

Треножникова Л.П.,
Ұлтанбекова Г.Д.,
Балгимбаева А.С.,
Галимбаева Р.Ш.,
Масирбаева А.

Институт микробиологии
и вирусологии КН МОН РК,
Казахстан, г. Алматы

**Оптимизация
условий культивирования
штаммов рода *Streptomyces*,
составляющих биопрепарат
для растениеводства**

Trenozhnikova L.P.,
Ultanbekova G.D.,
Balgimbaeva A.S.,
Galimbaeva R.Sh.,
Masirbaeva A.

Institute of Microbiology and Virology
SC MES RK, Kazakhstan, Almaty

**Optimization of culture
conditions for strains of
the genus *Streptomyces*
formulating biopreparation for
plant cultivation**

Треножникова Л.П.,
Ұлтанбекова Г.Д.,
Балғымбаева А.С.,
Галимбаева Р.Ш.,
Масирбаева А.

Микробиология және вирусология
институты ҚР БҒМ ҒК,
Қазақстан, Алматы қ.

**Ауылшаруашылығы үшін
биологиялық өнімді
құрайтын, *Streptomyces* тектес
штамдарын өсіру жағдайларын
оңтайландыру**

Изучен рост биомассы штаммов *Streptomyces candidus* ИМВ 37 и *Streptomyces canofumeus* ИМВ 541, составляющих препарат для растениеводства, и биосинтез ими биологически активных веществ на 10 органических и синтетических средах. Показано значительное влияние состава питательных сред на рост штаммов стрептомицетов и уровень образования биологически активных веществ. Оптимальный рост биомассы штаммов стрептомицетов обеспечивали органические среды с соевой мукой. Среда № 8 с овсяной мукой является наиболее оптимальной для синтеза как антифунгального антибиотика, так и веществ, стимулирующих рост растений. Среда № 8 обеспечивает высокий уровень накопления биомассы (45,8 г/л) штамма *Streptomyces-canofumeus* ИМВ 541, а также высокую антифунгальную активность культуральной жидкости (диаметр зоны подавления роста тест-организмов 31-32 мм) и экстрактов из биомассы (36 мм). Культуральная жидкость штамма *Streptomycescandidus* ИМВ 37, полученная на среде № 8, увеличивает энергию прорастания семян пшеницы на 26,6%, лабораторную всхожесть – на 20,0 %, длину проростков – в 2,2 раза, длину корня – в 2,0 раза, сырую массу растений – в 1,9 раза.

Ключевые слова: стрептомицет, антифунгальная активность, ростстимулирующее действие, зерновые культуры.

Biomass growth and biosynthesis of biologically active substances in the strains *Streptomyces candidus* IMV 37 and *Streptomyces canofumeus* IMV 541 formulating a preparation for plant cultivation have been studied in 10 organic and synthetic culture media. Considerable effect of medium composition on the growth of *Streptomyces* strains and formation rate of biologically active substances was shown. The optimal biomass growth of studied *Streptomyces* strains provide organic medium with soy flour. Medium No. 8 with oat flour is the most optimal for the synthesis of both antifungal antibiotic, and plant growth-stimulating substances. Medium No. 8 supports high-level biomass accumulation (45.8 g/L) of the strain *Streptomyces canofumeus* IMV 541, and strong antifungal activity of the culture fluid (zone diameter of growth inhibition of the test organisms is within 31-32 mm) and biomass extracts (36 mm). Culture fluid of the strain *Streptomyces candidus* IMV 37 obtained in the medium No. 8 increases the germination energy of wheat seeds by 26.6%, laboratory germination capacity by 20.0%, length of sprouts 2.2 times, root length 2.0 times, and plant wet weight 1.9 times.

Key words: streptomycete, antifungal activity, growth-stimulating activity, cereal crops.

Өсімдік шаруашылығына арналған препараттың құрамына кіретін *Streptomyces candidus* ИМВ 37 және *Streptomyces canofumeus* ИМВ 541 штамдары 10 органикалық және синтетикалық қоректік орталарда биомассалары өсіріліп, биологиялық белсенді заттарының биосинтезі зерттелді. Стрептомицеттер штамдарының өсуіне қоректік орталардың құрамының айтарлықтай әсері бар екендігі және биологиялық белсенді заттардың құралу деңгейі анықталды. Зерттеліп отырған стрептомицет штамдарының биомассасы, соя ұны қосылған органикалық қоректік ортада жақсы өседі. Ең қолайлы орта сұлы ұны қосылған №8 қоректі орта екендігі анықталады. *Streptomyces canofumeus* ИМВ 541 штаммының биомассасы №8 қоректі ортада жақсы өсетіндігі анықталып, 45,8 г/л деңгейді көрсетті, дақылдық сұйықтық жоғары антифунгалды белсенділікті көрсетті (тест-ағзалардың тежелу аймағы 31-32 мм), биомасса сығымының тежелдендіру аймағы (36 мм) құрды. *Streptomyces candidus* ИМВ 37 штаммын №8 қоректі ортада өсіргендегі дақылдық сұйықтығы бидай тұқымының өсу қуатын 26,6%, зертханада зерттегендегі өнімін 20,0 %, көшеттің бойының ұзындығын 2,2 есеге, тамырының ұзындығын 2,0 есеге, өсімдіктің шикі салмағын 1,9 есеге артатындығы анықталды.

Түйін сөздер: стрептомицет, антифунгалды белсенділік, өсуді тездететін әсер, астық дақылдары.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИ- РОВАНИЯ ШТАММОВ РОДА *STREPTOMYCES*, СОСТАВЛЯЮЩИХ БИОПРЕПАРАТ ДЛЯ РАСТЕНИЕВОДСТВА

Введение

Около 80% всех биологически активных микробных метаболитов были изолированы из актиномицетов, особенно из штаммов рода *Streptomyces* [1-3]. Виды *Streptomyces* имеют большой потенциал для биологической борьбы с грибковыми заболеваниями растений, вызванными разными фитопатогенными грибами: *Phytophthora capsici*, *Phytophthora cinnamomi*, *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii*, *Colletotrichum gloeosporioides* и др.

Дегтяревой Е.А. и др. [4] доказана принципиальная возможность биоконтроля фитопатогенных грибов в почве и ризосфере с помощью почвенных стрептомицетов. Из 279 выделенных из дерново-подзолистых почв популяций стрептомицетов были отобраны объекты с выраженной антигрибной активностью по отношению к различным фитопатогенным грибам.

Изоляты IABT-A1, IABTA2, IABT-A3, IABT-A6, IABT-A7, IABT-A8 и IABT-A9, принадлежащие к *Streptomyces* spp. или *Actinopolymorphas* spp., показали 98-100% ингибирование *Rhizoctonia solani*, возбудителя ризоктониоза риса [5]. Изолят IABT-A7 (*Actinopolymorphas* spp.) наиболее эффективен при использовании для обработки семян, почвы и опрыскивания листьев риса, обеспечивает уменьшение заболеваемости и стимулирует рост растений, при этом увеличивается высота растений, длина корней и их биомасса.

Новый штамм актиномицета PP14 показал высокую противогрибковую активность против фитопатогенных грибов *Fusarium oxysporum*, *F. solani* и *F. culmorum*, включая микотоксигенные грибы *Aspergillus carbonarius* и *Penicillium expansum* [6].

Штамм *Streptomyces hirsutus* A4, изолированный из ризосферы овса на кислой дерново-подзолистой почве, в лабораторных экспериментах снижал заболеваемость и гибель растений овса, озимой ржи, яровой пшеницы и клевера лугового от корневых гнилей до 60-70% к контролю (без бактериализации семян) [7].

Многими исследованиями установлено, что бактерии рода *Streptomyces* могут стимулировать рост растений, синтезируя промоторы, такие как, ауксины или гиббереллины [8,9]. Показано, что определенные виды *Streptomyces*, такие как *S. olivaceoviridis*, *S. rimosus*, *S. rochei* и *Streptomyces* spp., выделен-

ные из ризосферы растений, продуцируют индол-3-уксусную кислоту и улучшают рост растений путем увеличения всхожести семян, массы растений и удлинения корня [10]. В настоящее время некоторые стрептомицеты, выделенные из ризосферы, изучаются и разрабатываются в качестве основных компонентов биопрепаратов, ускоряющих рост растений. Эти бактерии проявляют повышенную конкурентоспособность в присутствии аборигенной микрофлоры, что позволяет им сохранять свою жизнеспособность в новых условиях существования. Подобные свойства актиномицетов являются ценными при разработке биопрепаратов для растениеводства, особенно, для применения в неблагоприятных условиях для роста и развития растений.

В настоящее время исследуется достаточно большое количество штаммов стрептомицетов, защищенных патентами и предлагаемых для производства биопрепаратов с целью защиты растений, однако технология их массового производства отсутствует. До настоящего времени еще недостаточно изучены условия получения биомассы и метаболитов многих продуцентов. Не подобраны оптимальные питательные среды для культивирования многих штаммов с целью производства биопрепаратов. Кроме того, не проведена апробация отдельных биопрепаратов в полевых условиях. Все это сдерживает возможность внедрения препаратов на основе стрептомицетов в качестве инструмента биоконтроля.

Способность культур рода *Streptomyces* расти и формировать биоактивные продукты не является фиксированной, но может быть значительно увеличена или полностью потеряна при разных условиях питания и выращивания [11]. Улучшение роста стрептомицетов и образования антибиотиков может осуществляться путем манипулирования процессами питания и физическими параметрами условий культивирования. Изменения в характере и типе источников углерода и азота, как сообщается, значительно влияет на биосинтез антибиотиков, так же, как рН, инкубационный период и температура культивирования играют важную роль в производстве биологически активных метаболитов [12,13]. Большое значение для максимально возможного роста стрептомицетов и биосинтеза антибиотиков имеет подбор рационального состава питательных сред, которые определяются в соответствии со штаммом продуцента. У каждого штамма потребность в источниках питания неодинакова, поэтому состав питательных сред

не может быть постоянным для всех продуцентов. Ферментационные среды состоят из источников углерода и азота, неорганических солей и буферных агентов, таких как CaCO_3 , и специальных факторов роста. Существует значительная избирательность в использовании этих веществ для разных видов актиномицетов.

Наиболее важными факторами в составе питательных сред являются источники углерода и азота, которые оказывают большое влияние на образование микроорганизмами антибиотических веществ [14]. Основными источниками углерода и азота в производстве антибиотиков являются соевая мука, меласса, кукурузный экстракт и мука, картофельный крахмал, сульфит отработанного щелока, хлопковый шрот, дрожжевой экстракт, пептон и другие; карбонат кальция, фосфат аммония, фосфат калия и другие соли могут быть включены для повышения производства антибиотиков.

Показано, что источники углерода и азота, такие как глицерин, крахмал, аргинин, аспарагин, казеин и нитраты являются оптимальными для роста штаммов *Streptomyces* spp. [15]. Установлено, что овсяная мука, крахмал и казеин увеличивают биосинтез антибиотика штаммом *Streptomyces* J12, по сравнению с дрожжевым и кукурузным экстрактом [16]. Изучено влияние состава среды на продукцию полиеновых антибиотиков штаммом *S. hygroscopicus* CH-7 с использованием различных источников углерода (глюкозы, лактозы, рибозы, фруктозы и трегалозы) и источников азота [12]. Максимальное образование антибиотиков наблюдалось на среде с лактозой (10 г/л) и соевой мукой (10 г/л), также как с глюкозой (10 г/л) и соевой мукой (5 г/л).

Установлено, что глюкоза, как источник углерода, и соевая мука, как источник азота, оптимальны для образования антибиотика штаммом *S. chattanoogensis* MTCC 3423 [17]. Большое значение компонентов ферментационной среды установлено для биосинтеза антибиотиков штаммом *S. parvulus* DAUFPE 3124. Оптимальными источниками углерода и азота были фруктоза и L(-) треонин, глюкоза и галактоза полностью ингибировали биосинтез антибиотиков [18].

Таким образом, для осуществления эффективного процесса роста стрептомицетов и биосинтеза биологически активных веществ, важным этапом является оптимизация его технологических параметров – состава ферментационных сред, на основе подбора оптимальных сред, а также источников углерода, азота, неоргани-

ческих солей и физико-химических факторов культивирования.

Целью данного исследования являлся подбор оптимальных сред для накопления биомассы и образования биологически активных веществ штаммами стрептомицетов, отобранных для формирования биопрепарата с антифунгальными и стимулирующими рост растений свойствами.

Материалы и методы

Объектами исследований являлись штаммы *Streptomyces candidus* ИМВ 37 и *Streptomyces canofumeus* ИМВ 541, отобранные для состава биопрепарата с антифунгальными и стимулирующими рост растений свойствами. Штаммы депонированы в коллекции микроорганизмов РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК.

Штамм *Streptomyces candidus* ИМВ 37 обладает фитостимулирующим действием на зерновые культуры (пшеница, рис), обеспечивает стимулирование роста растений в разных экологических условиях. Штамм *Streptomyces canofumeus* ИМВ 541 подавляет рост фитопатогенных грибов родов *Fusarium*, *Alternaria*, *Pyricularia*, *Bipolaris*, *Aspergillus* в нейтральных и альтернативных (соленых и щелочных) условиях роста, зоны подавления роста (20-50 мм).

Для получения спорового материала штаммы стрептомицетов выращивали в течение 10 суток при температуре 28°C на минеральном агаре Гаузе или сахарозо-дрожжевом агаре Чапека. Готовили инокулом спор актиномицетов в концентрации 10⁹КОЕ/мл и проводили засев жидких питательных сред (1 мл инокулома на 100 мл питательной среды).

Штаммы *Streptomyces candidus* ИМВ 37 и *Streptomyces canofumeus* ИМВ 541 выращивали на 10 питательных жидких средах следующего состава (%):

Среда № 1: глюкоза-5,0; крахмал нерастворимый-10,0; KNO₃-2,0; MgSO₄·7H₂O-0,25; K₂HPO₄-0,2; (NH₄)₂SO₄-1,0; NaCl-5,0; CaCO₃-1,0; pH 7,0.

Среда № 2: глюкоза-30,0; NaCl-3,0; NH₄Cl-0,8; K₂HPO₄-0,5; CaCO₃-5,0; pH 7,0.

Среда № 3: глюкоза-15,0; соевая мука-15,0; NaCl-5,0; CaCO₃-2,0; pH 7,2-7,4.

Среда № 4: гороховая мука-15,0; глюкоза-20,0; крахмал-5,0; NaNO₃-5,0; CaCO₃-5,0; NaCl-5,0; pH 7,0-7,3.

Среда № 5: дрожжевой экстракт-5,0; пептон-10,0; глюкоза-20,0; CaCO₃-3,0; pH 7,3.

Среда № 6: соевая мука-10,0; глюкоза-10,0; крахмал-10,0; NaCl-5,0; CaCO₃-3,0; ZnSO₄·7H₂O-0,003; CuSO₄·5H₂O-0,003; MnC₂·x7H₂O-0,003; pH 7,4.

Среда № 7: крахмал растворимый-15,0; глюкоза-10,0; соевая мука-20,0; дрожжевой экстракт-5,0; NaCl-3,0; CaCO₃-3,0; pH 7,6.

Среда № 8: глюкоза-15,0; овсяная мука-15,0; CaCO₃-2,5; NaCl-5,0; pH 7,0-7,2.

Среда № 9: глюкоза-10,0; пептон-5,0; K₂HPO₄-1,0; MgSO₄·7H₂O-0,5; pH 7,2-7,4.

Среда № 10: глюкоза-10,0; кукурузный экстракт-10,0; KNO₃-1,0; NaCl-5,0; CaCO₃-5,0; pH 7,0-7,2.

Биосинтез биологически активных веществ осуществляли в колбах Эрленмейера вместимостью 750 мл в объеме среды 100 мл на круговой качалке (180-200 об/мин) при температуре 28°С в течение 120 часов.

Для оценки эффективности влияния состава питательных сред учитывали величину биомассы (г/л), антибиотическую активность культуральной жидкости и этанольных экстрактов из биомассы в отношении диких изолятов фитопатогенных грибов (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*) и ростстимулирующее действие культуральной жидкости. Биомассу, отжатую до 70% влажности, взвешивали, экстрагировали этанолом в соотношении 1:3 и этанольные экстракты отделяли фильтрованием.

Антифунгальную активность определяли методом диффузии в агарна питательном агаре Чапека-Докса [14]. Для оценки антибиотической активности в агаре, засеянном тест-культурами глубинным ростом (КОЕ 10⁶/мл), делали лунки с помощью стандартного бура (диаметром 7 мм), а затем в лунки вносили фильтрат нативного раствора или экстракт биомассы по 0,1 мл. В качестве контроля использовали стерильные чистые среды и этанол. Чашки помещали в термостат при 25°С. Диаметр зон подавления роста мицелиальных грибов измеряли после инкубирования при температуре 25°С в течение 72 часов.

Фиторегуляторную активность определяли методом замочки семян яровой твердой пшеницы сорта Милана (селекция КИЗ, урожай 2014 года), без предварительной стерилизации. Отфильтрованную культуральную жидкость разливали в стаканчики на 100 мл, отбирали по 20 семян растений, замачивали их в каждом сосуде, используя разведение исходного фильтрата 1:10. Сосуды закрывали крышками и ставили в термостат при температуре 25°С на 24 часа. Для контроля семена замачивали на тот же срок в

стерильной дистиллированной воде. Проращивание семян проводили в соответствии с ГОСТ 12038-84 [19]. Семена раскладывали на фильтровальной бумаге (2 слоя) в чашках Петри, сверху накрывая слоем фильтровальной бумаги. Учитывали энергию прорастания семян и ростовые эффекты: количество проросших семян, длину и массу проростков и корней. Энергию прорастания определяли на 3 сутки по числу проросших семян (выражали в процентах от общего числа обработанных семян), всхожесть – на 7 сутки, биометрические показатели и биомассу проростков – на 7 сутки.

Все исследования выполняли в трех повторностях. Для математической обработки результатов использовали стандартные методы нахождения средних значений и их средних ошибок [20].

Результаты и их обсуждение

Важным этапом разработки биопрепаратов является подбор состава питательной среды для культивирования микроорганизмов, позволяющей получить максимальное количество биомассы и достичь высокого уровня биологической активности при оптимальных параметрах культивирования. В свою очередь процесс ферментации по биотехнологическим параметрам

является основным фактором, оказывающим влияние на качество и эффективность биопрепарата. Стадия ферментации является основной стадией технологического процесса получения продуктов микробиологического синтеза.

Для подбора оптимальной среды проведено глубинное культивирование штаммов *Streptomycescanofumeus* ИМВ 541 и *Streptomycescandidus* ИМВ 37с использованием 10 питательных сред. Данные по влиянию состава сред на накопление биомассы и антифунгальную активность культуральной жидкости и экстрактов из биомассы штамма *Streptomycescanofumeus* ИМВ 541 приведены в таблице 1.

Показано, что уровень накопления биомассы штаммом *Streptomycescanofumeus* ИМВ 541 значительно зависит от состава питательных сред; максимальное накопление биомассы наблюдалось на органических средах: с соевой мукой (среды №№ 3, 6, 7) и с овсяной мукой (среда № 8). Уровень накопления биомассы изменяется на средах с соевой мукой от 42,1 г/л до 49,5 г/л, на среде № 8 накопление биомассы составляет 45,8 г/л. Наиболее низкое накопление биомассы наблюдалось на синтетических средах №№ 1 и 2, а также на среде № 10 с кукурузным экстрактом. На среде № 9 с глюкозой и пептоном рост штамма *Streptomycescanofumeus* ИМВ 541 отсутствует.

Таблица 1 – Влияние состава питательных сред на накопление биомассы и биосинтеза антифунгального антибиотика штаммом *Streptomycescanofumeus* ИМВ 541

Номер среды	рН среды до стерилизации	рН среды после 120 часов культивирования	Вес биомассы, г/л	Диаметр зоны подавления роста фитопатогенных грибов, мм			
				Культуральная жидкость		Экстракт биомассы	
				1	2	1	2
№ 1	7,0±0,02	6,5±0,02	3,5±0,1	23±0,3	13± 0,2	25±0,4	25±0,1
№ 2	7,0±0,03	7,2±0,01	3,75±0,3	0	0	30±0,3	35±0,5
№ 3	7,2±0,01	7,4±0,02	42,1±0,7	21±0,1	21±0,4	34±0,1	35±0,3
№ 4	7,1±0,02	5,4±0,03	30,3±0,4	19±0,2	15±0,3	35±0,2	31±0,1
№ 5	7,3±0,03	8,0±0,02	21,0±0,4	32±0,3	35±0,5	33±0,2	36±0,1
№ 6	7,4±0,02	7,0±0,02	46,3±0,3	28±0,1	29±0,1	36±0,1	36±0,4
№ 7	7,6±0,03	7,3±0,01	49,5±0,2	27±0,1	30±0,2	33±0,5	31±0,4
№ 8	7,0±0,01	6,8±0,02	45,8±0,5	31±0,5	32±0,1	36±0,3	36±0,2
№ 9	7,2±0,02	6,0±0,03	Нет роста	-	-	-	-
№ 10	7,2±0,03	7,6±0,02	3,5±0,1	27	28	35±0,3	35±0,1

Примечание – 1-*Aspergillusniger*, 2-*Fusariumoxysporum*

Уровень антифунгальной активности культуральной жидкости наиболее высокий на среде № 5 с дрожжевым экстрактом (диаметр зоны подавления роста *Aspergillusniger* и *Fusariumoxysporum* – 32 и 35 мм, соответственно) и на среде № 8 с овсяной мукой (диаметр зоны подавления роста *Aspergillusniger* и *Fusariumoxysporum* – 31 и 32 мм, соответственно). Диаметр зоны подавления роста тест-организмов экстрактами из биомассы изменялся от 25 до 36 мм, наиболее высокие результаты получены на средах с соевой и овсяной мукой.

Для создания биопрепарата важно сочетание максимального образования биомассы и высокого уровня биологической активнос-

ти микроорганизмов, поэтому в качестве оптимальной производственной среды для культивирования штамма *Streptomycescanofumeus* ИМВ 541 выбрана среда № 8 с овсяной мукой, которая обеспечивает как высокий уровень накопления биомассы (45,8 г/л), так и высокую антифунгальную активность культуральной жидкости (диаметр зоны подавления тест-организмов 31-32 мм) и экстрактов из биомассы (36 мм).

Результаты по изучению влияния состава сред на накопление биомассы и ростстимулирующее действие культуральной жидкости штамма *Streptomycescandidus* ИМВ 37 приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Влияние состава питательных сред на накопление биомассы и биосинтезростстимулирующих веществ штаммом *Streptomyces candidus* ИМВ 37

Номер среды	pH среды до стерилизации	pH среды после культивирования	Вес биомассы микроорганизма, г/л	Энергия прорастания, %	Всхожесть, %	Длина стебля, см	Длина корня, см	Вес сырой массы растения, г
№ 1	7,0±0,02	6,9±0,03	6,4±0,3	73,3±0,4	86,7±0,2	13,4±0,1	12,8±0,5	0,208±0,03
№ 2	7,0±0,03	7,3±0,03	3,9±0,1	73,3±0,3	86,7±0,1	13,0±0,3	10,8±0,1	0,192±0,01
№ 3	7,2±0,01	7,4±0,04	30,0±0,2	73,3±0,1	86,7±0,2	12,4±0,3	12,3±0,2	0,217±0,01
№ 4	7,1±0,02	6,3±0,05	19,1±0,2	73,3±0,2	86,7±0,5	12,9±0,1	10,7±0,2	0,185±0,08
№ 5	7,3±0,03	7,9±0,05	11,3±0,4	73,3±0,2	86,7±0,3	12,1±0,2	13,5±0,3	0,228±0,03
№ 6	7,4±0,02	6,7±0,03	16,9±0,1	86,7±0,4	93,3±0,3	11,8±0,4	12,1±0,5	0,190±0,07
№ 7	7,6±0,03	7,4±0,02	39,9±0,5	66,7±0,1	73,3±0,1	13,3±0,4	10,5±0,3	0,180±0,05
№ 8	7,0±0,01	7,0±0,04	11,1±0,4	93,3±0,1	93,3±0,4	15,4±0,3	14,0±0,2	0,249±0,02
№ 9	7,2±0,02	5,7±0,05	10,3±0,3	86,6±0,3	86,7±0,2	12,8±0,1	11,0±0,2	0,182±0,02
№ 10	7,2±0,03	7,8±0,03	15,8±0,3	66,7±0,2	73,3±0,2	13,3±0,1	13,5±0,1	0,210±0,03
Контроль	Вода дистиллированная			66,7±0,1	73,3±0,3	7,1±0,1	7,0±0,3	0,130±0,05

Уровень накопления биомассы штаммом *Streptomycescandidus* ИМВ 37 также зависит от состава питательных сред, наиболее максимальное накопление биомассы наблюдалось на органических средах с соевой мукой (среды №№ 3 и 7). Уровень накопления биомассы изменяется на средах с соевой мукой от 16,9 г/л (среда № 6) до 39,9 г/л на среде № 7. Наиболее низкое накопление биомассы наблюдалось на синтетических средах №№ 1 и 2.

Уровень образования биологически активных веществ, стимулирующих рост и разви-

тие растений, также изменяется в зависимости от состава сред. Оптимальные результаты по образованию ростстимулирующих веществ получены при использовании сред №№ 1,3,5,8,9. Среда № 8 обеспечивает наиболее высокий уровень биосинтеза биологически активных веществ. Культуральная жидкость штамма *Streptomycescandidus* ИМВ 37, полученная на этой среде, увеличивает энергию прорастания семян пшеницы на 26,6%, лабораторную всхожесть на 20,0 %, длину проростков в 2,2 раза, длину корня в 2,0 раза, сырую массу растений в 1,9 раза.

Таким образом, состав питательных сред значительно влияет на рост биомассы штаммов стрептомицетов и накопление ими биологически активных веществ. Органические среды с соевой мукой обеспечивают наиболее оптимальный рост биомассы. Среда № 8 с овсяной мукой является оптимальной для синтеза как антифунгального антибиотика, так и веществ, стимулирующих рост растений.

Выводы

1. Изучен рост биомассы штаммов *Streptomyces candidus* ИМВ 37 и *Streptomycescanofumeus* ИМВ 541, составляющих препарат для растениеводства, и биосинтез ими биологически активных веществ на 10 органических и синтетических средах.

2. Показано значительное влияние состава питательных сред на рост биомассы штаммов

стрептомицетов и накопление ими биологически активных веществ.

3. Среда № 8 с овсяной мукой является наиболее оптимальной для синтеза как антифунгального антибиотика, так и веществ, стимулирующих рост растений.

4. Среда № 8 обеспечивает высокий уровень накопления биомассы (45,8 г/л) штамма *Streptomycescanofumeus* ИМВ 541, а также высокую антифунгальную активность культуральной жидкости (диаметр зоны подавления тест-организмов 31-32 мм) и экстрактов из биомассы (36 мм).

6. Культуральная жидкость штамма *Streptomycescandidus* ИМВ 37, полученная на среде № 8, увеличивает энергию прорастания семян пшеницы на 26,6%, лабораторную всхожесть на 20,0 %, длину проростков в 2,2 раза, длину корня в 2,0 раза, сырую массу растений в 1,9 раза.

Литературы

- Joo G.J. Production of an antifungal substance for biological control of Phytophthora capsici causing phytophthora blight in red-peppers by *Streptomyces halstedii* // Biotechnol. Lett. – 2005. – Vol. 27. – P. 201–205.
- Aryantha P.G., Guest I.D. Mycoparasitic and antagonistic inhibition on Phytophthora cinnamomi Rands by microbial agents isolated from manure composts // Plant Pathology. – 2006. – Vol. 5. – P. 291-298.
- Propagdee B., Kuekulvong C., Mongkolsuk S. Antifungal potential of extracellular metabolites producer by *Streptomyces hygrosopicus* against phytopathogenic fungi // Int. J. Biol. Sci. – 2008. – Vol. 4. – P. 330-337.
- Дегтярева Е.А., Виноградова К.А., Александрова А.В., Филоненко В.А., Кожевин П.А. Почвенные актиномицеты как потенциальные биофунгициды // Вестник Московского университета, сер. почвоведение. – 2009. – № 2. – С. 22-26.
- Snehal J., Shinde S.K., Prashanthi P.U., Krishnaraj J. Identification and utilization of actinobacteria for biocontrol of rice sheath blight pathogen *Rhizoctonia solani* // Asian Journal of Bio Science. – 2014. – Vol. 9, N 2. – P. 227-233.
- Bouras N., Meklat A., Toumatia O., Mokrane S., Holtz M.D., Strelkov S.E., Sabaou N. Bioactive potential of a new strain of *Streptomyces* sp. PP14 isolated from Canadian soil // Afr. J. Microbiol. Res. – 2013. – Vol. 7. – N 25. – P. 3199-3208.
- Широких И.Г. и др. Эффекты интродукции *Streptomyces hygrosopicus* A4 в фитосферу зерноовоща // Зерновое хозяйство России. – 2013. – № 3. – С. 52-56.
- Brown M.E. Plant growth substances produced by microorganisms of soil and rhizosphere // Journal of Applied Bacteriology. – 1972. – Vol. 35. – P. 443-451.
- Martens D.A., Frankenberger W.T. Assimilation of exogenous 2¹⁴C-indole acetic acid and 3¹⁴C-tryptophan exposed to the roots of three wheat varieties // Plant and Soil. – 1994. – Vol. 166. – P. 281-290.
- Tokala R.K., Strap J.L., Jung C.M., Crawford D.L., Salove M.H., Deobald L.A., Bailey J.F., Morra M.J. Novel Plant-Microbe Rhizosphere Interaction Involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the Pea Plant (*Pisum sativum*) // Applied and Environmental Microbiology. – 2002. – Vol. 68. – P. 2161-2171.
- Waksman S.A. Classification, Identification and Description of Genera and Species. The Actinomycetes. – Baltimore: Waverly Press, 1961. – Vol. 2. – 962 p.
- Ilić S., Konstantinović S., Veljković B., Savić S., Gojčić-Cvijović G. The impact of different carbon and nitrogen sources on antibiotic production by *Streptomyces hygrosopicus* CH-7 // Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. – 2010. – Vol. 2. – P. 1337-1342.
- Reddy N.G., Ramakrishna D., Rajagopal S. Optimization of culture conditions of *Streptomyces rochei* (MTCC 10109) for the production of antimicrobial metabolites // Egyptian Journal of Biology. – 2011. – Vol. 13. – P. 21-29.
- Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. – М.: МГУ, Наука, 2004. – 528 с.
- Locci R. *Streptomyces* and Related Genera. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. – Baltimore: Williams Co, 1989. – Vol. 4. – P. 2451–2508.
- Salha H.M., Al-Zahrani. Studies on the Antimicrobial Activity of *Streptomyces* // J. KAU Sci. – 2007. – Vol. 19. – P. 127-138.
- Gupte M.D., Kulkarni P.R. A study of antifungal antibiotic production by *Streptomyces chattanougensis* MTCC 3423 using full factorial design // Lett. Appl. Microbiol. – 2002. – Vol. 35, № 1. – P. 22-26.

18 Vieira M.F., Sousa Q., Lopes C.E., Pereira N. J. Production of Actinomycin D by *Streptomyces parvulus* // Braz. Arch. Biol. Technol. – 2001. – Vol. 44, № 3. – P. 14-22.

19 ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. Изменение №2 к ГОСТ 12038-84 от 01.06.1995.

20 Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. – М.: Медицина, 1975. – 295 с.

References

1 Joo GJ (2005) Production of an antifungal substance for biological control of *Phytophthora capsici* causing phytophthora blight in red-peppers by *Streptomyces halstedii*. *BiotechnolLett*, 27:201–205.

2 Aryantha PG, Guest ID (2006) Mycoparasitic and antagonistic inhibition on *Phytophthora cinnamomi* Rands by microbial agents isolated from manure composts. *Plant Pathology*, 5:291-298.

3 Propagdee B, Kuekulvong C, Mongkolsuk S (2008) Antifungal potential of extracellular metabolites producer by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. *IntJ BiolSci*, 4:330-337.

4 Degtjareva EA, Vinogradova KA, Aleksandrova AV, Filonenko VA, Kozhevin PA (2009) Soil actinomycetes as potential fungicides. *News of Moscow University, ser. soil science [Pochvennye aktinomycety kak potencial'nyye biofungitsidy. Vestnik Moskovskogo universiteta, ser. pochvovedenie]* 2:22-26. (In Russian)

5 Snehal J, Shinde SK, Prashanthi PU, Krishnaraj J (2014) Identification and utilization of actinobacteria for biocontrol of rice sheath blight pathogen *Rhizoctonia solani*. *Asian Journal of Bio Science*, 9:227-233.

6 Bouras N, Meklat A, Toumatia O, Mokrane S, Holtz MD, Strelkov SE, Sabaou N (2013) Bioactive potential of a new strain of *Streptomyces* sp. PP14 isolated from Canadian soil. *Afr J Microbiol Res*, 7:3199-3208.

7 Shirokih IG e a (2013) The effects of the introduction of *Streptomyces hygroscopicus* A4 in phytosphere naked oats. Grain farm in Russia [Jefekty introdukcii *Streptomyces hygroscopicus* A4 v fitosferu golozernogo ovsa. *Zernovoe hozjajstvo Rossii*] 3:52-56. (In Russian)

8 Brown ME (1972) Plant growth substances produced by microorganisms of soil and rhizosphere. *Journal of Applied Bacteriology*, 35:443-451.

9 Martens DA, Frankenberger WT (1994) Assimilation of exogenous 2'-14C-indole acetic acid and 3'-14C-tryptophan exposed to the roots of three wheat varieties. *Plant and Soil*, 166:281-290.

10 Tokala RK, Strap JL, Jung CM, Crawford DL, Salove MH, Deobald LA, Bailey JF, Morra MJ (2002) Novel Plant-Microbe Rhizosphere Interaction Involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the Pea Plant (*Pisum sativum*). *Applied and Environmental Microbiology*, 68:2161-2171.

11 Waksman SA (1961) Classification, Identification and Description of Genera and Species. *The Actinomycetes*. Baltimore, Waverly Press.

12 Ilić S, Konstantinović S, Veljković B, Savić S, Gojgić-Cvijović G (2010) The impact of different carbon and nitrogen sources on antibiotic production by *Streptomyces hygroscopicus* CH-7. *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, 2:1337-1342.

13 Reddy NG, Ramakrishna D, Rajagopal S (2011) Optimization of culture conditions of *Streptomyces rochei* (MTCC 10109) for the production of antimicrobial metabolites. *Egyptian Journal of Biology*, 13:21-29.

14 Egorov NS (2004) Fundamentals of theory of antibiotics [Osnovyuchenija antibiotikah]. Moscow State University, Moscow, Russia (In Russian)

15 Locci R (1989) *Streptomyces* and Related Genera. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Baltimore: Williams Co, 4:2451–2508.

16 Salha HM, Al-Zahrani (2007) Studies on the Antimicrobial Activity of *Streptomyces*. *J KAU Sci*, 19:127-138.

17 Gupte MD, Kulkarni PR (2002) A study of antifungal antibiotic production by *Streptomyces chattanougensis* MTCC 3423 using full factorial design. *Lett Appld Microbiol*, 35:22-26.

18 Vieira MF, Sousa Q, Lopes CE, Pereira NJ (2001) Production of Actinomycin D by *Streptomyces parvulus*. *Braz Arch Biol Technol*, 44:14-22.

19 ГОСТ 12038-84. Agricultural seeds. Methods for determining the germination. Change №2 to GOST 12038-84 from 01.06.1995 [GOST 12038-84. Semen sel'skhozjajstvennykh kul'tur. Metody opredelenija vschozhesti. Izmenenie #2 k GOST 12038-84 ot 01.06.1995] (In Russian)

20 Urbach VY (1975) Statistical analysis in biological and medical research [Statisticheskiy analiz v biologicheskikh i medicinskih issledovaniyakh]. *Medicine, Moscow, Russia* (In Russian)