехкратной повторностью – с каждой делянки (повторности) отбирались растительные образцы в количестве 5 шт., а также клубни в количестве 5 шт. В результате исследования использовано 80 микрочипов на РНК-содержащие фитопатогены. ПЦР-диагностика проводилась три раза через 5 дней после обработок (29.08.2017г., 08.09.2017г., 18.09.2017г.).

Анализ результатов проводили с помощью программного обеспечения микрочипового амплификатора нуклеиновых кислот в режиме реального времени «АриаДНА». В результате ПЦР – диагностики клубней картофеля во всех образцах установлено наличие вирусной инфекции (УВК) (табл. 31).

Таблица 31 - Результаты экспертизы картофеля методом ПЦР-диагностики через пять дней после каждой обработки

№ п/п	Варианты опыта	Пораженность картофеля, вирусными фитопатогенами, %							
		У-вирус	Х-вирус	М-вирус	А-вирус	С-вирус	Вирус скручивания	Вирус метельчатости	Вироид веретеновидности
после первой обработки – пролив под корень (учет 29.08.2017г.)									
1	Контроль	1,5	0	0	0	0	0	0	0
2	Экспериментальный образец биопрепарата	0,7	0	0	0	0	0	0	0
после второй обработки - опрыскивание (учет 08.09.2017 г.)									
3	Контроль	25,5	3,7	0	0	0	2,3	0	0
4	Экспериментальный образец биопрепарата	0,9	0	0	0	0	0	0	0
после третьей обработки пролив под корень (учет 18.09.2017 г.)									
5	Контроль	53,4	13,5	0	0	0	7,3	0	0
6	Экспериментальный образец биопрепарата	2,7	0	0	0	0	0	0	0

После первой обработки ПЦР-диагностика выявила лишь У-вирус картофеля, пораженность которым, в контроле превышает опытный вариант на 0,8%. Пораженность картофеля У-вирусом в контроле увеличилась в 17 раз. После опрыскивания помимо УВК обнаружен Х-вирус картофеля с пораженностью 3,7% и вирус скручивания с пораженностью 2,3%. Пораженность картофеля после второй обработки экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* РСАМ04697 оставалась на прежнем уровне и увеличилась лишь на 0,2%.

По результатам, полученным после третьей обработки, установлено, что в контрольном варианте увеличилась пораженность картофеля 3 вирусными фитопатогенами: У-вирус картофеля (53,4%), Х-вирус картофеля (13,5%) вирус скручивания (7,3%) (Григорян и др., 2019).

В варианте с обработкой экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 не обнаружена зараженность другими видами фитопатогенов, а пораженность У-вирусом картофеля составила 2,7%, что на 95% ниже, чем в контроле, что свидетельствует о сдерживании развития и распространения вирусных возбудителей, оказываемом экспериментальным образцом биопрепарата.

Таким образом, установлено, что применение экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697, особенно на ранних стадиях развития картофеля, может быть одним из эффективных, экологически безопасных приемов снижения вредоносности фитовирусов.

По нашему мнению, экспериментальный образец биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 способствует улучшению функциональных показателей зараженных вирусами растений за счет активного роста растений и увеличения площади ассимиляционной поверхности, как корней, так и надземной массы, что влияет на усвоение питательных веществ и интенсификацию процессов фотосинтеза. Кроме того, экспериментальный образец биопрепарата может содержать фитогормональные и антибиотические вещества, антивирусная активность которых обусловлена усилением экспрессии защитных генов, синтезом стрессовых белков, фитоалексинов и индуцированием системной резистентности растений к фитопатогенам или неблагоприятным факторам.

3.7.3. Заключение по разделу 3.7.

Проведенные испытания полученных экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 показали значительное снижение концентрации вируса, замедление развития вирус-индуцированных симптомов, уменьшение негативного влияния вирусной инфекции и, как следствие, улучшение физиологических показателей растений. Результаты антивирусной активности экспериментальных образцов биопрепаратов свидетельствуют об отрицательном действии на течение вирусной инфекции, и положительном влиянии на урожайность томатов и картофеля.

ВЫВОДЫ

1. Из засоленных почв выделен 21 штамм актиномицетов, из которых отобраны три фитостимулирующих штамма. Изучены их культурально-морфологические и биохимические свойства. Штаммы идентифицированы как *Streptomyces carpaticus*, *Nocardioopsis umidischolae*, *Nocardioopsis umidischolae*.
2. Суспензии и экстракты штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882 и *N. umidischolae* RCAM04883 безопасны и обладают антагонистической активностью по отношению к вирусным и грибным патогенам растений, что выражается в сдерживании развития вируса огуречной мозаики, вируса мозаики томата, вируса бронзовости томата, Y-вируса картофеля, X-вируса картофеля, вируса скручивания листьев картофеля и подавлении роста 12 фитопатогенных микромицетов относящихся к родам *Fusarium*, *Alternaria*, *Phoma*, *Colletotrichum*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Macrosporium*.
3. Выявлена антиоксидантная активность штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883. Наибольшую антиоксидантную активность проявили суспензия (88,8%) и водно-спиртовой экстракт (76,0%) штамма RCAM04697.
4. Штаммы *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 синтезируют флавоноиды, алкалоиды и гликозиды. Компонентный состав метаболитов водно-спиртовых экстрактов штаммов представлен органическими кислотами: изолимонная, уксусная, фумаровая, молочная, яблочная, лимонная, пировиноградная. Методом тонкослойной хроматографии выявлены: антибиотики нарбомицин, тилозин, форомацидин С, эритромицин; фенол – протокатеховый альдегид. Данные метаболиты обладают противовирусными и антибактериальными свойствами.
5. В составе вторичных метаболитов штамма *S. carpaticus* RCAM04697 с помощью метода газовой хроматографии и масс-спектрометрии обнаружены низкомолекулярные органические соединения следующих групп: спиртов, альдегидов, углеводов, эфиров, сульфатов и других функциональных групп. Обнаруженные в составе метаболитов соединения 1,2-гександиол, 1-додеканол этил 5-(пиридин-4-ил) - 1H-пиразол-3-карбоксилат характеризуются противовирусными, противомикробными и противоопухолевыми свойствами.

6. Синтез одновременно нескольких антимикробных метаболитов является основным механизмом антагонистического действия штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883.
7. Предложены состав питательной среды и условия культивирования штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 с целью получения биомассы и синтеза антимикробных метаболитов (флавоноиды, алкалоиды, гликозиды, производные пиридина (γ -пиридинкарбоновая кислота, α -пиридинкарбоновая кислота), аминокислота – оксипролин, антибиотики (алтиомицин, нарбомицин, тилозин, форомацидин С, эритромицин), фенол – протокатеховый альдегид, органические кислоты (изолимонная, уксусная, фумаровая, молочная, пировиноградная, яблочная), этил-5-(пиридин-4-ил)-1Н-пиразол-3-карбоксилат, метилпальмитат, метиловый эфир 8-октадеценовой кислоты, 1,2-гександиол, 1-додеканол). Разработаны технологическая схема получения и инструкция по применению экспериментальных образцов биопрепаратов на основе данных штаммов на томате и картофеле.
8. Экспериментальные образцы биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 стимулируют рост и развитие томата, обеспечивая достоверную прибавку урожайности относительно контроля (без обработок) до 175,8% и проявляют противовирусные свойства в отношении возбудителей вирусов огуречной мозаики, мозаики томата и бронзовости томата.
9. Обработка экспериментальным образцом биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 оказывает стимулирующее действие на рост и развитие картофеля, позволяя получить достоверную прибавку урожайности относительно контроля (без обработок) на 35,4%, при этом зараженность типичными для картофеля видами фитовирусов не обнаружена, а пораженность Y-вирусом картофеля составляет 2,7%.
10. На основании результатов проведенных испытаний штаммы *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 могут быть рекомендованы, как продуценты вторичных метаболитов, обладающих фитостимулирующими, противовирусными, антиоксидантными, фунгицидными свойствами, и могут быть использованы в качестве основы биопрепаратов для агроэкосистем.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

По итогам испытаний экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 на томате и картофеле может быть предложена следующая технология применения:

- замачивание семенного материала из расчета 1 л/10 кг семян на 20 минут;
- пролив под корень в фазу бутонизации растений с нормой расхода 4 л/га;
- опрыскивание в фазу плодоношения с нормой расхода 4 л/га.

Норма расхода экспериментальных образцов биопрепаратов – 4 л/га, а расход рабочей жидкости – 300 л/га.

Период защитного действия экспериментальных образцов биопрепаратов от болезней на культурах закрытого грунта составит 10-20 дней после обработки, а на культурах открытого грунта – 10-20 дней в зависимости от погодных условий и фитопатогенного фона.

На основании результатов полевых испытаний экспериментальные образцы биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883 могут быть рекомендованы для создания на их основе микробиологических средств защиты растений с противовирусными, фунгицидными, фитостимулирующими и антиоксидантными свойствами для повышения урожайности томата и картофеля.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Абушова, А.Р. Экологические особенности редких родов актиномицетов в почвах Азербайджана / А.Р. Абушова, С.А. Гасанова, М.А. Касимзаде // Вестник Днепропетровского университета. Биология. - 2010. - Т. 2. - №1. - С. 3-7.
2. Авраменко, С.В. Особенности биосинтеза хитинолитических ферментов культурой *Streptomyces griseus* VAR. *Streptomycini* / С.В. Авраменко, В.А. Галынкин // Прикладная биохимия и микробиология. - 2010. - Т. 46. - № 4. - С. 443–447.
3. Агансонова, Н.Е. Биологическое обоснование использования метаболитов актиномицетов против оранжерейной белокрылки / Н.Е. Агансонова, В.А. Павлюшин // Вестник защиты растений. Пушкин: ВИЗР. 2000. № 3. С. 20–28.
4. Актуганов, Г.Э. Биология развития актиномицетов / Г.Э. Актуганов, А.Р. Бикбаева. - М.: E-SCIO. - 2019. - №6 (33). – С. 577-580.
5. Алиева, А.А. Выделения актиномицетов из почв с использованием ультразвука / А.А. Алиева, Л.А. Гусейнова // Вестник Московского государственного областного университета. Серия: Естественные науки. - 2009. - №1. - С. 106–108.
6. Анисимова, О.С. *Streptomyces loidensis* и *Streptomyces herbaricolor* биологическое обоснование использования вторичных метаболитов для создания новых инсектоакарицидных биопрепаратов: автореф. дис. ... канд. биол. наук 03.00.02 / Анисимова, Оксана Сергеевна. - Санкт-Петербург, 2008. - 19 с.
7. Антипова, Л.В. Получение и характеристика комплексного препарата кератин расщепляющих протеаз актиномицета *Streptomyces fradiospiralis* ВКМ А-157 / Л.В. Антипова, Ч.Ю. Шамханов // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. - 2003. - № 4 (275). - С. 40–42.
8. Астафьева, О.В. Противомикробная активность выделенных биологически активных веществ и экстракта корня *Glycyrrhiza glabra* L. / О.В. Астафьева, Л.Т. Сухенко, М.А. Егоров // Химия растительного сырья. - 2015. - №3. - С. 261-263.
9. Астафьева, О.В. Практические занятия блока «Технология получения биологических активных веществ» дисциплины «Технология белка и БАВ» / О.В. Астафьева, А.С. Баймухамбетова. - А.: Астраханский государственный университет, 2015. - 51 с.
10. Ашихмина, Т.Я. Реакция актиномицетов на ключевые факторы урбаногенного загрязнения почвы в модельном опыте / Т.Я. Ашихмина, Е.С. Соловьёва, И.Г. Широких // Теоретическая и прикладная экология. - 2012. №2. - С. 98–104.

11. Бакулин, М.К. Характеристика антибиотической продуктивности бактерий рода *Streptomyces* при культивировании в среде с добавлением карбогала и перфторметилдекалина / М.К. Бакулин, А.С. Грудцына, А.Ю. Плетнева, А.С. Кучеренко, Л.В. Бакулина, В.В. Шведов // Биотехнология. - 2006. - №5. - С. 39–44.
12. Бакулин, В.М. Влияние перфтордекалина на рост актиномицетов и интенсификацию продукции стрептомицина и даунорубицина бактериями рода *Streptomyces* в технологии их глубинного культивирования / В.М. Бакулин, А.С. Туманов, Е.А. Мартинсон, С.Г. Литвинец, М.К. Бакулин, В.Б. Калининский // Антибиотики и химиотерапия. - 2014. - Т. 59. - №7, 8. - С. 3–7.
13. Бегматов, Ш.А. Морфологические особенности некоторых культивируемых бактерий засоленных почв Приаралья / Ш.А. Бегматов, О.В. Селицкая, Л.В. Васильева, Ю.Ю. Берестовская, Н.А. Манучарова, Н.В. Дренова // Почвоведение. - 2020. - № 1. - С. 81-88.
14. Белюченко, И.С. Значение актиномицетов в трансформации органического вещества в аграрных ландшафтах / И.С. Белюченко // Экологический вестник Северного Кавказа. - 2018. - №14 (1). - С. 38–44.
15. Бибилова, М.В. Штамм *Streptomyces sp.* 17 - продуцент олигомицина SC-II (характеристика продуцента, биологические свойства антибиотика) / М.В. Бибилова, Н.Э. Грамматикова, И.А. Спиридонова, А.Н. Даниленко, А.В. Катлинский // Антибиотики и химиотерапия. - 2012. - Т. 57. - №78. - С. 3–6.
16. Блинова, А.Л. Характеристика культурально-морфологических свойств стрептомицетов-антагонистов фитопатогенных грибов / А.Л. Блинова, И.Г. Широких // Экология родного края: проблемы и пути их решения. Материалы XV Всероссийской с международным участием научно-практической конференции. – Киров, 2020. – С. 30-34.
17. Бойкова, И.В. Актиномицеты - основа новых биопрепаратов для защиты растений от вредных членистоногих / И.В. Бойкова, В.А. Павлюшин // Информационный бюллетень ВПРС МОББ. - 2002. - №33. - С. 102–113.
18. Бойкова, И.В. Эффективность нового препарата на основе *Streptomyces sp.* ВИЗР-003 для борьбы с галловой нематодой / И.В. Бойкова, Л.А. Гуськова, А.Ю. Петров // Фитосанитарное оздоровление экосистем. Материалы Второго Всероссийского съезда по защите растений: в 2-х томах. - Санкт-Петербург. - 2005. - С. 14–18.

19. Бойкова, И.В. Индоцид и гербен - перспективные биопрепараты для закрытого грунта / И.В. Бойкова, Е.Г. Козлова, О.С. Анисимова, А.В. Кононенко // Защита и карантин растений. - 2007. - № 9. - С. 40-41.
20. Бойкова, И.В. Антибиотик немедицинского назначения имбрицин: биологическая активность, экологическая безопасность и перспективы использования для защиты растений / И.В. Бойкова, В.А. Колодязная, В.В. Белахов // Фитосанитарные технологии в обеспечении независимости и конкурентоспособности АПК России. Сборник тезисов докладов. – Санкт-Петербург, 2019. – 105 с.
21. Булгакова, В.Г. Устойчивость актиномицетов-продуцентов к собственным антибиотикам / В.Г. Булгакова, Т.И. Орлова, А.Н. Полин // Антибиотики и химиотерапия. - 2010. - Т. 55. - №1, 2. - С. 42–49.
22. Бунас, А.А. Антагонізм ізолятів роду *Streptomyces* до фітопатогенних грибів / А.А. Бунас, // Агроекологічний журнал. - 2011. - №4. - С. 95–96.
23. Бурцева, С.А. Эффект предпосевной обработки семян томатов метаболитами стрептомицетов почв Молдовы / С.А. Бурцева, Н.А. Пойрас, М.Н. Бырса, Л.Н. Пойрас // Биоразнообразие и рациональное использование природных ресурсов. Материалы II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - Махачкала, 2014. - С. 213–216.
24. Бурцева, С.А. Антагонизм бактерий р. *Bacillus* и р. *Streptomyces* почв Молдовы к возбудителям болезней сельскохозяйственных растений / С.А. Бурцева, В.Э. Шубина, М.Н. Бырса, Ю.Н. Березюк // Вестник защиты растений. - 2016. - №3. - С. 36–37.
25. Бурцева, С.А. Положение стрептомицетов в наземных экосистемах / С.А. Бурцева, М.Н. Бырса, В.Э. Шубина, Ю.Н. Березюк, А.В. Васильчук // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем Материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - Киров, 2016. - С. 346–350.
26. Бурцева, С.А. Антагонизм по отношению к фитопатогенным бактериям и грибам и фиторегулирующая активность стрептомицетов черноземов Молдовы / С.А. Бурцева, М.Н. Бырса, С.Н. Маслоброд // Аграрная наука. - 2019. - №1. - С. 131-136.
27. Валагурова, Е.В. Компьютерная программа STMID для идентификации видов стрептомицетов / Е.В. Валагурова, В.Е. Козырицкая, А.В. Путинский, Д.О.

- Махоткин // Вестник Одесского национального университета. Биология. - 2001. - Т. 6. - №4. - С. 47–49.
28. Виноградова, К.А. Биоплёнки стрептомицетов. II. Применение в биотехнологии / К.А. Виноградова, В.Г. Булгакова, А.Н. Полин, П.А. Кожевин // Антибиотики и химиотерапия. - 2016. - Т. 60. - №8. - С. 23-25.
29. Виноградова, К.А. Морфогенез, программируемая клеточная смерть и антибиотикобразование у стрептомицетов в условиях погруженного роста / К.А. Виноградова, С.Н. Филиппова, А.Н. Полин // Антибиотики и химиотерапия. - 2017. - Т. 62. - №7. - С. 56–68.
30. Власов, Ю.И. Растения – индикаторы для диагностики вирусов / Ю.И. Власов // Защита растений. - Санкт-Петербург. - 1960. - №3. - С. 49-50.
31. Гаузе, Г.Ф. Пути изыскания новых антибиотиков / Г.Ф. Гаузе. - М.: АН СССР, 1958. - 172 с.
32. Гаузе, Г.Ф. Определитель актиномицетов. Роды *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Chainia* / Г.Ф. Гаузе, Т.П. Преображенская, М.А. Свешникова, Л.П. Терехова, Т.С. Максимова. - М.: Наука, 1983. - 248 с.
33. Гейн, В.Л. Пермская государственная фармацевтическая академия. Новый синтез этил 6-амино-4-арил-5-циано-1,4-дигидропирано [2,3-с] пиразол-3-карбоксилатов / В.Л. Гейн, Т.М. Замараева, И.В. Козулина // Журнал органической химии. - 2014. - Т. 50. - №5. - С. 703-705.
34. Гиббс, А. Основы вирусологии растений / А. Гиббс, Б. Харрисон. - М.: Мир, 1978. - 430 с.
35. Гиляров, А.М. Популяционная экология / А.М. Гиляров. - М.: МГУ, 1990. - 191 с.
36. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. Сборник ГОСТов. - М.: Стандартиформ, 1984. – 36 с.
37. ГОСТ 30425-97 Консервы. Метод определения промышленной стерильности. Сборник ГОСТов. - М.: Стандартиформ, 2010. – 16 с.
38. ГОСТ 30726-2001 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий вида *Escherichia coli*. Сборник ГОСТов. - М.: Стандартиформ, 2001. – 8 с.
39. ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002) Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*. Сборник ГОСТов. - М.: Стандартиформ, 2010. – 30 с.

40. ГОСТ 32064-2013. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий семейства *Enterobacteriaceae*. Сборник ГОСТов. - М.: Стандартинформ, 2013. – 28 с.
41. ГОСТ 17.4.4.02-2017. Охрана природы (ССОП). Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа. Сборник ГОСТов. - М.: Стандартинформ, 2019. – 11 с.
42. Грачёва, Т.А. Поиск продуцентов антибиотиков у стрептомицетов из ассоциаций с почвенными беспозвоночными животными / Т.А. Грачёва // Человек и природа Материалы XXVII Международной междисциплинарной конференции и Международной междисциплинарной молодежной школы. -Крым, 2017. - С. 33–34.
43. Григорян, Л.Н. Оценка распространенности вируса огуречной мозаики (ВОМ) на томатах открытого грунта в хозяйствах Астраханской области / Л.Н. Григорян // Сельскохозяйственные науки и агропромышленный комплекс на рубеже веков: сборник статей по материалам III международной научной конференции. Новосибирск: ЦРНС, 2013. - С. 69-74.
44. Григорян, Л.Н. Оценка биологической эффективности бактерий *Streptomyces sp.*, выделенных из засоленных почв аридной зоны, в отношении возбудителей вирусных болезней картофеля / Л.Н. Григорян, Ю.В. Батаева, В.А. Шляхов, Е.Д. Андреева, М.А. Егоров // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия «Естественные и технические науки». - 2018. - №12. - С. 14-22.
45. Григорян, Л.Н. Микробиологический состав засоленных почв аридных территорий / Л.Н. Григорян, Ю.В. Батаева, Л.В. Яковлева, В.А. Шляхов // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия «Естественные и технические науки». - 2018. - №12. - С. 6-14.
46. Григорян, Л.Н. Влияние бактерий р. *Streptomyces sp.* на вирусные болезни картофеля / Л.Н. Григорян, Ю.В. Батаева, В.А. Шляхов // Достижения молодых ученых в развитии сельскохозяйственной науки и АПК: сборник материалов всероссийской научной конференции с международным участием. - с. Соленое Займище: ФГБНУ «ПАФНЦ РАН», 2019. - С. 80-82.
47. Григорян, Л.Н. Исследование компонентного состава метаболитов бактерий *Nocardiosis umidischolae*, с целью поиска экологически безопасных средств защиты

- растений / Л.Н. Григорян, Ю.В. Батаева, Е.Д. Андреева, Д.Х. Закарьяева, З.О. Тураева, С.В. Антонова // Экологическая хими. - 2020. - №29 (1). - С. 1-15.
48. Григорян, Л.Н. Фитотоксичность и инсектоакарицидная активность актиномицетов, выделенных из засоленных почв аридной территории / Л.Н. Григорян, Ю.В. Батаева, В.А. Шляхов, Д.К. Магзанова, А.С. Баймухамбетова // Юг России: экология, развитие. - 2020. - Т. 15. - №2. - С. 103-112.
49. Григорян, Л.Н. Оценка эффективности применения почвенных актинобактерий на томатах в аридной зоне / Л.Н. Григорян, Ю.В. Батаева // Проблемы агрохимии и экологии. – 2021. - № 1. - С. 27-31.
50. Гришко, В.Н. Структурно-функциональные особенности сообщества актиномицетов в некоторых черноземах и засоленных почвах Украины / В.Н. Гришко, О.В. Сыщикова // Почвоведение. - 2010. - №2. - С. 221–228.
51. Громовых, Т.И. Биологические особенности нового штамма *Streptomyces lateritius* 19/97-М, перспективного для использования в растениеводстве / Т.И. Громовых, Ю.А. Литовка, В.С. Садыкова, И.Г. Габидулина // Биотехнология. - 2005. - №5. - С. 43–48.
52. Давыдова, Е.М. Технология получения авермектинового комплекса, продуцируемого культурой *Streptomyces avermitilis*: дис... канд. тех. наук 05.18.10 / Давыдова, Елена Михайловна. - Москва, 2001. - 165 с.
53. Дегтярева, Е.А. Почвенные актиномицеты как потенциальные биофунгициды / Е.А. Дегтярева, К.А. Виноградова, А.В. Александрова, В.А. Филоненко, П.А. Кожевин // Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение.- 2009. - №2. -С. 22–26.
54. Демьянкова, М.В. Изыскание продуцентов природных противогрибковых антибиотиков, активных в отношении фитопатогенных грибов / М.В. Демьянкова, В.С. Садыкова, А.А. Глухова, Ю.В. Бойкова, Н.Д. Малкина, Т.А. Ефименко, Т.Д. Иванкова, Л.П. Терехова, О.В. Ефременкова // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. –2020. - №159. – С. 147-164.
55. Джафаров, М.Х. Стероиды: Строение, получение, свойства и биологическое значение, применение в медицине и ветеринарии / М.Х. Джафаров, С.Ю. Зайцев, В.И. Максимов. - СПб. Лань, 2010. - 288 с.

56. Джафаров, М.Х. Получение авермектинов: биотехнологии и органический синтез / М.Х. Джафаров, Ф.И. Василевич, М.Н. Мирзаев // Сельскохозяйственная биология. - 2019. - Т. 54. - №2. - С. 199-215.
57. Добровольская, Т.Г. Структура и функции бактериальных сообществ в агроценозе / Т.Г. Добровольская, К.А. Хуснетдинова, Н.А. Манучарова, П.Н. Балабко // Почвоведение. - 2016. - № 1. - С. 79.
58. Долженко, В.И. Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, моллюскоцидов и родентицидов в сельском хозяйстве / В.И. Долженко. - СПб.: Всероссийский НИИ защиты растений, 2009. - 321 с.
59. Долженко, Т.В. Метаболиты актиномицетов для защиты сада от вредителей / Т.В. Долженко // Вестник ОрелГАУ. - 2012. - №3 (36). - С. 91–93.
60. Дорофеева, Л.В. Новые актиномицеты семейства *Microbacteriaceae*, ассоциированные с нематодами подсемейства *Anguininae*: дис. ... канд. биол. наук 03.00.07 / Дорофеева Любовь Владимировна. - Пушкино, 2002. 138 с.
61. Доспехов, Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. - М.: Колос, 1985. - 351 с.
62. Егоров, Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Н.С. Егоров. - М.: МГУ, 1995. - 224 с.
63. Егоров, Н.С. Основы учения об антибиотиках / Н.С. Егоров. - М.: Наука, 2004. - 528 с.
64. Егорова, А.М. Праймин-сигнальная функция антибиотиков, продуцируемых стрептомицетами / А.М. Егорова, И.А. Тарчевский // Экобиотех. - 2019. -Т. 2. – №4. - С. 504-509.
65. Жадамбаа, Н. Актиномицеты в сельском хозяйстве. Аграрная наука - сельскому хозяйству / Н. Жадамбаа // Сборник материалов XIV Международной научно-практической конференции, 2019. - С. 383-384.
66. Жадамбаагийн, Н. Почвенные актиномицеты редких родов в основных экосистемах Монголии: автореф. дис. ... канд. биол. наук 03.00.07 / Жадамбаагийн Норовсурэн. - Москва, 2001. - 24 с.
67. Жерносекова, И.В. Физиологическая активность биопрепаратов стрептомицета и коммерческих препаратов в отношении растений фасоли (*Phaseolus vulgaris*) / И.В. Жерносекова // Вестник Днепропетровского университета. Биология. Медицина. - 2012. - Т. 2. - №3. - С. 32–36.

68. Закалюкина, Ю.В. Особенности роста и морфологической дифференцировки ацидофильных и нейтрофильных почвенных стрептомицетов / Ю.В. Закалюкина, Г.М. Зенова, Д.Г. Звягинцев // Микробиология. - 2004. - Т. 73. - №1. - С. 89–93.
69. Закалюкина, Ю.В. Антагонистические свойства почвенных ацидофильных актиномицетов / Ю.В. Закалюкина, Г.М. Зенова // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. - 2007. - №4. - С. 402–405.
70. Звенигородский, В.И. Микробы-антагонисты (стрептомицеты и бациллы), выделенные из почв разных типов / В.И. Звенигородский, А.И. Кузин, Е.М. Шагов, Р.Р. Азизбекян, Г.М. Зенова, Т.А. Воейкова // Почвоведение. - 2004. - №7. - С. 860 – 866.
71. Звягинцев, Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Д.Г. Звягинцев. - М.: МГУ, 1991. - 304 с.
72. Звягинцев, Д.Г. Экология актиномицетов / Д.Г. Звягинцев, Г.М. Зенова. - М.: ГЕОС, 2001. - 256 с.
73. Звягинцев, Д.Г. Разнообразие почвенных актиномицетных комплексов, обусловленное температурными адаптациями мицелиальных актинобактерий / Д.Г. Звягинцев, Г.М. Зенова, Т.А. Грачёва, А.И. Курапова, М.С. Дуброва // Теоретическая и прикладная экология. - 2011. - № 1. - С. 4–23.
74. Звягинцев, А.Г. Биология почв / А.Г. Звягинцев, И.П. Бабьева, Г.М. Зенова. - М.: Издательство Московского университета, 2005. - 448 с.
75. Зенова, Г.М. Почвенные актиномицеты / Г.М. Зенова. - М.: МГУ, 1992. - 78 с.
76. Зенова, Г.М. Почвенные актиномицеты редких родов / Г.М. Зенова. - М.: Издательство Московского государственного университета, 2000. - 81 с.
77. Зенова, Г.М. Почвенные стрептомицеты – компоненты экспериментальных альгобактериальных ценозов / Г.М. Зенова, В.К. Орлеанский, Е.О. Омарова // Почвоведение. - 2005. - №10. - С. 1251–1254.
78. Зенова, Г.М. Галофильные и алкалофильные стрептомицеты засоленных почв / Г.М. Зенова, Г.В. Оборотов, Ж. Норовсурэн, А.В. Федотова, Л.В. Яковлева // Почвоведение. - 2007. - №11. - С. 1347–1351.
79. Зенова, Г.М. Структурно-функциональные особенности комплексов почвенных психротолерантных актиномицетов / Г.М. Зенова, М.С. Дуброва, Д.Г. Звягинцев // Почвоведение. - 2010. - №4. - С. 482–487.

80. Зенова, Г.М. Экстремофильные и экстремотолерантные актиномицеты в почвах разных типов / Г.М. Зенова, Н.А. Манучарова, Д.Г. Звягинцев // Почвоведение. - 2011. - №4. - С. 457–478.
81. Зенова, Г.М. Актиномицеты – ассоциативные компоненты цианобактериальных сообществ и симбиозов / Г.М. Зенова, Е.С. Лобанова, И.Г. Широких, Е.А. Иванова // Теоретическая и прикладная экология. - 2013. - №2. - С. 11–20.
82. Зенова, Г.М. Актиномицетный комплекс светлого серозема предгорной равнины Копетдага / Г.М. Зенова, Д.Г. Звягинцев, Н.А. Манучарова, О.А. Степанова, И.Ю. Чернов // Почвоведение. - 2016. - № 10. - С. 1214-1217.
83. Злобина, Ю.А. Скрининг штаммов стрептомицетов для биоконверсии трудноразлагаемых отходов растениеводства / Ю.А. Злобина, А.А. Широких, И.Г. Широких, Е.В. Товстик // Вестник современных исследований. – 2019. – №1 (28) – С. 22-25.
84. Илич, С.Б. Биоактивные метаболиты из изолятов стрептомицетов – описание и антимикробная активность / С.Б. Илич, С.С. Константинович, З.Б. Тодорович, М.Л. Лазич, В.Б. Велькович, Н. Йокович, Б.Ц. Радованович // Микробиология. - 2007. - Т. 76. - №4. - С. 480–487.
85. Инструкция по применению набора микрочипов для выявления ДНК/РНК патогенов картофеля методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «Фитопатогены картофеля». - Спб.: ООО «Генбит», 2015. - 16 с.
86. Калакуцкий, Л.В. Экология актиномицетов / Л.В. Калакуцкий, Г.М. Зенова // Успехи микробиологии. - 1984. - Т.19. - С. 203-222.
87. Карпачевский, Л.О. Актиномицеты в наземных экосистемах / Л.О. Карпачевский, // Почвоведение. - 2004. - №3. - С. 380–382.
88. Климишин, Д.А. Влияние условий культивирования на уровень синтеза аранциамицина штаммом *Streptomyces echinatus* DSM40730 / Д.А. Климишин, // Биология. - 2010. - Т. 12. - №1. - С. 329–333.
89. Климишин, Д.А. Конструирование штаммов *Streptomyces Nogalater* LV65 с повышенным уровнем синтеза ногаламицина с использованием регуляторных генов / Д.А. Климишин, М.В. Рабык, Т.П. Грень, О.Я. Немець, М.А. Гончар, А.Н. Громыко, В.А. Федоренко // Прикладная биохимия и микробиология. - 2011. - Т. 47. - №6. - С. 650-652.

90. Климова, Е.В. Биологическое обоснование использования метаболитов актиномицетов против оранжерейной белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* в теплицах (Биопрепараты на основе *Streptomyces aurantiacus* штамм 775 (алейцид) и *S. cretensis* штамм 729) / Е.В. Климова // Экологическая безопасность в АПК. Реферативный журнал. - 2002. - №4. - С. 991-994.
91. Ковда, В.А. Основы учения о почвах. Общая теория почвообразовательного процесса / В.А. Ковда. - М.: Наука, 1973. - 469 с.
92. Кожевин, П.А. Микробные популяции в природе / П.А. Кожевин. - М.: МГУ, 1989. - 175 с.
93. Козылбаева, Д.В. Стрептомицеты и цианобактерии как биорегуляторы при выращивании *Georgina wild* / Д.В. Козылбаева, Л.И. Домрачева, Л.В. Трефилова, А.Л. Ковина, Е.В. Товстик // Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем Материалы XV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - Киров, 2017. - С. 112–117.
94. Комарова, А.С. Влияние электромагнитных микроволн на прорастание спор *Streptomyces xanthochromogenes* в торфяной почве и в жидкой питательной среде / А.С. Комарова, А.А. Лихачева, Е.В. Лапыгина, И.А. Максимова, А.И. Поздняков // Почвоведение. - 2010. - №1. - С. 83–86.
95. Комов, В.П. Биохимия / В.П. Комов, В.Н. Шведова. - М.: Дрофа, 2004. - 639 с.
96. Коринец, В.В. Системно-энергетический подход к оценке плодородия почв / В.В. Коринец. - Астрахань, 2009. - 17 с.
97. Косолапов, А.И. Изменение показателей плодородия дерново-мелкоподзолистой почвы в зависимости от ее ландшафтных условий и обработки / А.И. Косолапов, В.Р. Ямалтдинова, М.Т. Васбиева // Аграрная наука. - 2013. - №9. - С. 10-11.
98. Кочкина, В.А. Изучение биосинтетического потенциала почвенных стрептомицетов / В.А. Кочкина, Я.И. Назарова, И.Г. Широких // Экология родного края: проблемы и пути их решения Материалы XIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. - Киров, 2018. - С. 66–69.
99. Кирхнер, Ю. Тонкослойная хроматография / Ю. Кирхнер. - Т. 1. - М.: Мир, 1981. - 308 с.
100. Кирхнер, Ю. Тонкослойная хроматография / Ю. Кирхнер. - Т. 2. - М.: Мир, 1981. - 261 с.

101. Красильников, Н.А. Биология отдельных групп актиномицетов / Н.А. Красильников. - М.: Наука, 1965. - 370 с.
102. Крешков, А.П. Основы аналитической химии. Теоретические основы. Количественный анализ / А.П. Крешков. - Т.2. - М.: Химия, 1971. – 276 с.
103. Куликова, Н.Г. Индукция антибиотикообразования при глубинном культивировании штаммов редких родов актиномицетов / Н.Г. Куликова, Л.П. Терехова // Антибиотики и химиотерапия. - 2017. - Т. 62. – № 11. - С. 3–6.
104. Леманова, Н.Б. Применение стрептомицетов, выделенных из почв Молдовы, при выращивании овощей / Н.Б. Леманова, С.А. Бурцева, М.Н. Бырса // Селекция и семеноводство овощных культур. - 2015. - №46. - С. 310–316.
105. Ли, Ю.В. Применение сукцессионного анализа в комбинации с КВЧ-излучением для селективного выделения актиномицетов из почвы / Ю.В. Ли // Микробиология. - 2003. - Т. 72. - № 1. - С. 131–135.
106. Линг, Л.А. *Streptomyces sp.* NEAU-HV9: Изоляция, идентификация и потенциал в качестве биоконтрольного агента против *Ralstonia solanacearum* растений томатов / Л. Линг, Х. Хан, Х. Ли, Х. Чжан, Х. Ван, Л. Чжан, П.Й. Цао, Х. Ван, Дж. Чжао, У. Сян // Микроорганизмы. – 2020. - Т.8. - №3. - 351 с.
107. Лискова, Е.А. Новый подход к выделению микобактерий, нокардиоформных актиномицетов и коринебактерий / Е.А. Лискова, К.Н. Слина // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2016. - №9 (143). - С. 128–131.
108. Люцканова, Д.Г. Увеличение продукции тилозина у производственного штамма *Streptomyces fradiae* / Д.Г. Люцканова, М.М. Стоилова-Дишева, В.Т. Пелтекова // Прикладная биохимия и микробиология. - 2005. - Т. 41. № 2. - С. 189–193.
109. Маградзе, Е.И. Оценка эффективности использования разработанного бактериального удобрения при пересадке растений в торфяно-песчаную смесь после микрочлонирувания на примере сортов сирени обыкновенной "Небо Москвы" и "Лунный свет" / Е.И. Маградзе, Т.И. Попова // Приемы повышения плодородия почв и эффективности удобрения. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной памяти ученых: Анны Ивановны Горбылевой, Юрия Павловича Сиротина и Вадима Ивановича Тюльпанова, 2019. – С. 310-311.

110. Мальцева, Б.М. Антибиотические свойства актиномицетов / Б.М. Мальцева // Ветеринария. Реферативный журнал. - 2002. - №3. - 770 с.
111. Мамаева, Г.Г. Влияние гексаконазола, карбофурана и этиона на микрофлору почв и дегидрогеназную активность почвы и интактных клеток бактерий (Индия) / Г.Г. Мамаева // Экологическая безопасность в АПК. Реферативный журнал. - 2003. - №3. - 591 с.
112. Мамаева, Г.Г. Микробиологические свойства (состав и численность почвенных микроорганизмов) почв, загрязненных гербицидом трефлан 480 ЕС (трифлуралин); вегетационные опыты с яровым рапсом и белой горчицей (Польша) / Г.Г. Мамаева // Экологическая безопасность в АПК. Реферативный журнал. - 2004. - № 2. - 424 с.
113. Мерзаева, О.В. Колонизация актиномицетами различных родов прикорневой зоны растений / О.В. Мерзаева, И.Г. Широких // Микробиология. - 2006. - Т. 75. - №2. - С. 271 – 276.
114. Мерзаева, О.В. Актиномицеты прикорневой зоны злаков и клевера: автореф. дис. ... канд. биол. наук 03.00.07 / Мерзаева Ольга Вениаминовна. - Москва, 2007. - 24 с.
115. Милевская, И.А. Исследование антагонистической активности актиномицетов р. *Streptomyces*, выделенных из ризосферы и корней картофеля, по отношению к возбудителю ризоктониоза *Rhizoctonia solani* (Польша) / И.А. Милевская // Экологическая безопасность в АПК. Реферативный журнал. - 2008. - №3. - С. 730.
116. Миндубаев, А.З. Сравнение фитотоксичности, фунгицидных и бактерицидных свойств *Streptomyces* из разных биотопов. Определение видовой принадлежности штамма А8 / А.З. Миндубаев, Ф.К. Алимова Д.Г. Яхваров, Ч. Болормаа, К.А. Сапармырадов // Экологический вестник Северного Кавказа. - 2015. - Т. 11. - № 1. - С. 51–58.
117. Миндубаев, А.З. Рост устойчивости к белому фосфору у микроорганизмов в результате направленной селекции. Биохимический анализ штамма *Streptomyces sp.* А8 / А.З. Миндубаев, А.Д. Волошина, Е.В. Горбачук, Н.В. Кулик, С.Т. Минзанова, Л.Г. Миронова, Ф.К. Алимова, К.А. Сапармырадов, Д.Г. Яхваров // Экологический вестник Северного Кавказа. - 2015. - Т. 11. - №3. - С. 10–18.
118. Мироновский, М.Л. Разнообразие генов, кодирующих нерибосомные пептидсинтетазы, в геноме *Streptomyces sioyaensis* / М.Л. Мироновский, Б.Е. Осташ, В.А. Федоренко // Генетика. - 2010. - Т. 46. - №7. - С. 896–903.

119. Мишустин, Е.Н. Ассоциации почвенных микроорганизмов / Е.Н. Мишустин. - М.: Наука, 1975. - 107 с.
120. МУК 4.2.3533-18 Иммунологические методы лабораторной диагностики паразитарных болезней: Методические указания. - М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018. - 47 с.
121. Назаренко, Н.Н. Адаптивные диапазоны реакции комплекса актиномицетов городских почв / Н.Н. Назаренко // Агроэкологический Вестник материалы международной научно-практической конференции, посвященной году экологии в России. - 2017. - С. 222–227.
122. Назарова, Я.И. Поиск перспективных штаммов стрептомицетов с биоконтрольным действием / Я.И. Назарова, И.Г. Широких // Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Монголии, Казахстана, Беларуси и Болгарии сборник научных докладов XX Международной научно-практической конференции. Республика Коми, 2017. - С. 25–28.
123. Назарова, Я.И. Идентификация двух ризосферных изолятов стрептомицетов и изучение *in vitro* их колонизирующей активности / Я.И. Назарова, И.Г. Широких, А.В. Бакулина, Е.Н. Баранова, Т.Я. Ашихмина // Теоретическая и прикладная экология. – 2019. - №3. – С. 72-79.
124. Нейланд, О.Я. Органическая химия / О.Я. Нейланд. - М.: Высшая школа, 1990. - 751 с.
125. Нетрусов, А.И. Экология микроорганизмов / А.И. Нетрусов, Е.А. Бонч-Осмоловская, В.М. Горленко. - М.: Академия, 2004. - 272 с.
126. Нетрусов, А.И. Практикум по микробиологии / А.И. Нетрусов, М.А. Егорова, Л.М. Захарчук, Н.Н. Колотилова. - М.: Академия, 2005. - 608 с.
127. Нетрусов, А.И. Микробиология / А.И. Нетрусов, И.Б. Котова. - М.: Академия, 2006. - 352 с.
128. Николаев, Ю.А. Эффект дистантных взаимодействий на рост и развитие стрептомицетов / Ю.А. Николаев, Н.А. Сургучева, С.Н. Филиппова // Микробиология. - 2015. - Т. 84. - №6. - С. 673.
129. Никольский, Б.П. Общие сведения, строение вещества, свойства важнейших веществ, лабораторная техника / Б.П. Никольский // Справочник химика. - М.-Л. - 1966. - Т. 1. - С. 1071-1073.

130. Нишанбаев, С.З. Химический состав и биологическая активность метаболитов растений рода *Alhagi* (обзор) / С.З. Нишанбаев, И.Д. Шамьянов, Х.М. Бобакулов, Ш.Ш. Сагдуллаев // Химия растительного сырья. - 2019. - №4. - С. 5–28.
131. Новикова, И.И. Биологическое обоснование создания и применения полифункциональных биопрепаратов на основе микробов-антагонистов для фитосанитарной оптимизации агроэкосистем: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 06.01.11 / Новикова Ирина Игоревна. - Санкт-Петербург, 2005. - 44 с.
132. Новикова, И.И. Биологические особенности и компонентный состав активного комплекса штамма *Streptomyces chrysomallus* P-21 – антагониста фитопатогенных грибов / И.И. Новикова, И.В. Бойкова, Ю.Д. Шенин // Вестник защиты растений. - 2006. - № 3. - С. 13–21.
133. Новикова, А.В. Исследования засоленных и солонцовых почв: генезис, мелиорация, экология. Избранные труды / А.В. Новикова. - Х.: КП Друкарня, 2009. - 720 с.
134. Норовсурэн, Ж. Актиномицеты в ризосфере растений полупустынных почв Монголии / Ж. Норовсурэн, Г.М. Зенова, Л.В. Мосина // Почвоведение. - 2007. - №4. - С. 457–460.
135. Оборотов, Г.В. Актиномицеты засоленных почв: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07 / Оборотов, Геннадий Вячеславович. - Москва, 2007. - 23 с.
136. Овчинников, Ю.А. Биоорганическая химия / Ю.А. Овчинников. - М.: Просвещение, 1987. - 742 с.
137. Овчинников, Р.С. Новые для Российской Федерации патогенные актиномицеты / Р.С. Овчинников, М.Г. Маноян, А.Г. Гайнуллина // Микология. - 2012. - №5. - С. 40–42.
138. Орехов, А.П. Химия алкалоидов / А.П. Орехов. - М.: Академия наук, 1955. - 868 с.
139. Осташ, Б.Е. Использование ПЦР для обнаружения в геномах актиномицетов генов, кодирующих поликетидсинтазы I типа / Б.Е. Осташ, С.В. Огонян, А.Н. Лужецкий, А. Бехтольд, В.А. Федоренко // Генетика. - 2005. - Т. 41. - № 5. - С. 595–600.
140. Патент №2147320 РФ. МПК C12R1/645, C12C-C12Q, C12P1/06, C12P19/62. Штамм *Streptomyces avermitilis* НИЦБ 132 - продуцент авермектинов.
141. Патент №2156301 РФ. МКИ C12R1/645, A01N63, C12P1/06, C12P17/08, C12P17/18. Штамм актиномицета *Streptomyces avermitilis* ССМ 4697 – продуцент авермектинов.

142. Патент №2160780 РФ. МПК C12P 1/06, C12R 1/465. Штамм *Streptomyces avermitilis* ФБМ 0004 - продуцент олигомицинов.
143. Патент №2170252 РФ. МПК C12N1/20, C12N9/06, C12N9/06, C12R1/465. Штамм *Streptomyces sp.* Z-11-6-продуцент внеклеточной L-глутаматоксидазы.
144. Патент №2198928 РФ. МПК C12P19/62, C12N1/20, C12N1/20, C12R1/465. Штамм *Streptomyces dosus* 472 ВНИИСХМ Д-666 – продуцент амфотерицина В.
145. Патент №2226214 РФ. МПК C12N1/20, A01N63/00, C12N1/20, C12R1/465. Штамм актиномицета *Streptomyces chrysomallus* P-21 для получения биопрепарата полифункционального действия.
146. Патент №2241755 РФ. МПК C12P 1/06, C12R 1/465. Штамм *Streptomyces cinnamonensis* AC-1638 – продуцент монензина А.
147. Патент №2243259 РФ. МПК C12N 1/20, A01N 63/00, C12R 1/55. Штамм актиномицета *Streptomyces hygroscopicus Sub sp.* ЦКМ В-4561, обладающий фунгицидными, бактерицидными и инсектицидными свойствами.
148. Патент №2464319 РФ. МПК C12P 19/56. Штамм *Streptomyces coeruleorubidu* – продуцент антибиотика даунорубидина.
149. Патент №2630661 РФ. МПК C12R1/465, C12N1/20, A01N63/02. Штамм *Streptomyces globisporus* K-35/15 в качестве средства для защиты растений от вредных насекомых - фитофагов.
150. Патент №2695157 РФ. МПК C12N1/20, A01N63/02, C12R1/465. Штамм *Streptomyces carpaticus* для защиты от насекомых-вредителей, грибных, вирусных болезней и стимуляции роста томатов.
151. Поляк, Ю.М. Выделение почвенных стрептомицетов – продуцентов комплексных антибиотиков / Ю.М. Поляк, В.И. Сухаревич // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. - 2017. - Т. 13. - №1. - С. 18 – 24.
152. Постолакий, О.М. Влияние миллиметрового излучения на рост и липидообразование *Streptomyces caNesius* CNMN-AC-02 и его вариантов / О.М. Постолакий, С.А. Бурцева // Электронная обработка материалов. - 2009. - №2 (256). - С. 93 – 97.
153. Пошехонцева, В.Ю. *Streptomyces tsukubensis* ВКМ Ас-2618Д – эффективный продуцент такролимуса / В.Ю. Пошехонцева, В.В. Фокина, С.В. Тарлачков, А.В.

- Мачулин, А.А. Шутов, М.В. Донова // Биотехнология. - 2021. - №1 (37). - С. 26-36.
doi: 10/21519/0234-2758-2021-37-1-26-36.
154. Прокопенко, В.В. Экофизиологическая характеристика психротолерантных актиномицетов тундровых и лесных ландшафтов / В.В. Прокопенко, Г.М. Зенова, Н.А. Манучарова // Почвоведение. - 2019. - № 6. - С. 734-742.
155. Прохоров, А.М. Большая советская энциклопедия / А.М. Прохоров. - М.: Советская энциклопедия, 1978. - 631 с.
156. Проценко, А.Е. Морфология и классификация фитопатогенных вирусов / А.Е. Проценко. - М.: Наука, 1966. - 220 с.
157. Роговин, З. А., Химия целлюлозы / З. А. Рогови // Целлюлоза и её производные. - Т. 1. - М., 1974. - 468 с.
158. Рогожина, Е.В. Особенности культивирования штаммов стрептомицетов и получения их метаболитов / Е.В. Рогожина, Л.С. Самарина // Субтропическое и декоративное садоводство. - 2016. - № 58. - С. 100–106.
159. Родовиков, С.А., Почвенные микробные сообщества как источник штаммов для биологической защиты сои от фузариоза в Приенисейской Сибири / С.А. Родовиков, А.А. Чураков, Н.М. Попова, С.В. Хижняк // Вестник нижевартовского государственного университета. – Нижневартовск. - 2020. - №2. - С.4-11.
160. Рябова, О.В. Рост и антифунгальная активность стрептомицетов на фоне повышенной кислотности среды / О.В. Рябова, И.Г. Широких // Сельскохозяйственная биология. - 2014. - Т. 49. - №3. - С. 100–107.
161. Рябова, О.В. PGPR-свойства ризосферного изолята *Streptomyces sp.* А-4 / О.В. Рябова // Таврический вестник аграрной науки. - Симферополь. - 2019. - №4 (20). – С. 96-110.
162. Селивановская, С.Ю. Биологические методы в оценке токсичности отходов и почв / С.Ю. Селивановская, П.Ю. Галицкая. - Казань: Казанский университет, 2011. - 96 с.
163. Селянин, В.В. Ацидофильные и алкалофильные актиномицеты в кислых, нейтральных и щелочных почвах / В.В. Селянин, Г.М. Зенова, Н.В. Можарова, Ю.В. Закалюкина, Д.Г. Звягинцев // Почвоведение. - 2005. - №5. - С. 590–593.
164. Семенов, М.В. Распределение метаболически активных представителей прокариот (архей и бактерий) по профилям чернозема и бурой полупустынной почвы / М.В.

- Семенов, Н.А. Манучарова, А.Л. Степанов // Почвоведение. - 2016. - № 2. - С. 239-248.
165. Семенов, М.В. Биомасса и таксономическая структура микробных сообществ в почвах правобережья р. Оки / М.В. Семенов, Н.А. Манучарова, Г.С. Краснов, Д.А. Никитин, А.Л. Степанов // Почвоведение. - 2019. - № 8. - С. 974-985.
166. Сергеева, А.Г. Актиномицеты как продуценты биологически активных веществ / А.Г. Сергеева, Н.Г. Куимова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. - 2006. - № 22. - С. 88–90.
167. Сергеева, О.В. Изучение действия штаммов актиномицетов рода *Streptomyces* на морковную листовую блошку / О.В. Сергеева // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. - 2009. - № 15. - С. 60–63.
168. Сидорова, С.Г. Антифунгальная активность актиномицетов в отношении возбудителя фузариоза томата / С.Г. Сидорова // Журнал Белорусского государственного университета. Биология. - 2019. - № 3. - С. 21-32.
169. Синева, О.Н. Низкотемпературное хранение актинобактерий рода *Streptomyces* / О.Н. Синева, Л.П. Терехова // Биотехнология: состояние и перспективы развития Материалы IX международного конгресса. - М., 2017. - С. 200–202.
170. Синева, О.Н. Низкотемпературное хранение актиномицетов – представителей рода *Streptomyces* / О.Н. Синева, Т.Д. Иванкова, Л.П. Терехова // Антибиотики и химиотерапия. - 2019. - Т. 64. - № 3-4. - С. 3-7.
171. Соболевская, М.П. Метаболиты морского изолята бактерии *Streptomyces sp.* 6167 / М.П. Соболевская, С. Фотсо, У. Хаваш, В.А. Денисенко, Э. Хелмке, Н.Г. Прокофьева, Т.А. Кузнецова, Х. Лаач, Г.Б. Еляков // Химия природных соединений. - 2004. - № 3. - С. 237–239.
172. Соболевская, М.П. Биологически активные метаболиты морской актинобактерии *Streptomyces sp.* КММ 7210 / М.П. Соболевская, В.А. Денисенко, А.С. Моисеенко, Л.С. Шевченко, Н.И. Мензорова, Ю.Т. Сибирцев, Н.Ю. Ким, Т.А. Кузнецова // Известия Академии наук. Серия химическая. - 2007. - № 4. - С. 807–810.
173. Соболевская, М.П. Биологически активные соединения актинобактерии *Streptomyces sp.* GW 33/1539 / М.П. Соболевская, В.А. Денисенко, С. Фотсо, Х. Лаач, Н.И. Мензорова, Ю.Т. Сибирцев, Т.А. Кузнецова // Известия Академии наук. Серия химическая. - 2008. - № 3. - С. 652–655.

174. Соловьева, Е.С. Реакция стрептомицетов на токсические дозы тяжелых металлов / Е.С. Соловьева, И.Г. Широких // Актуальные проблемы региональной экологии и биодиагностика живых систем Материалы XI Всероссийской научно-практической конференции-выставки инновационных экологических проектов с международным участием. - Киров, 2013. - С. 201–204.
175. Сорока, С.В. Вирусы и вирусные болезни сельскохозяйственных культур / С.В. Сорока, Ж.В. Блоцкая, В.В. Вабищевич. - М.: Дрофа, 2009. - 39 с.
176. Стецюк, О.У. Безопасность и переносимость антибиотиков в амбулаторной практике / О.У. Стецюк, И.В. Андреева, А.В. Колосов, Р.С. Козлов // Клиническая Микробиология и Антимикробная Химиотерапия. - 2011. - Т. 13. - №1. - С. 67-84.
177. Стома, Г.В. Биологическая активность микробных сообществ в почвах некоторых городов России / Г.В. Стома, Н.А. Манучарова, Н.А. Белокопытова // Почвоведение. - 2020. - № 6. - С. 703-715.
178. Страшинская, В.В. Биологическая активность изолятов актиномицетов, выделенных из почвы / В.В. Страшинская, О.В. Фомина // Биологическая осень 2017 (к Году науки в Беларуси) тезисы докладов Международной научной конференции молодых ученых. - Минск, 2017. - С. 141–142.
179. Стрешинская, Г.М. Тейхоевые кислоты клеточных стенок стрептомицетов кластера *Streptomyces Cyaneus* / Г.М. Стрешинская, Ю.И. Козлова, А.С. Шашков, Л.И. Евтушенко, И.Б. Наумова // Микробиология. - 2003. – Т. 72. - № 4. - 510 с.
180. Строев, Е.А. Биологическая химия / Е.А. Строев. - М.: Высшая школа, 1986. - 479 с.
181. Сухорученко, Г.И. Методические рекомендации по селективности для современных инсектоакарицидов на членистоногих / Г.И. Сухорученко, Ю.С. Толстова. - Л.: ВИЗР, 1990. - 24 с.
182. Сыщикова, О.В. Идентификация и видовое разнообразие актиномицетов рода *Streptomyces* в черноземах / О.В. Сыщикова, Н.В. Жадинский // Вестник гигиены и эпидемиологии. - 2017. - Т. 21. - №1. - С. 56–60.
183. Теппер, Е.З. Практикум по микробиологии / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева. - М.: Колос, 1993. - 175 с.
184. Терехова, Л.П. Выделение, ЯМР и конформационный анализ антибиотика ИНА-2770 (цинеромицина В), продуцируемого штаммом рода *Streptomyces* / Л.П. Терехова, О.А. Галатенко, В.В. Куляева, Н.Д. Малкина, И.В. Бойкова, Г.С. Катруха,

- А.С. Шашков, А.Г. Гербст, Н.Э. Нифантьев // Известия Академии наук. Серия химическая. - 2007. - № 4. - С. 784–788.
185. Теречик, Л.Ф. Оценка 19 видов актиномицетов на способность к продуцированию альфа-галактозидазы, используемой для удаления олигосахаридов из зерна и продуктов переработки зернобобовых культур (Египет) / Л.Ф. Теречик // Пищевая и перерабатывающая промышленность. Реферативный журнал. - 2003. - № 3. - 1047 с.
186. Теркина, И.А. Актиномицеты рода *Streptomyces* и рода *Micromonospora* в микробном сообществе озера Байкал: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.16 / Теркина, Ирина Анатольевна. - Москва, 2004. - 136 с.
187. Товстик, Е.В. Идентификация и изучение свойств *Streptomyces geldanamycininus*, выделенного из почвы под зарослями борщевика сосновского / Е.В. Товстик, А.В. Сазанов, А.В. Бакулина, И.Г. Широких, Т.Я. Ашихмина // Теоретическая и прикладная экология. - 2019. - №2. - С. 53-60.
188. Тодосийчук, Т.С. Анализ специфичности готовых форм антимикробных препаратов *Streptomyces albus* / Т.С. Тодосийчук, О.В. Покас // Восточно-Европейский журнал передовых технологий. - 2015. - Т. 4. - № 6 (76). - С. 58–62.
189. Топкова, О.В. Активность ферментов углеводного обмена *Streptomyces imbricatus* – продуцента имбрицина в процессе регуляции биосинтеза антибиотика / О.В. Топкова, Е.П. Яковлева, В.А. Колодязная // Антибиотики и химиотерапия. - 2010. - Т. 55. - № 3. - С. 3–7.
190. Тяглов, Б.В. Количественная тонкослойная хроматография как метод определения активности карбоксипептидазы А / Б.В. Тяглов, Л.К. Емельянова, Л.М. Новикова, А.В. Серкина, Т.А. Воейкова // Биотехнология. - 2008. - №5. - С. 92–94.
191. Федоров, А.А. Жизнь растений в шести томах. Введение. Бактерии и актиномицеты / А.А. Федоров, А.Л. Тахтаджян. - М.: Просвещение, 1974. - Т.1. - 288 с.
192. Филиппова, С.Н. Изучение фазово-структурного состояния фосфолипидных фракций актинобактерий в связи с условиями их хранения / С.Н. Филиппова, Н.А. Сургучева, Е.В. Ермакова, М.А. Киселев, Л.П. Терехова, О.Н. Синёва, О.А. Галатенко, А.В. Забелин, В.Ф. Гальченко // Микробиология. – 2013. – Т. 82. - №3. – С. 335-343.

193. Хазиев, А.А. Противогрибковая активность актиномицетов, выделенных с поверхности корней лекарственных растений / А.А. Хазиев, О.Б. Рябова, Е.А. Казакова // Известия российской военно-медицинской академии. - 2020. - Т. 2. - №1. – С. 181-186.
194. Халецкий, А.М. Фармацевтическая химия / А.М. Халецкий. - Л.: Медицина, 1966. - 748 с.
195. Халилова, Э.А. Углекислородфиксирующие микроорганизмы геотермального источника и их значение в оценке биоразнообразия микробных сообществ / Э.А. Халилова, Р.А. Нуратинов, С.Ц. Котенко, Э.А. Исламмагомедова // Аридные экосистемы. Махачкала. - 2014. - Т. 20. - №1 (8). - С. 5-12.
196. Хирш, Р. Появление антибиотиков в водной среде / Р. Хирш, Т. Тернес, К. Хаберер, К.Л. Крац // Наука об общей окружающей среде. - 1999. - С. 109-118.
197. Хоулт Д. Определитель бактерий Берджи / Д. Хоулт, Н. Криг, П. Снит, Д. Стейнли, С. Уильямс. - Т. 2. - М.: Мир, 1997. - 368 с.
198. Цулукидзе, М.Д. Изучение взаимодействия актиномицетов, выделенных из солончаковых почв озера Кумиси (Грузия) с некоторыми грамположительными и грамотрицательными бактериями / М.Д. Цулукидзе, К.Х. Мамулашвили, З.Ш. Ломтатидзе // Наука и образование. -2019. - Т. 2. - №3. – 49 с.
199. Цыпленков, А.Е. Изучение патогенности изолятов вируса огуречной мозаики / А.Е. Цыпленков, В.Г. Паршин // Биологические методы защиты растений от вирусных и бактериальных заболеваний. Сборник научных трудов. - Л.: ВИЗР, 1988. - 49 с.
200. Черноусова, Е.Ю. Галофильные и галотолерантные мицелиальные актиномицеты почв юга России / Е.Ю. Черноусова, Е.Ю. Гавриш, М.Ю. Грабович // Биология – наука XXI века Сборник тезисов. Российская академия наук, Пущинский научный центр РАН. Совет молодых ученых ПНЦ РАН, Администрация. - Пущино, 2005. - 218 с.
201. Чудина, А.И. Изучение химического состава нейтральной фракции гексанового экстракта коры сосны методом хромато-масс-спектрометрии / А.И. Чудина, В.И. Шарыпов, Б.Н. Кузнецов // Журнал Сибирского государственного университета. Химия. - 2011. - №4. - С. 350-355.
202. Чулуун, Б. Сравнение показателей фитотоксичности, фунгицидной и бактерицидной активности стрептомицетов из различных местообитаний / Б.

- Чулуун, К.А. Сапармырадов, Ф.К. Алимова, А.З. Миндубаев // Бутлеровские сообщения. - 2014. - Т. 38. - № 6. - С. 147-152.
203. Шамханов, Ч.Ю. Физико-химические свойства комплексного препарата кератинрасщепляющих протеаз актиномицета *Streptomyces fradiospiralis* ВКМ А-157 / Ч.Ю. Шамханов, Л.В. Антипова // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. - 2005. - №23. - С. 64-66.
204. Шарова, Н.Ю. Закономерности биотрансформации гидролизатов крахмала штаммами актиномицетов – продуцентами ингибиторов амилаз / Н.Ю. Шарова, О.А. Ходкевич // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2007. - №4. - С. 27–30.
205. Шарова, Н.Ю. Биосинтез ингибиторов глюкозидаз актиномицетами рода *Streptomyces* / Н.Ю. Шарова, Т.А. Никифорова, О.А. Ходкевич // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2008. - №3. - С. 53–56.
206. Шемякин, М.М. Химия антибиотических веществ / М.М. Шемякин, А.С. Хохлов. М.-Л.: Госхимиздат, 1949. - 454 с.
207. Шемякин, М.М. Химия антибиотиков / М.М. Шемякин, А.С. Хохлов, М.Н. Колосов - М.: АН СССР, 1961. - 776 с.
208. Широких, И.Г. Биологическая активность *Streptomyces hygroscopicus* против фитопатогенного гриба *Fusarium avenaceum* в ризосфере / И.Г. Широких, О.В. Мерзаева // Микология и фитопатология. - 2008. - Т. 42. - №6. - С. 587–592.
209. Широких, И.Г. Регуляция актиномицетом симбиотических отношений клубеньковых бактерий с клевером луговым / И.Г. Широких, О.В. Рябова А.А. Широких // Теоретическая и прикладная экология. - 2011. - № 2. - С. 70–74.
210. Широких, И.Г. Влияние штамма *Streptomyces hygroscopicus* А-4 на комплекс микромицетов – патогенов яровой мягкой пшеницы / И.Г. Широких, О.В. Рябова, А.В. Харина, Л.А. Коряковцева, А.А. Широких // Микология и фитопатология. - 2013. - Т. 47. - № 6. - С. 410–416.
211. Широких, И.Г. Экспериментальное получение симбиотических ассоциаций почвенных стрептомицетов с цианобактериями / И.Г. Широких, Д.А. Эиновьева, С.Ю. Огородникова, А.А. Широких // Теоретическая и прикладная экология. - 2013. - №1. - С. 101–106.
212. Широких, И.Г. Функциональное разнообразие стрептомицетов в почвах лесных и луговых фитоценозов техногенных территорий Е / И.Г. Широких, В. Товстик, А.А.

- Широких, Т.Я. Ашихмина // Теоретическая и прикладная экология. - 2017. - № 4. - С. 74–81.
213. Широких, И.Г. Влияние *Streptomyces castelarensis* A4 на заболеваемость и урожайность зерновых культур полевого севооборота / И.Г. Широких, А.В. Бакулина, Я.И. Назарова, А.А. Широких, Л.М. Козлова // Микология и фитопатология. - 2020. - Т.54. - №1. - С. 59-66.
214. Широких, И.Г. Новые штаммы стрептомицетов как перспективные биофунгициды / И.Г. Широких, Я.И. Назарова, А.В. Бакулина, Р.И. Абубакирова // Теоретическая и прикладная экология. - 2021. - №1. - С. 172-180. doi: 10.25750/1995-4301-20221-1-172-180.
215. Щетинин, Е.В. Полимиксины — новый взгляд на известные антибиотики / Е.В. Щетинин // Обзор, журнал Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2000. - Т. 2. - №3. - С. 68-73.
216. Ющук, Н.Д. Антибиотики и противоифекционный иммунитет / Н.Д. Ющук, И.П. Балмасова, В.Н. Царев // Практическая Медицина. - 2012. - 232 с.
217. Abdel-Razek, A.S. Penicisteroid C: new polyoxygenated steroid produced by co-culturing of *Streptomyces piomogenus* with *Aspergillus niger* / A.S. Abdel-Razek, A. Hamed, M. Frese, N. Sewald, M. Shaaban // Steroids. - 2018. - №138. - P. 21–25.
218. Aigle, B.X. Leblond Involvement of alpV, a new member of the *Streptomyces* antibiotic regulatory protein family, in regulation of the duplicated type II polyketide synthase alp gene cluster in *Streptomyces ambofaciens* / B.X. Aigle, B. Pang, P. Decaris // Journal of Bacteriology. - 2005. - V. 187. - No. 7. - P. 2491–2500.
219. Alekhova, T.A. Biosynthesis of polyketide antibiotics by various actinomycin producing *Streptomyces species* / T.A. Alekhova, T.I. Novozhilova // Applied Biochemistry and Microbiology. - 2001. - V. 37. - No. 3. - P. 309–316.
220. Amaresan, N.J. In plant growth promotion: mechanisms and role / N.J. Amaresan, H. Naik, K. Kumar, K.G. Bapatla, R.K. Mishra // New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: *Actinobacteria: Diversity and Biotechnological Applications*. - 2018. - P. 125–135.
221. Anderson, A. The detection of diverse aminoglycoside phosphotransferases within natural populations of actinomycetes / A. Anderson, D. Clark, P. Gibbons, J. Sigmund //

- Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. - 2002. - V. 29. - No. 2. - P. 60–69.
222. Anisha, G.S. Selection of optimal growth medium for the synthesis of α -galactosidase from mangrove actinomycetes / G.S. Anisha, P. Prema // Indian Journal of Biotechnology. - 2006. - V. 5. - No. 3. - P. 373–379.
223. Apelblat, A. Citric Acid / A. Apelblat // Springer, 2014. - 357 c.
224. Asano, N. Glycosidase inhibitors: update and perspectives on practical use / N. Asano // Glycobiology. - 2003. - V. 13. - No. 10. - P. 93-104.
225. Badji, B.N. Lebrihi Isolation and partial characterization of antimicrobial compounds from a new strain *Nomuraea sp.* NM94 / B.N. Badji, A. Sabaou, A. Mostefaoui // Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. - 2017. - V. 86. - No. 4. - P. 421–438.
226. Baltz, R.H. *Streptomyces* temperate bacteriophage integration systems for stable genetic engineering of actinomycetes (and other organisms) / R.H. Baltz // Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. - 2012. - V. 39. - No. 5. - P. 661–672.
227. Basilio, A.I. Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of ph and salinity / A.I. Basilio, M.F. Gonzalez, J. Vicente, A. Gorrochategui, A. Cabello, O. Gonzalez // Journal of Applied Microbiology. - 2003. - V. 95. - No. 4. - P. 814–823.
228. Bennura, T. *Nocardiosis species*: incidence, ecological roles and adaptations / T. Bennura, A. Ravikumara, S. Zinjardea, V. Javdekarb // Microbiological Research. - 2015. - No 174. - P. 33-47.
229. Bentley, S.D. Complete genome sequence of the model actinomycet *Streptomyces coelicolor* A3(2) / S.D. Bentley, K.F. Chater, A.-M. Cerdeno-Tarraga // Nature. - 2002. - V. 417. - No 1. - P. 141-147.
230. Berdy, J. Are actinomycetes exhausted as a source of secondary metabolites? / J. Berdy // Proc. 9th Intern. Symp. Biol. of Actinomycetes. Moskva. - 1994. – 27 p.
231. Bereziuk, Y. The amino acid composition of the biomass of the strain *Streptomyces fradiae* CNMN-AC-11, cultivated on a complex medium with bio products of a cyanobacterial nature / Y. Bereziuk, S. Boortseva, M. Byrsa, S. Garaeva, A. Manciu // Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie. -2017. - T. 24. - №2. - P. 60-65.

232. Berthold, P.R. An engineered *Streptomyces hygroscopicus* APH 7 gene mediates dominant resistance against hygromycin b in *Chlamydomonas reinhardtii* / P.R. Berthold, W. Schmitt // *Protist*. - 2002. - V. 153. - No. 4. - P. 401–412.
233. Bhatti, A.A. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health / A.A. Bhatti, S. Haq, R.A. Bhat // *Microbial Pathogenesis*. - 2017. - V. 111. - P. 458–467.
234. Bhavana, M. Optimization of culture conditions of *Streptomyces carpaticus* (MTCC-11062) for the production of antimicrobial compound / M. Bhavana, V.S. Prasadalluri, K. Sivakumar, S.V. Rajagopal // *Int. J. Pharm Pharm Sci*. - 2014. - No 6. - P. 281-285.
235. Biliavska, L.A. Biosynthetic activity of soil streptomycetes – antagonists of plan-parasitic nematodes and phytopathogens / L.A. Biliavska, V.A. Pidlypska, V.Ye. Kozyriska, G.A. Iutynska // *The Fourth European Conference on Biology and Medical Sciences Ukraine*. - 2015. - P. 10–16.
236. Biliavska, L.O. Sterols biosynthesis by soil streptomycetes / L.O. Biliavska, A.M. Ostapchuk, S.I. Voychuk, G.O. Iutynska // *The Ukrainian Biochemical Journal*. - 2017. - V. 89. - No. 2. - P. 78–84.
237. Boudjella, H.K. Isolation and partial characterization of pigment-like antibiotics produced by a new strain of *Streptosporangium* isolated from an algerian soil / H.K. Boudjella, A. Bouti, N. Zitouni, F. Sabaou, A. Mathieu // *Journal of Applied Microbiology*. - 2007. - V. 103. - No. 1. - P. 228–236.
238. Brandao, P.F.B. Discrimination and taxonomy of geographically diverse strains of nitrile-metabolizing actinomycetes using chemometric and molecular sequencing techniques / P.F.B. Brandao, Ju.P. Clapp, A.T. Bull // *Environmental Microbiology*. - 2002. - V. 4. - No. 5. - P. 262–276.
239. Brinckmann, J. Collagen, *Topics in Current Chemistry* / J. Brinckmann, H.N. Otte, P.K. Müller // Springer. Berlin. - 2005. - 247 c.
240. Brunati, M.F. Molinari Biotransformations of cinnamic and ferulic acid with actinomycetes / M.F. Brunati, C. Marinelli, R. Bertolini, D. Gandolfi, F. Daffonchio // *Enzyme and Microbial Technology*. - 2004. - V. 34. - No. 1. - P. 3–9.
241. Burke, J.D. Westpheling Generalized transduction in *Streptomyces coelicolor* / J.D. Burke, J. Schneider // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2001. - V. 98. - No. 11. - P. 6289–6294.

242. Caffrey, P.S. Amphotericin biosynthesis in *Streptomyces nodosus*: deductions from analysis of polyketide synthase and late genes / P.S. Caffrey, E. Lynch, S. Flood, M. Finnan // *Chemistry & Biology*. - 2001. - V. 8. - No. 7. - P. 713–723.
243. Carneiro-da-Cunha, M.D.G. Campos-Takaki Protoplast formation and regeneration from *Streptomyces clavuligerus* NRRL 3585 and clavulanic acid production / M.D.G. Carneiro-da-Cunha, J.L. Lima, G.M. Filho // *Brazilian Journal of Microbiology*. - 2002. - V. 33. - No. 4. - P. 347–351.
244. Castillo, M.A. Biodegradation of the herbicide diuron by streptomycetes isolated from soil / M.A. Castillo, N. Felis, G. Cuesta, C. Sabater, P. Aragón // *International Biodeterioration & Biodegradation*. - 2006. - V. 58. - No. 3. - P. 196–202.
245. Carrillo, L. Alkalithermophilic actinomycetes in a subtropical area of jujuy, Argentina / L. Carrillo, M.R. Benítez, M.J. Maldonado // *Revista Argentina de Microbiología*. - 2009. - V. 41. - No. 2. - P. 112–116.
246. Chater, K.F. Clorobiocin biosynthesis in *Streptomyces*: identification of the halogenase and generation of structural analogs / K.F. Chater // *Chemistry & Biology*. - 2003. - V. 10. - No. 3. - P. 279–288.
247. Chater, K.F. The complex extracellular biology of *Streptomyces*: review article / K.F. Chater, S. Biró, K.J. Lee, T. Palmer, H. Schrempf // *FEMS Microbiology Reviews*. - 2010. - V. 34. - No. 2. - P. 171–198.
248. Chitte, R.R. Potent fibrinolytic enzyme from a thermophilic *Streptomyces megasporus* strain SD5 / R.R. Chitte, S. Dey // *Letters in Applied Microbiology*. - 2000. - V. 31. - No. 6. - P. 405–410.
249. Chitte, R.R. Production of a fibrinolytic enzyme by thermophilic *Streptomyces species* / R.R. Chitte, S. Dey // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. - 2002. - V. 18. - No. 4. - P. 289–294.
250. Cho, J.Y. Antibacterial benzaldehydes produced by seaweed-derived *Streptomyces atrovirens* PK288-21 / J.Y. Cho, M.S. Kim // *Fisheries Science*. - 2012. - V. 78. - No. 5. - P. 1065–1073.
251. Choudoir, M.J. Diversification of secondary metabolite biosynthetic gene clusters coincides with lineage divergence in *Streptomyces* / M.J. Choudoir, C. Pepe-Ranne, D.H. Buckley // *Antibiotics*. - 2018. - No. 1 (15). - P. 303–307.

252. Colombo, E.M. Critical assessment of streptomyces spp. able to control toxigenic fusaria in cereals: A literature and patent review / E.M. Colombo, A. Kunova, P. Cortesi, M. Saracchi, M. Pasquali // International journal of molecular sciences. - 2019. - V.20. - №24. – 6119 p.
253. Cowan, M.M. Plant Products as antimicrobial agents / M.M. Cowan // Clin. Microbiol. Rev. - 1999. - V.12. - No 4. - P. 564-582.
254. Dangi, B. Tracking down a new steroid-hydroxylating promiscuous cytochrome P450: CYP154C8 from *Streptomyces sp.* W2233 SM / B. Dangi, K.H. Kim, T.J. Oh, S.H. Kang // Chembiochem: a European journal of chemical biology. - 2018. - No. 19 (10). - P. 1066–1077.
255. Dai, W. Antiviral efficacy of flavonoids against enterovirus infection in vitro and in newborn mice / W. Dai, J. Bi, F. Li, S. Wang, X. Huang, X. Meng, B. Sun, D. Wang, W. Kong, C. Jiang, W. Su // Microbiol. Rev. – 2019. - No. 11 (625). - P. 1-14. doi: 10.3390/v11070625.
256. Das, A.C. Soil application of insecticides influences microorganisms and plant nutrients / A.C. Das, D. Mukherjee // Applied Soil Ecology. - 2000. - V. 14. - No. 1. - P. 55–62.
257. Domracheva, L.I. Anti-fusarium activity of cyanobacteria and actinomycetes in soil and rhizosphere / L.I. Domracheva, I.G. Shirokikh, A.I. Fokina // Microbiology. - 2010. - V. 79. - No. 6. - P. 871–876.
258. Efimenko, T.A. Antibiotic activity of bacterial endobionts of basidiomycete fruit bodies / T.A. Efimenko, I.A. Malanicheva, B.F. Vasil'eva, A.A. Glukhova, I.G. Sumarukova, Yu.V. Boikova, N.D. Malkina, L.P. Terekhova, O.V. Efremenkova // Microbiology. - 2016. - V. 85. - P. 740–747.
259. El-Gendy, M.A. Shaaban Bioactive benzopyrone derivatives from new recombinant fusant of marine *Streptomyces* / M.A. El-Gendy, A.M. Shaaban, K.A. El-Bondkly // Applied Biochemistry and Biotechnology – Part A Enzyme Engineering and Biotechnology. - 2008. - V. 150. - No. 1. - P. 85–96.
260. Elnakady, Y.A. Evidence for the mode of action of the highly cytotoxic *Streptomyces* polyketide kendomycin / Y.A. Elnakady, K.J. Weissman, R. Müller, M. Rohde, F. Sasse, C. Backes, A. Keller, H.P. Lenhof // Chembiochem: a European journal of chemical biology. - 2007. - V. 8. - No. 6. - P. 1261–1272.

261. Ernstgard, L. Acute effects of 1 mg/m (3) of vaporized 2-ethyl-1-hexanol in humans / L. Ernstgard // *Indoor air*. - 2010. - V. 20. - No. 2. - P. 168–175.
262. Endo, K.Y. Enzymological characterization of epoa, a laccase-like phenol oxidase produced by *Streptomyces griseus* / K.Y. Endo, Hayashi T., Hibi K., Hosono T., Beppu K. // *Journal of Biochemistry*. - 2003. - V. 133. - No. 5. - P. 671–677.
263. Farkašová, J.A. Identification and characterization of an endolysin encoded by the *Streptomyces aureofaciens* phage μ 1/6 / J.A. Farkašová, C. Godány // *Folia Microbiologica*. - 2003. - V. 148. - No. 6. - P. 737–744.
264. Fernandez-Ballester, G. The histidine-phosphocarrier protein of *Streptomyces coelicolor* folds by a partially folded species at low / G. Fernandez-Ballester, J. Maya, A. Martín, J. Gómez, J.L. Neira, S. Parche, F. Titgemeyer // *FEBS Journal*. - 2003. - V. 270. - No. 10. - P. 2254–2267.
265. Fiedler, H.P. Elloxazinones A and B, new aminophenoxazinones from *Streptomyces griseus* ACTA 2871 / H.P. Fiedler, E. Graf, K. Schneider, R.D. Süßmuth, G. Nicholson, M. Ströbele, A.L. Jones, M. Goodfellow, W. Beil // *Journal of Antibiotics*. - 2007. - V. 60. - No. 4. - P. 277–284.
266. Filippovich, S.Yu. ATP and polyphosphate-dependent bacterial NAD kinases / S.Yu. Filippovich, T.P. Afanas'eva, G.P. Bachurina, M.S. Kritskii // *Applied Biochemistry and Microbiology*. - 2000. - V. 36. - No. 2. - P. 97–100.
267. Garcia-Bernardo, J. Insertional inactivation of mtrx and mtry genes from the mithramycin gene cluster affects production and growth of the producer organism *Streptomyces argillaceus* / J. Garcia-Bernardo, A.F. Brana, C. Mendez, J.A. Salas // *FEMS Microbiology Letters*. - 2000. - V. 186. - No. 1. - P. 61–65.
268. García-Salcedo, R.R. Characterization of the jomthonic acids biosynthesis pathway and isolation of novel analogues in *Streptomyces caniferus* GUA-06-05-006A / R.R. García-Salcedo, C. Álvarez-Álvarez, A.F. Olah, C. Brana, J.A. Méndez, L. Salas, F. Cañedo, D.L. Calle // *Marine Drugs*. - 2018. - No. 16 (8). - 259 p.
269. Goldwhite, H. Short summary of the career of the German organic chemist, Hermann Kolbe / H. Goldwhite // *New Haven Section Bull. Am. Chem. Soc. Journal*. - 2003. - V. 20. - No. 3. - P. 203–218.

270. Gómez, C.C. Salas Three pathway-specific regulators control streptolydigin biosynthesis in *Streptomyces lydicus* / C.C. Gómez, C. Olano, J.A. Méndez // *Microbiology*. - 2012. - V. 158. - No. 10. - P. 2504-2514.
271. Grigoryan, L.N. Study of the component structure of the metabolites of bacteria *Nocardiosis umidischolae* in the search for eco-friendly plant protection agents / L.N. Grigoryan, Y.V. Bataeva, E.D. Andreeva, D.Kh. Zakar'yaeva, Z.O. Turaeva // *Russian Journal of General Chemistry*. - 2020. - No 90 (13). - P. 2531–2541. <https://doi.org/10.1134/S1070363220130010>.
272. Grünewald, J. Chemoenzymatic and template-directed synthesis of bioactive macrocyclic peptides / J. Grünewald, M.A. Marahiel // *Microbiol. & Molec. Biol. Rev.* - 2006. - V. 70. - No 1. - P. 121-146.
273. Lamb, G.D. Point: Counterpoint: Lactic acid accumulation is an advantage disadvantage during muscle activity / G.D. Lamb, D.G. Stephenson // *Journal of Applied Physiology*. - 2006. - №4. - C. 1410-1412.
274. Matolcsy, G. Pesticide chemistry / G. Matolcsy, M. Nádasy, V. Andriská // Elsevier. - 2002. - P. 21-22.
275. Hackman, R.H. The occurrence of phenolic substances in arthropods / R.H. Hackman, M.G. Pryor, A.R. Todd // *The Biochemical journal*. - 1948. - V. 43. - No. 3. - P. 474-477.
276. Haritha, R. Characterization of marine *Streptomyces carpaticus* and optimization of conditions for production of extracellular protease / R. Haritha, K. Sivakumar, A. Swathi, Y.S.Y.V. Jagan Mohan, T. Ramana // *Microbiology journal*. - 2012. - No 2. - P. 23-35.
277. Hatanaka, T. Sequencing of metalloendopeptidase from *Streptomyces septatus* TH-2 / T. Hatanaka, M. Iwabuchi, J.A. Yoshiko Uesugi // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. - 2005. - V. 434. - No. 2. - P. 289–298.
278. Hou, B.L. Global regulator bldA regulates morphological differentiation and lincomycin production in *Streptomyces lincolnensis* / B.L. Hou, X. Tao, W. Zhu, M. Wu, H. Guo, H. Wu, J.Y. Zhang // *Applied Microbiology and Biotechnology*. - 2018. - No. 102 (9). - P. 4101–4115.
279. Hristeva, T.H. Screening of soil actinomycetes with antagonistic activity against pathogens of the genus *Alternaria* at tobacco plants / T.H. Hristeva // *Евразийский союз ученых*. - 2016. - No. 31 (2). - P. 48–52.

280. Hyun, C.G. An efficient approach for cloning the dndp-glucose synthase gene from actinomycetes and its application in *Streptomyces spectabilis*, a spectinomycin producer / C.G. Hyun, S.S. Kim, J.K. Sohng, J.J. Hahn, J.W. Kim, J.W. Suh // FEMS Microbiology Letters. - 2000. - V. 183. - No. 1. - P. 183-189.
281. Il'ina, A.V. Extracellular proteinase and chitinase produced by a culture of *Streptomyces kurssanae* / A.V. Il'ina, N.Yu. Tatarinova, V.E. Tikhonov, V.P. Varlamov // Applied Biochemistry and Microbiology. - 2000. - V. 36. - No. 2. - P. 146-149.
282. Indhuja, S.S. Extracellular keratinolytic proteases from an alkalophilic *Streptomyces albidoflavus* TBG-S13A5: enhanced production and characterization / S.S. Indhuja, N.S. Shiburaj, V. Pradeep, T.K. Thankamani // Journal of Pure and Applied Microbiology. - 2012. - V. 66. - No. 4. - P. 1599-1607.
283. Iwasaki, Y. Importance of disulfide bridge formation on folding of phospholipase from *Streptomyces antibioticus* / Y. Iwasaki, T. Nishiyama, Y. Kawarasaki, H. Nakano, T. Yamane // Journal of Bioscience and Bioengineering. - 2000. - V. 89. - No. 5. - P. 506-508.
284. Izumikawa, M. 18O-labelling pattern of okadaic acid in dinoflagellate procenteron lima elucidated by tandem mass spectrometry / M. Izumikawa, M. Murata, K. Tachibana, T. Fujita, H. Naoki // FEBS Journal. - 2000. - V. 267. - No. 16. - P. 5179-5183.
285. Jardine, M. Synthesis of mycothiol, 1d-1-o-(2-(n-acetyl-l-cysteinyl)amino-2-deoxy- α -d-glucopyranosyl)-myo-inositol, principal low molecular mass thiol in the actinomycetes / M. Jardine, D.J. Steenkamp, H.S. Spies, C.M. Nkambule, D.W. Gammon // Bioorganic & Medicinal Chemistry. - 2002. - V. 10. - No. 4. - P. 875-881.
286. Jiang, Y. Marine actinobacteria, an important source of novel secondary metabolites / Y. Jiang, J. Wiese, J.F. Imhoff, L.H. Xu, C.L. Jiang // Chinese Journal of Antibiotics. - 2007. - V. 32. - No. 12. - P. 875-881.
287. Jung, W.S. Characterization and engineering of the ethylmalonyl-coa pathway towards the improved heterologous production of polyketides in *Streptomyces venezuelae* / W.S. Jung, E. Kim, Y.J. Yoo, Y.H. Ban, E.J. Kim, Y.J. Yoon // Applied Microbiology and Biotechnology. - 2014. - V. 98. - No. 8. - P. 3701-3713.
288. Jung, S.J. Screening and evaluation of *Streptomyces* species as a potential biocontrol agent against a wood Decay fungus, *Gloeophyllum trabeum* / S.J. Jung, J.K. Lee, N.K. Kim, D.H. Lee, S.I. Hong // Mycobiology. - 2018. - No. 46 (2). - P. 138-146.

289. Karrouchi, K. Synthesis and Pharmacological Activities of Pyrazole Derivatives / K. Karrouchi, S. Radi, Y. Ramli, J. Taoufik, Y.N. Mabkhot, F.A. Al-aizari. // *Molecules*. - 2018. - 23 (134). - P. 1-85. doi:10.3390/molecules23010134.
290. Koreishi, M.F. Purification and characterization of a novel aminocyclase from *Streptomyces mobaraensis* / M.F. Koreishi, H. Asayama, K. Imanaka, K. Imamura, M. Nakanishi, T. Kadota // *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. - 2005. - V. 69. - No. 10. P. 1914-1922.
291. Korkmaz, M.O. Insecticidal activity of some strains of streptomycetes isolated from the soil against larvae and adults of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*). / M.O. Korkmaz, D. Erturk // *Turkey: Bitki Koruma Bul.* - 2015. - V. 55. - No. 1. - P. 73–84.
292. Kouomou, P.F.D. Evaluation of antagonistic activities against *Pythium myriotylum* and plant growth promoting traits of streptomycetes isolated from cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) SCHOTT) rhizosphere / P.F.D. Kouomou, C.A. Ewane, T. Boudjeko, S. Lerat, C. Beaulieu, D.O. Ndoumou // *Australian journal of crop science*. – 2019. -V. 13. - No. 6. – P. 920-933.
293. Kozhuharova, L.V. Isolation, purification and characterization of levorin produced by *Streptomyces levoris* 99/23 / L.V. Kozhuharova, L. Gochev // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. - 2008. - V. 24. - No. 1. - P. 1–5.
294. Krylova, J.V. The pollution of Lake Ladoga by organochlorine pesticides and petroleum products / J.V. Krylova, E.A. Kurashov, N.N. Korkishko // *Lakes and Reservoirs: Research and Management*. - 2003. - No. 8 (3). - P. 231–246. doi: 10.1111/j.1440-1770.2003.00225.
295. Langlois, P.C. Identification of *Streptomyces coelicolor* proteins that are differentially expressed in the presence of plant material / P.C. Langlois, S. Beaulieu, G.G. Bourassa // *Applied and Environmental Microbiology*. - 2003. - V. 69. - No. 4. - P. 1884–1889.
296. Lazzarini, A.L. Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics / A.L. Lazzarini, G. Cavaletti, F. Toppo // *Antonie van Leeuwenhoek*. - 2000. - V. 78. - No. 3 (4). - P. 399–405.
297. Lewis, R.J. Condensed chemical dictionary Hawley / R.J. Lewis, N.Y. Van // 12th ed. New York: Strand Rheinhold. - 1993. - 776 p.

298. Li, S.M. New aminocoumarin antibiotics from genetically engineered *Streptomyces* strains / S.M. Li, L. Heide // *Current Medicinal Chemistry*. - 2005. - V. 12. - No. 4. - P. 419-427.
299. Lide, D.R. Handbook of data on organic compounds / D.R. Lide, G.W.A. Milne // Volume I. 3rd ed. CRC Press, Inc. Boca Raton. Florida. - 1994. - V. 3. - P. 2551–3107.
300. Luzhetskyy, A.A. Bechthold ND applications of bacterial glycosyltransferases: current state and prospects / A.A. Luzhetskyy // *Applied Microbiology and Biotechnology*. - 2008. - V. 80. - No. 6. - P. 945–952.
301. Ma, Z.S. Characterization of representative rpoB gene mutations leading to a significant change in toyocamycin production of *Streptomyces diastatochromogenes* 1628 / Z.S. Ma, X. Luo, X. Xu // *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. - 2016. - V. 43. - No. 4. - P. 463–471.
302. Machavariani, N.G. Isolation of Endophytic Actinomycetes from Medicinal Plants of the Moscow Region, Russia / N.G. Machavariani, T.D. Ivankova, O.N. Sineva, L.P. Terekhova // *World Applied Sciences Journal*. - 2014. - V. 30. - No. 11. - P. 1599-1604.
303. Maffioli, S.I. Orthoformimycin, a selective inhibitor of bacterial translation elongation from *Streptomyces* containing an unusual / S.I. Maffioli, P. Monciardini, S. Donadio, A. Fabbretti, L. Brandi, C.O. Gualerzi, A. Savelsbergh, M. Abbondi, R. Rossi // *ACS Chemical Biology*. - 2013. - V. 8. - No. 9. - P. 1939–1946.
304. Marakasova, K.S. Negative regulation of moenomycin a biosynthesis in *Streptomyces ghanaensis* ATCC14672 / K.S. Marakasova, B.O. Ostash, V.O. Fedorenko // *Micrology and biotechnology*. - 2009. - No. 3 (7). - P. 36–39.
305. Manucharova, N.A. Characterization of the Structure of the Prokaryotic Complex of Antarctic Permafrost by Molecular Genetic Techniques / N.A. Manucharova, E.V. Trosheva, E.M. Kol'tsova, E.V. Demkina, E.V. Karaevskaya, E.M. Rivkina, A.V. Mardanov, G.I. El'-Registan // *Microbiology*. - 2016. - T. 85. - No. 1. - C. 102-108.
306. Manucharova, N.A. Molecular Analysis of the Hydrolytic Component of Petroleum Contaminated Soils and of Soils Remediated with Chitin / N.A. Manucharova, Yu.V. Kuteinikova, P.V. Ivanov, S.K. Nikolaeva, V.T. Trofimov, P.Yu. Stepanov, E.V. Tyapkina, D.N. Lipatov, A.L. Stepanov // *Microbiology*, издательство Maik Nauka // Interperiodica Publishing (Russian Federation). - 2017. - T. 68. - No. 3. - C. 395-402.

307. Manucharova, N.A. Changes in the Phylogenetic Structure of the Metabolically Active Prokaryotic Soil Complex Induced by Oil Pollution / N.A. Manucharova, N.A. Ksenofontova, T.D. Karimov, A.P. Vlasova, G.M. Zenova, A.L. Stepanov // *Microbiology*. - 2020. - T. 89. - No. 2. - C. 219-230.
308. Manucharova, N.A. Prokaryotic Component of Oil-Contaminated Oligotrophic Peat Soil under Different Levels of Mineral Nutrition: Biomass, Diversity, and Activity / N.A. Manucharova, N.A. Ksenofontova, A.A. Belov, N.N. Kamenskiy, A.V. Arzamazova, G.M. Zenova, R.R. Kinzhaev, S.Ya. Trofimov, A.I. Stepanov. *Eurasian Soil Science*. - 2021. - T. 54. - No. 1. - C. 89-97.
309. Mascotti, M.L. Expanding the toolbox for enantioselective sulfide oxidations: *Streptomyces* strains as biocatalysts / M.L. Mascotti, M. Kurina-Sanz, M.A. Palazzolo, E. Lewkowicz // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. - 2013. - V. 2. - No. 4. - P. 399–402.
310. Maskey, R.P. Quinazolin-4-one derivatives from *Streptomyces* isolates / R.P. Maskey, M. Shaaban, H. Laatsch, I. Grün-Wollny // *Journal of Natural Products (Lloydia)*. - 2004. - V. 67. - No. 7. - P. 1131 – 1134.
311. Middleton, E. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells / E.Jr. Middleton, C. Kandaswami, T.C. Theoharides // *Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. Pharmacol. Rev.* - 2000. - V. 52. - No. 4. - P. 673-751.
312. Milas, N.A. Fumaric Acid. *Organic Synthesis* / N.A. Milas // *Collective*, 1943. -V. 2. - 302 p.
313. Molinari, F. Biotransformations of lipoglycopeptides to obtain novel antibiotics / F.Molinari, R. Gandolfi, S. Jovetic, F. Marinelli // *Journal of Antibiotics*. - 2007. - V. 60. - No. 4. - P. 265–271.
314. Moss, S.J. Fluoroacetaldehyde: a precursor of both fluoroacetate and 4-fluorothreonine in *Streptomyces cattleya* / S.J. Moss, C.D. Murphy, D.O. Hagan, C. Schaffrath, J.T.G. Hamilton, W.C. McRoberts, D.B. Harper // *Chemical Communications*. - 2000. - No. 22. - P. 2281–2282.
315. Nanjwade, B.K. Isolation and morphological characterization of antibiotic producing actinomycetes / B.K. Nanjwade, A.M. Shamarez, F.V. Manvi, S. Chandrashekhara, P.S. Goudanavar // *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. - 2010. - V. 9. - No. 9. - P. 231–236.

316. Naumova, I.B. Cell wall teichoic acids: structural diversity, species specificity in the genus *Nocardioopsis*, and chemotaxonomic perspective / I.B. Naumova, E.M. Tul'Skaya, G.M. Streshinskaya, Y.I. Kozlova, N.V. Potekhina, A.S. Shashkov, L.I. Evtushenko, E. Stackebrandt // FEMS Microbiology Reviews. - 2001. - V. 25. - No. 3. - P. 269–284.
317. Ningthoujam, D.S. Studies on bioactive actinomycetes in a niche biotope, nambul river in manipur, India / D.S. Ningthoujam, S. Sanasam, S. Nimaichand // Journal of Microbial and Biochemical Technology. - 2013. - V. 5. - No. 2. - P. 11-14.
318. Niyomvong, N.K. Thamchaipenet Actinomycetes from tropical limestone caves / N.K. Niyomvong, W. Duangmal, A. Pathom-Aree // Chiang Mai Journal of Science. - 2012. - V. 39. - No. 3. - P. 373–388.
319. Ohlendorf, B.D. Geranylphenazinediol, an acetylcholinesterase inhibitor produced by a *Streptomyces species* / B.D. Ohlendorf, A. Schulz, K. Erhard, J.F. Nagel // Journal of Natural Products (Lloydia). - 2012. - V. 75. - No. 7. - P. 1400–1404.
320. Oskay, M. Comparison of *Streptomyces* diversity between agricultural and noagricultural soils by using various culture media / M. Oskay // Scientific Research and Essays. - 2009. - V. 4. - No. 10. - P. 997–1005.
321. Petković, H.J. Thamchaipenet Genetics of *Streptomyces rimosus*, the oxytetracycline producer / H.J. Petković, D. Cullum, I.S. Hranueli, N. Hunter, P.F. Perić-Concha, J. Long, D. Pigac, A. Vujaklija // Microbiology and Molecular Biology Reviews. - 2006. - V. 70. - No. 3. - P. 704–728.
322. Peltola, J.S.P. Isolation of toxigenic *Nocardioopsis* strains from indoor environments and description of two new *Nocardioopsis species*, *N. exhalans sp. nov.* and *N. umidischolae sp. Nov.* / J.S.P. Peltola, M.A. Andersson, P. Kämpfer, G. Auling, R.M. Kroppenstedt, H.-J. Busse, M.S. Salkinoja-Salonen, F.A. Rainey // Appl Environ Microbiol. - 2001. - No 67 (9). - P. 4293–4304.
323. Petricková, K.T. Evolution of cyclizing 5-aminolevulinate synthases in the biosynthesis of actinomycete secondary metabolites: outcomes for genetic screening techniques / K.T. Petricková, S. Zelenka, M. Pospíšil, A. Petříček, T. Chronáková, V. Chrudimský // Frontiers in Microbiology. -2015. - V. 6. - No. 8. - P. 594–608.
324. Pettis, G.S. Intergeneric conjugal gene transfer from *Escherichia coli* to the sweet potato pathogen *Streptomyces ipomoeae* / G.S. Pettis, D. Guan // Letters in Applied Microbiology. - 2009. - V. 49. - No. 1. - P. 67–72.

325. Pizzul, L. Characterization of selected actinomycetes degrading polyaromatic hydrocarbons in liquid culture and spiked soil / L. Pizzul, M.D. Pilar, J. Castillo // World Journal of Microbiology and Biotechnology. - 2006. - V. 22. - No. 7. -P. 745–752.
326. Polishchuk, L.V. Influence of herbicides (phenylurea compounds) on some capacities of streptomycetes / L.V. Polishchuk, A.M. Strizhkova, V.V. Lukyanchuk // Bulletin of Odessa National University. Biology. - 2001. - V. 6. - No. 4. - P. 244–246.
327. Pylro, V.S. Draft genomic sequences of *Streptomyces misionensis* ACT66 and *Streptomyces albidoflavus* act77, bacteria with potential application for phytopathogen biocontrol / V.S. Pylro, A.C.F. Dias, C.C.F. Andreote, F.D. Andreote, D.E. Mello, A. Varani, D.E. Figueiredo, I.A. Ribeiro, I.T. Kitano, D.E. Almeida, E.R. Bernardo // Microbiology resource announcements. - 2019. - V.8. – No. 36. – P. 118-125.
328. Raty, K.A. Gene cluster from *Streptomyces galilaeus* involved in glycosylation of aclarubicin / K.A. Raty, T. Kunnari, J. Hakala, P. Mantsala, K. Ylihonko // Molecular and General Genetics MGG. - 2000. - V. 264. - No. 1 (2). - P. 164–172.
329. Rainey, F.A. The genus *Nocardiopsis* represents a phylogenetically coherent taxon and a distinct actinomycete lineage: proposal of *Nocardiopsaceae* fam. NOV. / F.A. Rainey, N. Ward-Rainey, R.M. Kroppenstedt, E. Stackebrandt // Int J Syst Bacteriol. - 1996. - No 46. - P. 1088-1092.
330. Rebets, Y. Function of *lanI* in regulation of landomycin a biosynthesis in *Streptomyces cyanogenus* S136 and cross-complementation studies with *Streptomyces* antibiotic regulatory proteins encoding genes / Y. Rebets, L. Dutko, B. Ostash, O. Kulachkovskyy, V. Fedorenko, A. Luzhetskyy, A. Bechthold, T. Yamaguchi, T. Nakamura // Archives of Microbiology. - 2008. -V. 189. - No. 2. - P. 111–120.
331. Reddy, D. Anticancer and Antiviral Properties of Cardiac Glycosides: A Review to Explore the Mechanism of Actions / D. Reddy, R. Kumavath, D. Barh, V. Azevedo, P. Ghosh // Molecules. - 2020. - No. 25(16). - P. 3596. doi: 10.3390/molecules25163596.
332. Reghioua, S. Antibacterial activity of rare actinomycetes isolated from arid soil samples of the south-east of Algeria / S. Reghioua, F. Boughachiche, H. Zerizer L. Oulmi, M. Kitouni, A. Boudemagh, A. Boulahrouf //Antibiotiques. - 2006.- V. 8.-No. 3.-P. 147–152.
333. Řezanka, T. Five new derivatives of nonactic and homo-nonactic acids from *Streptomyces globisporus* / T. Řezanka, J. Spížek Příkrylová V., Prell A., Dembitsky V.M. // Tetrahedron. - 2004. - V. 60. - No. 22. - P. 4781–4787.

334. Rusanova, E.P. An antibiotic complex produced by *Streptomyces werraensis* 1365T strain / E.P. Rusanova, T.A. Alekhova, G.B. Fedorova, G.S. Katrukha // Applied Biochemistry and Microbiology. - 2000. - V. 36. - No. 5. - P. 564–568.
335. Saadoun, I. Influence of culture conditions of *Streptomyces sp.* (strain S 242) on chitinase production / I. Saadoun, R. Al-Omari, Z. Jaradat, Q. Ababneh // Polish Journal of Microbiology. - 2009. - V. 58. - No. 4. - P. 339–345.
336. Sabaratnam, S. Formulation of a *Streptomyces* biocontrol agent for the suppression of rhizoctonia damping-off in tomato transplants / S. Sabaratnam, J.A. Traquair // Biological Control. - 2002. - V. 23. - No. 3. - P. 245–253.
337. Saito, N. Accentuates PPGPP accumulation and is conditionally required for antibiotic production in *Streptomyces coelicolor* A3(2) / N. Saito, J. Xu, T. Hosaka, S. Okamoto, H. Aoki, K. Ochi, M.J. Bibb // Journal of Bacteriology. - 2006. - V. 188. - No. 13. - P. 4952–4961.
338. Sakdapetsiri, C. Solid state fermentation, storage and viability of *Streptomyces similanensis* 9X166 using agro-industrial substrates against *Phytophthora palmivora* - induced black rot disease in orchids / C. Sakdapetsiri, Y. Fukuta, Y. Aramsirirujwet, N. Shirasaka, S. Tokuyama, V. Kitpreechavanich // Biocontrol science & technology. - 2019. - V.29. - No 3. - P. 276-292.
339. Schütze, E. Taking nature into lab: biomineralization by heavy metal-resistant streptomycetes in soil / E. Schütze, A. Weist, M. Klose, T. Wach, M. Schumann, E. Kothe, S. Nietzsche, D. Merten, J. Baumert, J. Majzlan // Biogeosciences. - 2013. - V. 6. - No. 6. - P. 3605–3614.
340. Shaaban, M.A. Biosynthesis of Ag, Se, and Zn nanoparticles with antimicrobial activities against resistant pathogens using waste isolate *Streptomyces enissocaesilis* / M.A. Shaaban, M. El-Mahdy // IET Nanobiotechnology.- 2018. - No. 12 (6).-P. 741–747.
341. Shen, X.L. Affects sporulation and antibiotic production by which in *Streptomyces coelicolor* / X.L. Shen, H.J. Dong, X.P. Hou, W.J. Guan, Y.Q. Li // Current Microbiology. - 2008. - T. 56. - No. 1. - P. 61–65.
342. Shirobokov, V.P. Antifungal activity of streptomycetes isolated bentonite clay / V.P. Shirobokov, V.A. Poniatovskiy // Zaporozhye medical journal. - 2016. - No. 6 (99). - P. 82–87.

343. Shirokikh, I.G. Antifungal potential of actinomycetes in the rhizosphere of barley in soddy-podzolic soils / I.G. Shirokikh // Eurasian Soil Science. - 2003. - V. 36. - No. 4. - P. 414–419.
344. Shirokikh, I.G. Actinomycetes in garden soils of the city of Kirov / I.G. Shirokikh, E.S. Solov'eva, T.Y. Ashikhmina // Eurasian Soil Science. – 2013. -V. 46. -No. 5.-P. 565–571.
345. Singh, R. Isolation and characterization of a new endophytic actinobacterium *Streptomyces californicus* strain adr1 as a promising source of anti-bacterial, anti-biofilm and antioxidant metabolites / R. Singh, A.K. Dubey // Microorganisms. – 2020. - V.8. - No. 6. – 929 p.
346. Sobolevskaya, M.P. Biologically active compounds from lake Baikal streptomycetes / M.P. Sobolevskaya, I.A. Li, M.I. Kusaikin, N.S. Verigina, A.N. Mazeika, L.S. Shevchenko, Yu.V. Burtseva, T.N. Zvyagintseva, T.A. Kuznetsova, I.A. Terkina, V.V. Parfenova, L.S. Buzoleva // Chemistry of Natural Compounds. - 2006. - V. 42. - No. 1. - P. 82–87.
347. Solanki, R.M. Bioactive compounds from marine actinomycetes / R.M. Solanki, R. Khanna // Indian Journal of Microbiology. - 2008. - V. 48. - No. 4. - P. 410–431.
348. Srinivasa, R.T. Studies on combined effect of biofertilizers and in situ green manuring on leaf yield in mulberry / R.T. Srinivasa, B. Kasi, J.V. Krishna, A. Harihara, K. Lavanya, S. Jayaraj // Indian Journal of Sericulture. - 2008. - V. 47. No. 1. - P. 16–19.
349. Stevenson, C.E. Investigation of DNA sequence recognition by a streptomycete MARR family transcriptional regulator through surface plasmon resonance and x-ray crystallography / C.E. Stevenson, S.J. Assaad, D.M. Greive, G. Lawson, T.B. Chandra, K. Le, M.J. Bibb // Nucleic Acids Research. - 2013. - V. 41. - No. 14. - P. 7009–7022.
350. Streshinskaya, G.M. Cell wall teichoic acids of actinomycetes of three genera of the order *Actinomycetales* / G.M. Streshinskaya, I.B. Naumova, A.S. Shashkov, A.I. Usov, L.I. Evtushenko // Biochemistry. - 2002. - V. 67. - No. 7. - P. 778–785.
351. Subba, B. Production of aminoglycosides in noaminoglycoside producing *Streptomyces lividans* TK24 / B. Subba, N.P. Kurumbang, Y.S. Jung, Y.J. Yoon, H.C. Lee, K. Liou, J.K. Sohng // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. - 2007. - V. 17. - No. 7. - P. 1892–1896.
352. Subramanian, D. Isolation, Characterization, Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic Effect of Marine Actinomycete, *Streptomyces Carpaticus* MK-01, against Fish Pathogens

- / D. Subramanian, M.-S. Kim, Kim D.-H., M.-S. Heo // Biological and applied sciences - Braz. arch. biol. Technol - 2017. - No 60. . - P. 278–281.
353. Sunhare, R. Production, purification and biochemical analysis of rnaase producing mutant strain of *Streptomyces venezuelae* / R. Sunhare, R. Prabu, G. Punniyamorthy // Minerva Biotecnologica. - 2013. - V. 25. - No. 3. - P. 165–170.
354. Sutcliffe, I.C. Characterisation of a lipomannan lipoglycan from the mycolic acid containing actinomycete *Dietzia maris* / I.C. Sutcliffe // Antonie van Leeuwenhoek. - 2000. - V. 21. - No. 2. - P. 281–293.
355. Tamura, K. Molecular evolutionary genetics analysis using Maximum Likelihood, evolutionary distance, and Maximum Parsimony methods / K. Tamura, D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei, S. Kumar // Molecular Biology and Evolution. - 2011. - V. 28. - P. 2731–2739.
356. Tepper, A.W. Channeling of electrons within slac, the small laccase from *Streptomyces coelicolor* / A.W. Tepper, G.W. Canters, T.J. Aartsma // Faraday Discussions. - 2011. - V. 148. - P. 161–171.
357. Thuan, N.H. Genome-guided exploration of metabolic features of *Streptomyces peucetius* ATCC 27952: past, current, and prospect / N.H. Thuan, D. Dhakal, A.R. Pokhrel, L.L. Chu, T.T. Van, A. Shrestha, J.K. Sohng // Applied Microbiology and Biotechnology. - 2018. - No. 102 (10). - P. 4355–4370.
358. Thumar, J.T. Secretion of an alkaline protease from a salt- tolerant and alkaliphilic, *Streptomyces clavuligerus* strain MIT-1 / J.T. Thumar, S.P. Singh // Brazilian Journal of Microbiology. - 2007. - V. 38. - No. 4. - P. 766–772.
359. Thuy, T.T. Functional characterizations of novwus involved in novobiocin biosynthesis from *Streptomyces spheroids* / T.T. Thuy, H.C. Lee, J.K. Sohng, C.G. Kim, L. Heide // Archives of Biochemistry and Biophysics. - 2005. - V. 436. - No. 1. - P. 161–167.
360. Tokala, R.K. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*) / R.K. Tokala, J.L. Strap, C.M. Jung, D.L. Crawford, M.H. Salove, L.A. Deobald, J.F. Bailey, M.J. Morra // Applied and Environmental Microbiology. - 2002. - V. 68. No. 5. - P. 2161–2171.
361. Umeyama, T. Protein serinethreonine kinases in signal transduction for secondary metabolism and morphogenesis in *Streptomyces* / T. Umeyama, P.C. Lee, S. Horinouchi // Applied Microbiology and Biotechnology. - 2002. - V. 59. No. 4 (5). - P. 419–425.

362. Van Gastel, M.E. EPR study of the dinuclear active copper site of tyrosinase from *Streptomyces antibioticus* / M.E. Van Gastel, J.J. Groenen, L. Bubacco, E. Vijgenboom, G.W. Canters // FEBS Letters. - 2000. - V. 474. - No. 2 (3). - P. 228–232.
363. Van Wezel, G.P. The regulation of the secondary metabolism of *Streptomyces*: new links and experimental advances / Van Wezel G.P., McDowall K.J. // Natural Product Reports. - 2011. - V. 28. - No. 7. - P. 1311–1333.
364. Varalakshmi, T.P. Taxonomic studies and phylogenetic characterization of potential and pigmented antibiotic producing actinomycetes isolated from rhizosphere soils / T.P. Varalakshmi, B.B. Charyulu, K.M. Sekhar // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. - 2014. - V. 6. No. 6. - P. 511–519.
365. Varma, R.S. Nene Biosynthesis of cholesterol oxidase by *Streptomyces lavendulae* NCIM 2421 / R.S. Varma // Enzyme and Microbial Technology. - 2003. - V. 33. - No. 3. - P. 286–291.
366. Vasil'chenko, L.G. Isolation and characteristics of micromycetes-producers of neutral phenol oxidase from trophic soil with a high level of dioxins / L.G. Vasil'chenko, O.V. Koroleva, E.V. Stepanova, E.O. Landesman, M.L. Rabinovich // Прикладная биохимия и микробиология. - 2000. - V. 36. - No. 4. - P. 412–421.
367. Verma, V.C. Endophytic actinomycetes from *azadirachta indica* a. juss: isolation, diversity, and anti-microbial activity / V.C. Verma, S.K. Gond, A. Kumar, A. Mishra, R.N. Kharwar, A.C. Gange // Microbial Ecology. - 2009. - V. 57. - No. 4. - P. 749–756.
368. Verslyppe, B. StrainInfo introduces electronic passports for microorganisms / B. Verslyppe, De. Smet, De.B. Baets, De. Vos, P. Dawyndt // Syst Appl Microbiol. - 2014. - No 37. - P. 42 – 50.
369. Vityaz, S.N. The effect of metabolic products of *Streptomyces avermectilis* on the dynamics of currant bud mite on blackcurrant seedlings with a closed-root system in seed-field conditions / S.N. Vityaz, E.A. Dyukova // Modern trends in agricultural production in the world economy. – 2020. – P. 165-171.
370. Waksman, S.A. Production of antibiotic substances by actinomycetes / S.A. Waksman, A. Schatz, D.M. Reynolds // Annals of the New York Academy of Sciences. - 2010. - V. 1213. - No. 1. - P. 112–124.
371. Wang, B. Stereochemical and mechanistic investigation of the reaction catalyzed by fom3 from *Streptomyces fradiae*, a cobalamin-dependent radical s-adenosylmethionine

- methylase / B. Wang, H.L. Knox, S. Zhou, E.J. Blaes, C. Krebs, R.X. Wang, S.J. Booker, A.J. Blaszczyk // *Biochemistry*. - 2018. - No. 57 (33). - P. 4972–4984.
372. Watkins, A.L. The prevalence and distribution of neurodegenerative compound-producing soil *Streptomyces* spp. / A.L. Watkins, A. Ray, L.R. Roberts, K.A. Caldwell, J.B. Olson // *Scientific Reports*. - 2016. - V. 6. - P. 225–566.
373. Widdick, D. Analysis of the tunicamycin biosynthetic gene cluster of *Streptomyces chartreusis* reveals new insights into tunicamycin production and immunity / D. Widdick, N.M. Vior, J.P. Gomez-Escribano, M.J. Bibb, S.F. Royer, H. Wang, B.G. Davis // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. - 2018. - No. 62 (8). - P. 13–18.
374. Willey, J.M. Morphogenetic signaling molecules of the streptomycetes / J.M. Willey, A.A. Gaskell // *Chemical Reviews*. - 2011. - V. 111. - No. 1. - P. 174 – 187.
375. Williamson, N.P. Molecular detection of bacterial and *Streptomyces chitinases* in the environment / N.P. Williamson, E.M. Brian, H. Wellington // *Antonie van Leeuwenhoek*. - 2000. - V. 78. - No. 3 (4). - P. 315–321.
376. Xu, F.B. Seyedsayamdost Discovery of a cryptic antifungal compound from *Streptomyces albus* J1074 using high-throughput elicitor screens / F.B. Xu, K. Nazari, L.B. Moon, M.R. Bushin // *Journal of the American Chemical Society*. - 2017. - V. 139. - No. 27. - P. 9203–9212.
377. Xu, X N. Genome mining of the marine actinomycete *Streptomyces* sp. DUT11 and discovery of tunicamycins as anti-complement agents / X.N. Xu, L.Y. Chen, C. Chen, Y.J. Tang, F.W. Bai, X.Q. Zhao, C. Su // *Frontiers in Microbiology*. - 2018. - No. 9. - P. 13-18.
378. Yagüe, P. Pre-sporulation stages of *Streptomyces* differentiation: state-of-the-art and future perspectives / P. Yagüe, M.T. López-García, B. Rioseras, J. Sánchez, A. Manteca // *FEMS Microbiology Letters*. - 2013. - V. 342. - No. 2. - P. 79–88.
379. Yang, B. Ecological distribution and antimicrobial effects of soil actinomycetes in artificial vegetation / B. Yang, Q.H. Xue, Z.Y. Guo, X.L. Zhang, Y.Q. Zhou, Y.J. Xu, Z.Q. Chen, D.F. Sun // *Chinese Journal of Applied Ecology*. - 2008. - V. 19. - No. 8. - P. 1694–1701.
380. Yan, X. *Streptomyces ginkgonis* sp. nov., an endophyte from *Ginkgo biloba* / X. Yan, Y. Li, N. Wang, Y. Chen, L.-l. Huang // *Antonie van Leeuwenhoek*. - 2018. - V. 111. - No. 6. - P. 891 - 896.

381. Yardin, M.R. Development of high quality carrier materials for field delivery of key microorganisms used as bio-fertilisers and bio-pesticides / M.R. Yardin, I.R. Kennedy, J.E. Thies // *Radiation Physics and Chemistry*. - 2000. - V. 57. - No. 6. - P. 565-568.
382. Yeo, S.H. Screening and identification of a *Streptomyces platensis* YK-2, a new transglutaminase producer / S.H. Yeo, J.H. Yoon, D.G. Lee, H.S. Kim // *Journal of Microbiology and Biotechnology*. - 2009. - V. 19. - No. 6. - P. 588-595.
383. Yoon, Y.J. Generation of multiple bioactive macrolides by hybrid modular polyketide synthases in *Streptomyces venezuelae* / Y.J. Yoon, B.J. Beck, H.Y. Kang, D.H. Sherman, B.S. Kim, K.A. Reynolds // *Chemistry & Biology*. - 2002. - V. 9. - No. 2. - P. 203–214.
384. Zakalyukina, Yu.V. Acidophilic soil actinomycetes / Yu.V. Zakalyukina, G.M. Zenova, D.G. Zvyagintsev // *Microbiology*. - 2002. - V. 71. - No. 3. - P. 342–345.
385. Zehner, S.A. Regioselective tryptophan 5-halogenase is involved in pyrroindomycin biosynthesis in *Streptomyces rugosporus* LL-42D005 / S.A. Zehner, K.H. Kotzsch, B. Van Pée, R.D. Bister, C. Süßmuth, J. Méndez, A.A. Salas // *Chemistry & Biology*. - 2005. - V. 12. - No. 4. - P. 445–452.
386. Zenova, G.M. Vertical-storey stratification of oligosporeous actinomycetes in different types of biogeocoenoses / G.M. Zenova, N.V. Mikhailova, O.S. Zakharova, D.G. Zvyagintsev // *Eurasian Soil Science*. - 2000. - V. 33. - No. 2. - P. 201–204.
387. Zenova, G.M. A comparative analysis of different fertilization systems and the duration of their effect on the complex of soil actinomycetes and properties of soddy-podzolic soil / G.M. Zenova, N.F. Gomonova, E.A. Malyk, D.G. Zvyagintsev, G.M. Zenova, N.F. Gomonova, E.A. Malyk, D.G. Zvyagintsev // *Eurasian Soil Science*. - 2001. - V. 34. - No. 6. - P. 639–644.
388. Zenova, G.M. The structural-functional organization of thermotolerant complexes of actinomycetes in desert and volcanic soils / G.M. Zenova, A.I. Kurapova, D.G. Zvyagintsev, A.M. Lysenko // *Eurasian Soil Science*. - 2009. - V. 42. - No. 5. - P. 531–535.
389. Zenova, G.M. Structural-functional specificity of the complexes of psychrotolerant soil actinomycetes / G.M. Zenova, M.S. Dubrova, D.G. Zvyagintsev // *Eurasian Soil Science*. - 2010. - V. 43. - No. 4. - P. 447–452.
390. Zheng, Z. Detection of antitumor and antimicrobial activities in marine organism associated actinomycetes isolated from the taiwan strait, China / Z. Zheng, W. Zeng, Y.

- Huang, Z. Yang, J. Li, H. Cai, W. Su // *FEMS Microbiology Letters*. - 2000. - V. 188. - No. 1. - P. 87–91.
391. Zhernosekova, I.V. Streptomycetes biosynthesis processes in the presence of vegetable oils / I.V. Zhernosekova // *Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія*. - 2012. - No. 20 (2). - P. 25–29.
392. Zinn, M.-K. Did granny know best? Evaluating the antibacterial, antifungal and antiviral efficacy of acetic acid for home care procedures. *BMC Microbiology* / M.-K. Zinn, D. Bockmühl // *BMC Microbiology*. - 2020. - No. 20 (265). - P. 1-9. doi: 10.1186/s12866-020-01948-8.
393. Zvyagintsev, D.G. Moderately haloalkaliphilic actinomycetes in salt-affected soils / D.G. Zvyagintsev, G.M. Zenova, G.V. Oborotov // *Eurasian Soil Science*. - 2009. - V. 42. - No. 13. - P. 1515–1520.
394. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
395. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.
396. <https://kosmokis.ru/ingredients/12-hexanediol>.
397. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2019>.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Всего по теме диссертации опубликовано 49 научных работ. Ниже перечислены основные работы.

В изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Шляхов, В.А. Теоретические аспекты возделывания картофеля в аридной зоне / В.А. Шляхов, В.В. Коринец, А.Е. Талышкина, **Л.Н. Григорян** // Теоретические и прикладные проблемы агропромышленного комплекса. – 2014. - № 3 (20). - С. 20-22. РИНЦ, ИФ=0,165.
2. Шляхов, В.А. Вирус огуречной мозаики в Астраханской области / В.А. Шляхов, **Л.Н. Григорян** // Защита и карантин растений. – 2014. - № 10. - С. 11-13. РИНЦ, ИФ=0,398.
3. Шляхов, В.А. Вирусные болезни картофеля в Астраханской области / В.А. Шляхов, **Л.Н. Григорян** // Картофель и овощи. – 2014. - №10. - С. 27-29. РИНЦ, ИФ=0,35.
4. **Григорян, Л.Н.** Микробиологический состав засоленных почв аридных территорий / **Л.Н. Григорян**, Ю.В. Батаева, Л.В. Яковлева, В.А. Шляхов // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия «Естественные и технические науки». - 2018. - № 12. - С. 6-14. РИНЦ, ИФ=0,164.
5. **Григорян, Л.Н.** Оценка биологической эффективности бактерий *Streptomyces sp.*, выделенных из засоленных почв аридной зоны, в отношении возбудителей вирусных болезней картофеля / **Л.Н. Григорян**, Ю.В. Батаева, В.А. Шляхов, Е.Д. Андреева, М.А. Егоров // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия «Естественные и технические науки». – 2018. - № 12. - С. 14-22. РИНЦ, ИФ=0,164.
6. **Григорян, Л.Н.** Биологическое обоснование применения суспензии штамма *Streptomyces carpaticus* РСАМ 04697 для защиты томата от насекомых – вредителей и фитопатогенов в открытом грунте / **Л.Н. Григорян**, Ю.В. Батаева, В.А. Шляхов // Естественные и технические науки. - 2020. - № 6 (144). - С. 54-57. РИНЦ, ИФ=0,194.
7. **Григорян, Л.Н.** Влияние штамма бактерий *Streptomyces carpaticus* РСАМ 04697 на фитостимуляцию, фитовирусы томата и насекомых-вредителей в лабораторных условиях / **Л.Н. Григорян**, Ю.В. Батаева, В.А. Шляхов // Естественные и технические науки. - 2020. - № 6 (144). - С. 58-61. РИНЦ, ИФ=0,194.
8. **Grigoryan, L.N.** Study of the component structure of the metabolites of bacteria *Nocardiosis umidiscolae* in the search for eco-friendly plant protection agents / **L.N. Grigoryan**, Y.V. Bataeva, E.D. Andreeva, D.Kh. Zakar'yeva, Z.O. Turaeva // Russian

Journal of General Chemistry. 2020 - N 90 (13). - P. 2531–2541. РИНЦ, ИФ=0,716, Web of Science, Scopus, Q3. CrossRef. Количество цитирований: 0. <https://doi.org/10.1134/S1070363220130010>.

Публикации в других изданиях:

1. Батаева, Ю.В. Особенности развития томатов при инокуляции циано-бактериальными сообществами / Ю.В. Батаева, **Л.Н. Григорян**, Л.В. Яковлева, Д.К. Магзанова, А.С. Баймухамбетова, Е.Д. Андреева // АгроЭкоИнфо. - 2020. - № 2 (40). http://agroecoinfo.narod.ru/journal/СТАТУИ/2020/2/st_219.pdf.
2. **Григорян, Л.Н.** Фитотоксичность и инсектоакарицидная активность актиномицетов, выделенных из засоленных почв аридной территории / **Л.Н. Григорян**, Ю.В. Батаева, В.А. Шляхов, Д.К. Магзанова, А.С. Баймухамбетова // Юг России: экология, развитие. - 2020. – Т. 15. - № 2. - С. 103-112. РИНЦ, ИФ=0,423, Scopus, Q4. Количество цитирований: 1.
3. **Григорян, Л.Н.** Оценка эффективности применения почвенных актинобактерий на томатах в аридной зоне / **Л.Н. Григорян**, Ю.В. Батаева // Проблемы агрохимии и экологии. – 2021. - № 1. - С. 27-31. РИНЦ, ИФ=0,303.
4. **Григорян, Л.Н.** Влияние суспензии и экстрактов штамма *Streptomyces carpaticus* RСAM04697 на жизнеспособность насекомых-вредителей / **Л.Н. Григорян**, Ю.В. Батаева, Е.Д. Андреева, З.О. Тураева, Д.Х. Закарьяева, Л.В. Яковлева // Теоретические и прикладные проблемы АПК. – 2021. - № 1. - С. 16-22. РИНЦ, ИФ=0,165.

Патенты на изобретения:

1. Пат. № 2695157 Российская Федерация, МПК С12N1/20, А01N63/02, С12R1/465. Штамм *Streptomyces carpaticus* для защиты от насекомых-вредителей, грибных, вирусных болезней и стимуляции роста томатов / **Л.Н. Григорян**, Ю.В. Батаева, В.А. Шляхов, И.С. Держинская; заявитель и патентообладатель **Л.Н. Григорян**, Ю.В. Батаева, В.А. Шляхов. – № 2018113688; заявл. 13.04.2018; опубл. 22.07.2019; Бюл. № 21.

Базы данных:

1. База данных РФ № 2020620186, от 30.01.2020. Влияние штаммов актиномицетов на вирусные болезни овощебахчевых культур и картофеля в аридной зоне Северного Прикаспия / **Григорян Л.Н.**, Батаева Ю.В. – Правообладатели: **Григорян Л.Н.**, Батаева Ю.В.

В сборниках трудов и материалов научных конференций:

1. **Григорян, Л.Н.** Исследование стрептомицетов в почвенных экосистемах аридной зоны / **Л.Н. Григорян, Ю.В. Батаева** // Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов: Всероссийский симпозиум с международным участием. г. Москва / МАКС Пресс. - Москва, 2014. - С. 67-68. РИНЦ.
2. **Григорян, Л.Н.** Биологические инсектициды на основе актиномицетов, выделенных из почвенных экосистем аридной зоны / **Л.Н. Григорян, Е.Д. Андреева, З.О. Тураева, Д.Х. Закарьяева, Ю.В. Батаева, В.А. Шляхов** // Социально-экономические и экологические аспекты развития Прикаспийского региона: сборник материалов всерос. науч. конф. с междунар. участием. – г. Элиста / ФГБОУ ВО «КГУ», 2019. – С. 259-261. РИНЦ.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1



Russian Collection of Agricultural Microorganisms

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии»
(ФГБНУ ВНИИСХМ)

196608 Санкт-Петербург, Пушкин,
 шоссе Подбельского, 3
 Телефон 8-812-470-51-00

Выдано в ФГБУ «Россельхозцентр»
 по Астраханской области

Факс 470-43-62

15.12.2017 № 468/12

СПРАВКА

о депонировании штамма микроорганизма в Ведомственной коллекции
 полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (RCAM)

1. **Депозитор:** Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Российский сельскохозяйственный центр» по Астраханской области, 414051, г. Астрахань, ул. 5-я Котельная, 9.
2. **Авторы штамма:** Григорян Л. Н., Батаева Ю. В., Шляхов В. А.
3. **Штамм *Streptomyces carpaticus* K-11** обладает высокими показателями фитостимулирующей, инсектицидной, акарицидной, фунгицидной, бактерицидной и противовирусной свойств; является перспективным элементом агробиотехнологии, на основе которого планируется разработка лабораторного образца биопрепарата для фитостимуляции, защиты растений от болезней и вредителей, повышения плодородия почвы и урожайности сельскохозяйственных культур.
4. Штамм *Streptomyces carpaticus* K-11 депонирован 16 ноября 2017 г. под регистрационным номером RCAM04697.
5. **Адрес коллекции:** 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, 3, ФГБНУ ВНИИСХМ; тел. (812) 470-51-00, факс (812) 470-43-62, e-mail: v.safronova@rambler.ru, сайт: <http://www.arriam.ru>

Врио директора ФГБНУ ВНИИСХМ,
 д.б.н., профессор



Н. А. Проворов

Заведующая RCAM, к.б.н.

В. И. Сафронова



Russian Collection of Agricultural Microorganisms

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии»
(ФГБНУ ВНИИСХМ)

196608 Санкт-Петербург, Пушкин,
 шоссе Подбельского, 3
 Телефон 8-812-470-51-00
 Факс 470-43-62

Выдано в ФГБУ «Россельхозцентр»
 по Астраханской области

28.05.2018

№ *263/05*

СПРАВКА

о депонировании штамма микроорганизма в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (RCAM)

- 1. Депозитор:** Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Российский сельскохозяйственный центр» по Астраханской области, 414051, г. Астрахань, ул. 5-я Котельная, 9.
- 2. Авторы штамма:** Григорян Л. Н., Батаева Ю. В., Шляхов В. А.
- 3. Штамм *Nocardiosis umidischolae* №2** обладает высокими показателями фитостимулирующей, противовирусной, фунгицидной, бактерицидной афицидной и акарицидной свойств; является перспективным элементом агробιοтехнологии, на основе которого планируется разработка лабораторного образца биопрепарата для фитостимуляции, повышения плодородия почвы и урожайности сельскохозяйственных культур, защиты растений от болезней и вредителей.
- 4. Штамм *Nocardiosis umidischolae* №2** депонирован 8 мая 2018 г. под регистрационным номером RCAM04882.
- 5. Адрес коллекции:** 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, 3, ФГБНУ ВНИИСХМ; тел. (812) 470-51-00, факс (812) 470-43-62, e-mail: v.safronova@rambler.ru, сайт: <http://www.arriam.ru>

Директор ФГБНУ ВНИИСХМ,
 д.б.н.

Заведующая RCAM, к.б.н.



Н.А. Проворов

В.И.Сафронова



Russian Collection of Agricultural Microorganisms

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии»
(ФГБНУ ВНИИСХМ)

196608 Санкт-Петербург, Пушкин,
 шоссе Подбельского, 3
 Телефон 8-812-470-51-00

Выдано в ФГБУ «Россельхозцентр»
 по Астраханской области

Факс 470-43-62

28.05.2018, № 264/05

СПРАВКА

**о депонировании штамма микроорганизма в Ведомственной коллекции
 полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (RCAM)**

- 1. Депозитор:** Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Российский сельскохозяйственный центр» по Астраханской области, 414051, г. Астрахань, ул. 5-я Котельная, 9.
- 2. Авторы штамма:** Григорян Л. Н., Батаева Ю. В., Шляхов В.А.
- 3. Штамм *Nocardiosis umidischolae* №18** обладает высокими показателями фитостимулирующей, противовирусной, фунгицидной, бактерицидной афицидной и акарицидной свойств; является перспективным элементом агробиотехнологии, на основе которого планируется разработка лабораторного образца биопрепарата для фитостимуляции, повышения плодородия почвы и урожайности сельскохозяйственных культур, защиты растений от болезней и вредителей.
- 4. Штамм *Nocardiosis umidischolae* №18** депонирован 8 мая 2018 г. под регистрационным номером RCAM04883.
- 5. Адрес коллекции:** 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, 3, ФГБНУ ВНИИСХМ; тел. (812) 470-51-00, факс (812) 470-43-62, e-mail: v.safronova@rambler.ru, сайт: <http://www.arriam.ru>

Директор ФГБНУ ВНИИСХМ,
 д.б.н.

Заведующая RCAM, к.б.н.



Н.А. Проворов

В.И.Сафронова

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2695157

**ШТАММ STREPTOMYCES CARPATICUS ДЛЯ ЗАЩИТЫ
ОТ НАСЕКОМЫХ-ВРЕДИТЕЛЕЙ, ГРИБНЫХ,
ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ И СТИМУЛЯЦИИ РОСТА
ТОМАТОВ**

Патентообладатели: *Григорян Лилит Норайровна (RU), Батаева
Юлия Викторовна (RU), Шляхов Виктор Александрович
(RU)*

Авторы: *Григорян Лилит Норайровна (RU), Батаева Юлия
Викторовна (RU), Шляхов Виктор Александрович (RU),
Дзержинская Ирина Станиславовна (RU)*

Заявка № 2018113688

Приоритет изобретения 13 апреля 2018 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 22 июля 2019 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 13 апреля 2038 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации базы данных

№ 2020620186

**ВЛИЯНИЕ ШТАММОВ АКТИНОМИЦЕТОВ НА
ВИРУСНЫЕ БОЛЕЗНИ ОВОЩЕБАХЧЕВЫХ КУЛЬТУР
И КАРТОФЕЛЯ В АРИДНОЙ ЗОНЕ СЕВЕРНОГО
ПРИКАСПИЯ**Правообладатели: *Григорян Лилит Норайровна (RU), Батаева Юлия
Викторовна (RU)*Авторы: *Григорян Лилит Норайровна (RU),
Батаева Юлия Викторовна (RU)*

Заявка № 2020620059

Дата поступления 14 января 2020 г.

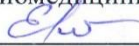
Дата государственной регистрации
в Реестре баз данных 30 января 2020 г.Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности Г.П. Ивлиев

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«АСТРАХАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Биологический факультет

УТВЕРЖДАЮ

декан биологического факультета;
профессор кафедры физиологии, морфологии,
генетики и биомедицины; д.б.н., профессор
 Е.И. Кондратенко

«25» марта 2021г.

Инструкция по применению экспериментальных образцов

биопрепаратов на основе штаммов бактерий


Streptomyces carpaticus RCAM04697, *Nocardiosis umidischolae* RCAM04882,
Nocardiosis umidischolae RCAM04883, обладающих фитостимулирующими,
противовирусными, фунгицидными
и антиоксидантными свойствами

РАЗРАБОТАНО

ассистент кафедры биотехнологии,
зоологии и аквакультуры

 Л.Н. Григорян

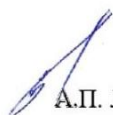
доцент кафедры биотехнологии,
зоологии и аквакультуры,
доцент, к.б.н

 Ю.В. Батаева

г. Астрахань

«21» сентября 2016 г.

«УТВЕРЖДАЮ»
И.о. ректора ФГБОУ ВО
«Астраханский государственный университет»



А.П. Лунин



«УТВЕРЖДАЮ»
Руководитель филиала ФГБУ
«Российский сельскохозяйственный центр» по
Астраханской области

В.А. Шляхов



А К Т

испытаний биологической эффективности экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882 и *N. umidischolae* RCAM04883 на томате

Комиссия в составе: представителей Астраханского государственного университета - д.б.н., зав. кафедрой биотехнологии, зоологии и аквакультуры Егорова М.А.; к.б.н., доцента кафедры биотехнологии, зоологии и аквакультуры Батаевой Ю.В.; аспиранта кафедры биотехнологии, зоологии и аквакультуры Л.Н. Григорян; представителей филиала ФГБУ «Российский сельскохозяйственный центр» по Астраханской области - к.с.-х.н., руководителя В.А. Шляхова, начальника отдела защиты растений А.Е. Тальшкиной, начальника Лиманского районного отдела Т.А. Щедриной.

Целью исследования явилось изучение биологической эффективности экспериментальных образцов биопрепаратов на основе штаммов (*Nocardiosis umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883, *Streptomyces carpaticus* RCAM04697) в полевом опыте на томате Ажур F1.

Полевой опыт на томатах сорта Ажур F1 проводили в 5 вариантах: контроль 1 – без обработок, контроль 2 - с обработкой коммерческим биопрепаратом Лепидоцид СК (эталон), 3 варианта с обработкой экспериментальными образцами биопрепаратов на основе каждого из трех штаммов.

Объектами исследований служили экспериментальные образцы биопрепаратов на основе штаммов *S. carpaticus* RCAM04697, *N. umidischolae* RCAM04882 и *N. umidischolae* RCAM04883, выделенных из засоленных почв Астраханской области, обладающие наиболее высокими показателями противомикробной активности, характеризующиеся отсутствием фитотоксичности. Испытания проводили в открытом грунте на территории филиала ФГБУ «Россельхозцентр» по Астраханской области.

В контроле количество растений с симптомами фузариоза и альтернариоза составило 15% и 10%, соответственно. У растений, обработанных экспериментальными

г. Астрахань

«11» сентября 2017 г.

«УТВЕРЖДАЮ»
И.о. ректора ФГБОУ ВО
«Астраханский государственный университет»



А.П. Лунев

«УТВЕРЖДАЮ»
Руководитель филиала ФГБУ
«Российский сельскохозяйственный центр» по
Астраханской области



В.А. Шляхов

«УТВЕРЖДАЮ»
Индивидуальный предприниматель
Глава Крестьянского (фермерского) Хозяйства
Умхаджиев Саид Лом-Алиевич



С.Л. Умхаджиев

А К Т

испытаний биологической эффективности экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697 в полевом опыте на картофеле

Комиссия в составе: представителей Астраханского государственного университета - д.б.н., зав. кафедрой биотехнологии, зоологии и аквакультуры Егорова М.А.; к.б.н., доцента кафедры биотехнологии, зоологии и аквакультуры Батаевой Ю.В.; аспиранта кафедры биотехнологии, зоологии и аквакультуры Л.Н. Григорян; представителей филиала ФГБУ «Российский_сельскохозяйственный центр» по Астраханской области - к.с.-х.н., руководителя В.А. Шляхова, начальника отдела защиты растений А.Е. Тальшкиной, начальника Енотаевского районного отдела А.М. Нестерова; представителя Индивидуального предпринимателя Главы Крестьянского (фермерского) Хозяйства Умхаджиева Саида Лом-Алиевича - главы ИП ГКФХ С.Л. Умхаджиева.

Целью исследования явилось изучение биологической эффективности экспериментального образца биопрепарата на основе штамма *S. carpaticus* RCAM04697, в качестве основы потенциального биопрепарата с фитостимулирующими и противовирусными свойствами для повышения

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«АСТРАХАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

Биологический факультет

УТВЕРЖДАЮ

Декан биологического факультета,
д.б.н., профессор
Е.И. Кондратенко



Подпись Кондратенко Е.И.
заведующий
кабинет декана (Астрахань 2.Х.). 31.05.21г.
«31» мая 2021г.

**Справка о внедрении результатов
диссертации в учебный процесс**

Результаты диссертационной работы Григорян Л.Н. на тему «Биологическое обоснование использования актиномицетов – продуцентов антимикробных метаболитов» используются в учебном процессе при преподавании дисциплин: «Промышленные микроорганизмы», «Промышленная биотехнология», «Экология микроорганизмов», «Сельскохозяйственная биотехнология» студентам бакалаврских и магистерских программ направлений 06.03.01 и 06.04.01 «Биология».

Выдержки из рабочих программ:

1. Дисциплина «Промышленные микроорганизмы»

Направление подготовки / специальность 06.03.01 Биология

Направленность (профиль) - ОПОП Биоинженерия и биотехнология

Квалификация (степень) - бакалавр

Форма обучения - очная

Группа БЛ 31

Темы из рабочей программы дисциплины (модуля), в которых использовались материалы диссертационной работы:

- Общие закономерности жизнедеятельности микроорганизмов
- Основы микробиологического производства
- Типовая технологическая схема микробиологического производства.
- Микробиологические производства, основанные на получении микробной биомассы.
- Продукты жизнедеятельности микроорганизмов и их промышленное получение.
- Отрасли промышленности, включающие микробиологические процессы