


Оригинальная статья / Original article
УДК 632.937.15
DOI: 10.18470/1992-1098-2020-2-103-112

Фитотоксичность и инсектоакарицидная активность актиномицетов, выделенных из засоленных почв аридной территории

Лилит Н. Григорян , Юлия В. Батаева, Виктор А. Шляхов, Дамеля К. Магзанова, Аделя С. Баймухамбетова

Астраханский государственный университет, Астрахань, Россия

Контактное лицо

Лилит Н. Григорян, аспирант, кафедра зоологии, биотехнологии и аквакультуры, Астраханский государственный университет; 414056 Россия, г. Астрахань, ул. Татищева, 20а. Тел. +79678208952

Email lilyagrigoryan90@gmail.com

ORCID <https://orcid.org/0000-0002-1132-2043>

Формат цитирования

Григорян Л.Н., Батаева Ю.В., Шляхов В.А., Магзанова Д.К., Баймухамбетова А.С. Фитотоксичность и инсектоакарицидная активность актиномицетов, выделенных из засоленных почв аридной территории // Юг России: экология, развитие. 2020. Т.15, N 2. С. 103-112. DOI: 10.18470/1992-1098-2020-2-103-112

Получена 12 августа 2019 г.

Прошла рецензирование 30 сентября 2019 г.

Принята 25 ноября 2019 г.

Резюме

Цель. Цель настоящих исследований – оценить фитотоксичность и инсектоакарицидную активность культуральной жидкости актиномицетов. Результаты фитосанитарного мониторинга на посевах и посадках сельскохозяйственных культур свидетельствуют о массовом развитии возбудителей вирусных фитопатогенов, которые способны распространяться с помощью насекомых-вредителей, а также клещей. В связи с чем, изучение почвенных актиномицетов Астраханского региона, является перспективным направлением для создания микробного препарата для контроля насекомых – переносчиков фитопатогенных вирусов.

Материал и методы. Фитотоксичность культуральной жидкости актиномицетов проверяли в лабораторных опытах на семенах томатов сорта Новичок. Афицидную и акарицидную активности в лабораторных условиях определяли по методике, основанной на контактном взаимодействии препарата и тест-объекта.

Результаты. В результате исследований, десять изолятов проявляли фитотоксическое действие на томат сорта Новичок. 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) обнаружены в вариантах с изолятами: №2, №3, №10, №11, №18, которые также имели высокие показатели всхожести семян. Данные изоляты наиболее активно подавляли жизнеспособность (90-100%) бахчевой (*Aphis gossypii* Glover.) и бобовой (свекловичной) (*Aphis fabae* Black.) тлей, паутинного клеща (*Tetranychus urticae* Koch.) в лабораторных условиях.

Заключение. Исследование изолятов №2, №3, №10, №11, №18 показало высокую инсектоакарицидную активность и фитостимулирующие свойства. Методом секвенирования 16S ДНК идентифицированы 2 штамма №2 и №18, представленные видом *Nocardiopsis umidischolae*.

Ключевые слова

Актиномицеты, стрептомицеты, фитотоксичность, инсектоакарицидная активность, засоленные почвы.

Phytotoxicity and insectoacaricidal activity of actinomycetes isolated from saline soils of arid territory

Lilit N. Grigoryan , Julia V. Bataeva, Viktor A. Shlyahov, Damelya K. Magzanova and Adele S. Baimukhambetova

Astrakhan State University, Astrakhan, Russia

Principal contact

Lilit N. Grigoryan, graduate student, Department of Zoology, Biotechnology and Aquaculture, Astrakhan State University; 20a Tatischeva St, Astrakhan, Russia 414056.

Email lilyagrigoryan90@gmail.com

ORCID <https://orcid.org/0000-0002-1132-2043>

How to cite this article

Grigoryan L.N., Bataeva J.V., Shlyahov V.A., Magzanova D.K., Baimukhambetova A.S. Phytotoxicity and insectoacaricidal activity of actinomycetes isolated from saline soils of arid territory. *South of Russia: ecology, development*. 2020, vol. 15, no. 2, pp. 103-112. (In Russian) DOI: 10.18470/1992-1098-2020-2-103-112

Received 11 August 2019

Revised 30 September 2019

Accepted 25 November 2019

Abstract

Aim. The purpose of these studies is to assess the phytotoxicity and insectoacaricidal activity of actinomycetes culture fluid. The results of phytosanitary monitoring on plantings of crops indicate the massive development of pathogens of viral phytopathogens which can spread through insects – pests and ticks. In this connection, the study of soil actinomycetes of the Astrakhan region provides a promising direction for creating a microbial preparation for regulating pests which are carriers of phytopathogenic viruses.

Material and Methods. The phytotoxicity of the actinomycetes culture fluid was assessed in laboratory experiments on seeds of the Novichok tomato variety. Acidic and acaricidal activity was determined in the laboratory by a method based on contact interaction between the preparation and the test object.

Results. As the result of the studies, ten isolates showed a phytotoxic effect on the Novichok tomato. The highest biometric indicators of the plants studied – biomass (15.3-17.0 mg), root length (3.7-5.0 cm) and stem length (2.0-2.7 cm) were found in variants with isolates №2, №3, №10, №11 and №18, which also had high rates of seed germination. These isolates most actively suppressed the vitality (90-100%) of melon (*Aphis gossypii* Glover.) and legume (beet) (*Aphis fabae* Black.) aphids and spider mites (*Tetranychus urticae* Koch.) in laboratory conditions.

Conclusion. The study of isolates №2, №3, №10, №11 and №18 showed high insectoacaricidal activity and phytostimulating properties. Using 16S DNA sequencing, 2 strains, №2 and №18, that are represented by *Nocardiopsis umidischolae* species, were identified.

Key Words

Actinomycetes, streptomycetes, phytotoxicity, insectoacaricidal activity, saline soils.

ВВЕДЕНИЕ

Ежегодно среднемировой уровень потерь урожая вследствие поражения сельскохозяйственных культур болезнями и вредителями оценивается в пределах 25-30% [1; 2]. Значительную роль в ухудшении фитосанитарной обстановки играют изменения в биологии самих фитопатогенов, которые выражаются в повышении их резистентности [3; 4].

Особую опасность представляют болезни растений, вызываемые вирусами мозаики томата (ВМТо) и мозаики огурца (ВОМ) [5-8]. Эпифитотийную ситуацию в развитии вирусной инфекции в Астраханской области определяют такие виды тлей, как бахчевая *Aphis gossypii* Glov., бобовая *A. fabae* Scop., люцерновая *A. craccivora* Koch., крушинная *A. nasturtii* Kalt., персиковая *Myzus persicae* Sulz., большая картофельная *Macrosiphum euphorbia* Thom., обыкновенная картофельная *Aulacortthum solani* Kal. Во всем мире сельхозтоваропроизводители затрачивают огромные суммы на получение свободного от вирусов посадочного материала различных сельскохозяйственных культур и еще большие – на их защиту от тлей – переносчиков инфекции в вегетационный период. Соблюдение санитарно-профилактических мероприятий, как правило, снижает численность основных насекомых – переносчиков вирусов [9-12]. Самым опасным периодом для переноса инфекции является начало вегетации, так как молодые растения наиболее чувствительны к заражению возбудителями болезней различной этиологии [13-16].

В связи с чем, актуальной является проблема поиска в различных местах обитания новых микроорганизмов, продуцирующих биологически активные вещества с широким спектром биологической эффективности, обладающих инсектицидными свойствами, применение которых может сдерживать распространение вирусных фитопатогенов [17; 18]. В некоторых литературных источниках приведены результаты исследования антивирусных свойств, проявляемых штаммами стрептомицетов, метаболитный комплекс которых способен предотвращать развитие вирусных фитопатогенов, в частности, вируса мозаики томата [19; 20]. На наш взгляд, антивирусный эффект, оказываемый метаболитами стрептомицетов на растения, является одним из важных показателей существенной значимости данных бактерий для сельскохозяйственной биотехнологии [21; 22].

Метаболиты актиномицетов представляют собой многокомпонентные комплексы различных по химическому строению природных соединений – антибиотиков, литических ферментов, терпеноидов, алкалоидов, что затрудняет формирование устойчивости к ним у вредных организмов. В подавляющем большинстве случаев многие виды актиномицетов способны синтезировать не один, а несколько вторичных метаболитов [23]. Вторичные метаболиты не являются необходимыми элементами для роста и размножения микроорганизма, по крайней мере, при изучаемых условиях, и синтезируются в основном в стационарной фазе процесса ферментации.

Согласно научным исследованиям установлено,

что из числа практически 23000 известных биоактивных микробных вторичных метаболитов 10100 продуцируются актиномицетами, 45% из которых принадлежат к роду *Streptomyces*. Большая часть изученных вторичных метаболитов, синтезируемых актиномицетами, проявляет антибиотические свойства (противомикробные, противовирусные), однако, в настоящее время описан перечень веществ с иным характером биологического действия: ингибиторы ферментов, гербициды, инсектициды, находящие применение в растениеводстве и защите растений.

В работе V.R. Prabavathy с соавторами описана фунгицидная активность одного из штаммов стрептомицетов, который обладает большей эффективностью, чем ряд зарегистрированных химических средств защиты растений в отношении различных грибных фитопатогенов [24]. Сочетание внеклеточных гидролитических ферментов и вторичных фунгицидных метаболитов играет важную роль в ингибировании роста грибов, вызывающих болезни растений. О положительных результатах использования видов р. *Streptomyces* для борьбы с различными вредителями и возбудителями болезней растений сообщается в работах ряда авторов [25; 26].

Однако необходимо учитывать, что немаловажную роль играет проведение исследований метаболитов на фитотоксичность и рострегулирующие свойства, так как часто встречаются случаи, при которых штаммы с достаточно высокими показателями антагонистической активности проявляют значительное токсическое действие на растения, тем самым исключаясь из списка микроорганизмов, обладающих сельскохозяйственной ценностью.

Многие исследования, связанные с изучением пустынных почв дают возможность утверждать о том, что самыми распространенными микроорганизмами в них являются представители мицелиальных актиномицетов, изоляты которых абсолютно адаптированы к высоким показателям температуры, концентрации солей и радиации [27]. Кроме того, в почвах аридной зоны термотолерантные актиномицеты активно размножаются. Большая доля метаболически активных мицелиальных форм превышает долю одноклеточных актинобактерий.

В Астраханском регионе в условиях аридного экстремального климата с полупустынным ландшафтом формируются сообщества почвенных актиномицетов со специфическими свойствами.

Цель настоящих исследований – оценить фитотоксичность и инсектоакарицидную активность культуральной жидкости актиномицетов, выделенных из засоленных почв Астраханской области в качестве основы потенциальных биопрепаратов для контроля насекомых – переносчиков болезней растений.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные исследования были выполнены в научно-производственной лаборатории биотехнологий ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет» и на базе филиала ФГБУ «Российский сельскохозяйственный центр» по Астраханской области.

Объектами исследования служили 21 изолят актиномицетов, выделенных из засоленных почв Астраханской области.

Для проведения экспериментов изоляты стрептомицетов выращивали на плотных питательных средах: среда Гаузе №2, среда крахмально-казеиновая, агар крахмально-аммиачный, агар глицерин-агарининовый, агар глицерин-нитратный. Выращивание культур проводили в течение 7 суток при $t=28^{\circ}\text{C}$ в термостате ТС-1/80 СПУ.

Глубинное культивирование актиномицетов проводили на аналогичных средах без использования агар-агара, на которых были выделены соответствующие изоляты. В колбы Эрленмейера вместимостью 500 мл, помещали 150 мл жидкой питательной среды. Посев производили 7-и суточной культурой со скошенного агара. Актиномицеты культивировали при температуре $t=28^{\circ}\text{C}$ на перемешивающем устройстве. 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.

В процессе культивирования на жидких питательных средах осуществлялся контроль следующих параметров: pH на pH-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.

Фитотоксичность культуральной жидкости актиномицетов проверяли в лабораторных опытах на семенах томата сорта Новичок розовый (ГОСТ Р 52171 – 2003. Партия № 243 ВСХОЗ. Масса – 0,5 г. Срок реализации – 12.2018 г.).

Экспозиция замачивания семян в трехсуточной культуральной жидкости 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 3-кратная. Учет всхожести проводили на 7-е и 14-е сутки.

Афицидную и акарицидную активности в лабораторных условиях определяли по методике, разработанной В.А. Тереховой и др., которая основана на контактном взаимодействии препарата и тест-объекта (3). На фильтровальную бумагу, помещенную в чашку Петри диаметром 90 мм, наносили 1,5 мл исследуемого вещества (культуральной жидкости бактерий), подсаживали 20 особей тест-объектов: бахчевой (*A. gossypii* Glover.) и бобовой (свекловичной) (*A. fabae* Black.) тлей, паутиного клеща (*Tetranychus urticae* Koch.). Для обработки насекомых использовали изоляты актиномицетов, культивируемые в течение двух и трех суток в сравнительном аспекте. Учет погибших насекомых проводили через 2, 4 и 24 часа. В качестве контроля использовали водопроводную воду. Опыты проводились в трехкратной повторности.

Микроскопирование тли проводили с использованием бинокулярного микроскопа G 380 с увеличением 27х.

Инсектоакарицидную активность выражали в процентах с учетом гибели тест-объектов в контроле. Расчет инсектицидной активности осуществляли по формуле Аббота, % (при сопоставлении с контролем): $C=100(Ba-Ab)/Aa$, где C – процент смертности вредителей с поправкой на контроль, %;

A и a – общее число особей в опытном варианте и контроле соответственно, штук; B и b – количество погибших особей в опытном варианте и контроле соответственно, штук.

Для математического анализа полученных материалов использовали пакеты программ Excel и BioStat 2008. Статистический анализ проводили на основе расчета средних арифметических (M) и их ошибок (m). В опытах различие показателей по сравнению с контролем оценивались методами вариационной и разностной статистики по критерию Стьюдента и считались достоверными при $P < 0,05$.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наличие ростстимулирующего, ингибирующего или нейтрального эффекта определяли, сравнивая всхожесть семян, высоту растения, длину корня в контрольном и опытных вариантах.

На 4-е сутки культивирования установлено прорастание семян томатов. На 7-е сутки наибольшее прорастание выявлено при обработке изолятами актиномицетов в №3 (50,0%), №2 (48,3%), №10 (45,0%), №11 (40,0%), №18 (38,3%) (табл. 1). Обработка изолятами №9, №12, №14, №20 показала низкую всхожесть, которая не превышала 1,7% (табл. 1).

На 14-е сутки инкубирования наибольшая всхожесть наблюдалась при обработке семян культуральными жидкостями тех же изолятов бактерий №2 (76,7%), №3 (68,3%), №10 (70,0%), №11 (71,7%), №18 (75,0%). Показатели всхожести семян были выше контрольных вариантов на 3,3 – 18,4%.

Анализ данных, полученный в результате проведения исследования, показал, что фитотоксическое действие на томаты сорта Новичок наблюдалось в вариантах опыта при обработке семян культуральной жидкостью десяти изолятов актиномицетов: №8, №9, №12, №13, №14, №15, №17, №19, №20, №21.

Биометрические показатели растений томата определяли на 21-е сутки эксперимента. В ходе опыта измеряли длину корешка и стебля, а также биомассу каждого растения вместе с семенными оболочками.

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, №3, №10, №11, №18. Перечисленные изоляты также характеризовались высокими показателями всхожести семян.

Подтверждение того факта, что экзометаболические продукты актиномицетов, в том числе и стрептомицетов, способны повышать всхожесть и качество растений представлены в работе Бурцевой С.А. с соавторами на примере табака [17]. Обработка исследуемыми штаммами стрептомицетов, повышала массу растений на 16,9%, а длину на 4,3% по сравнению с контролем.

Кроме того, отмечено увеличение всхожести растений на 6,1%, что говорит о том, что метаболиты стрептомицетов могут быть рекомендованы для

формирования корневой системы и качества продукции.

Таблица 1. Влияние актиномицетов на всхожесть семян томата сорта Новичок

Table 1. Effect of actinomycetes on the germination of Novichok tomato seeds

№ штамма № strain	Среднее количество проросших семян, % Average number of germinated seeds, %	
	через 7 суток after 7 days	через 14 суток after 14 days
1	11,7±1,7	31,7±3,3
2	48,3±1,7	76,7±1,7
3	50,0±2,9	68,3±1,7*
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	45,0±2,9	70,0±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 Control №1	21,7±1,7	65,0±2,9
Контроль №2 Control №2	18,3±3,3	58,3±6,0

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

Note: * – differences with control are significant at $p \leq 0,05$

При исследовании инсектицидной активности наименьший процент смертности насекомых при обработке двухсуточными культурами составил 41,7%, трехсуточными – 58,3%. Инсектицидная активность составила 39,8% и 55,3%, соответственно.

Через 2 часа учета был обнаружен достаточно высокий процент гибели насекомых при обработке всеми изолятами 2-х суточных культур актиномицетов, участвующих в исследовании, кроме следующих: №14 (58,3%), №15 (50,0%), №19 (41,7%), №21 (51,7%). Инсектицидная активность данных изолятов не превышала 58,3%.

Максимальная смертность бобовой (свекловичной) тли на 2 часе учета при обработке 3-х суточными культурами зафиксирована у изолятов: №1, №2, №3, №4, №6, №7, №10, №11 и составила от 90% до 100% (рис. 1).

Показатель смертности бобовой (свекловичной) тли при воздействии культуральной жидкости остальных изолятов актиномицетов колебался в диапазоне от 67,0% до 86,7%. На 24 час учета наблюдалась абсолютная (100%) смертность насекомых практически во всех вариантах опыта. Инсектицидная активность также составила 100%.

Оценка афицидной активности культуральной жидкости исследуемых изолятов актиномицетов в отношении бахчевой тли (*A. gossypii*) исследовалась на вторые и третьи сутки культивирования.

В результате проведенного опыта установлено, что наибольшая смертность бахчевой тли на 2 часе учета (трехсуточные культуры) зафиксирована у изолятов: №1, №2, №4, №5 (91,7-96,7%); минимальная у изолятов №15, №19 и №21 (48,3-58,3%). Процент смертности *A. gossypii* при воздействии культуральной жидкости остальных изолятов бактерий колебался в диапазоне от 61,7% до 88,3%. Отметим, что с увеличением срока учета наблюдалось увеличение смертности насекомых в исследуемых вариантах (рис. 2). Инсектицидная активность составила 59,6% и 86,3%, соответственно.

Исследование акарицидной активности изолятов актиномицетов в отношении обыкновенного паутиного клеща (*T. urticae*) на вторые и третьи сутки культивирования показало наступление гибели насекомых уже в первые часы учета. Аналогичная ситуация наблюдалась при исследовании афицидной активности.

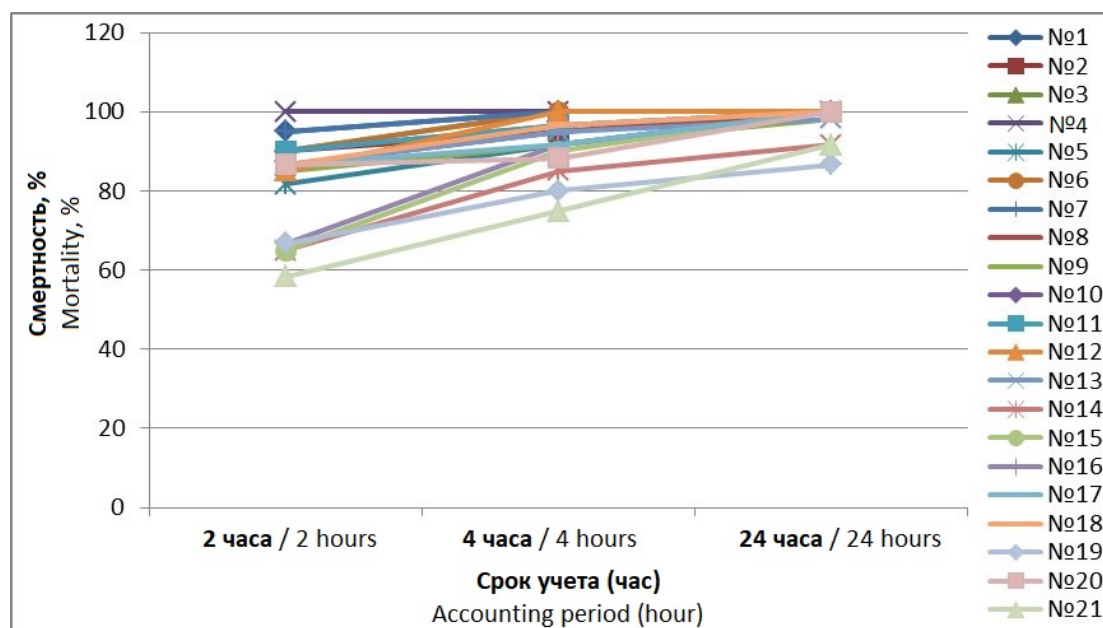


Рисунок 1. Смертность *A. fabae* при обработке трехсуточной культурой актиномицетов, 2018 г.

Figure 1. Mortality of *A. fabae* when treated with a three-day culture of actinomycetes, 2018

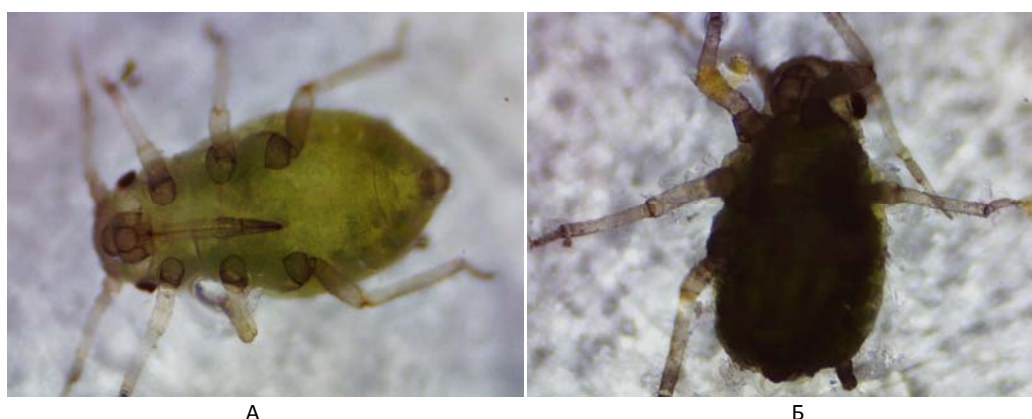


Рисунок 2. *A. gossypii* после обработки культуральной жидкостью актиномицетов:

А – контроль, Б – опыт, 2018 г.

Figure 2. *A. gossypii* after treatment with actinomycetes with culture fluid:

А – control, Б – experiment, 2018

Максимальная смертность паутиного клеща на 2 часа учета (третьи сутки культивирования) зафиксирована у изолятов: №1, №2, №3, №4, №6, №7, №10, №11 (90,0-95,0%); минимальная у изолятов №14, №15, №16, №19 и №21 (58,3-65,0%). Процент смертности *T. urticae* при воздействии культуральной жидкости остальных изолятов актиномицетов колебался в диапазоне от 81,7% до 86,7%. Акарицидная активность составила 78,6% и 84,5%, соответственно.

Следует отметить, что при визуальном и микроскопическом исследовании испытуемых объектов выявлены значительные отличия обработанных культуральной жидкостью бактерий насекомых от данных представителей в контроле (рис. 2). Насекомые, подвергшиеся действию культуральной жидкости исследуемых изолятов, в отличие от контрольных, проявляли низкую активность – были

малоподвижны или абсолютно не передвигались, а лишь шевелили конечностями, располагаясь, в основном, на дне чашки.

Характер токсического действия культуральной жидкости актиномицетов на бобовую (свекловичную) тлю оказался сходен с его проявлением на бахчевой.

Афицидный эффект культуральной жидкости актиномицетов был достаточно специфичен – изоляты, которые проявляли высокую афицидную активность на *A. fabae* оказывались менее активными для *A. gossypii*, что свидетельствует о большей устойчивости последней.

В процессе исследования выявлено, что культивирование актиномицетов в течение 3 суток оказывает значительное влияние на инсектицидную активность, по сравнению с двухсуточными культурами, что, на наш взгляд, связано с более высокой

концентрацией клеток в культуральной жидкости трехсуточных культур. В культурах, инкубируемых в течение 2 суток, число клеток варьировало от $1,3 \cdot 10^6$ до $3,5 \cdot 10^7$, в течение трех суток – от $1,9 \cdot 10^8$ до $4,6 \cdot 10^{10}$ (кл/мл).

Полученные данные позволяют сделать заключение о том, что культуральная жидкость исследуемых изолятов актиномицетов обладает высокой инсектицидной активностью.

В литературе встречается большое количество сообщений о способности препаратов на основе актиномицетов, в частности, стрептомицетов, подавлять численность различных сосущих и грызущих вредителей: тлей, трипсов, клещей, белокрылок, личинок жуков и совок, а также эндо- и эктопаразитов животных. Многие авторы, изучая инсектоакарицидную и антагонистическую активности культуральной жидкости штаммов стрептомицетов, призывают более детально подходить к исследованию различных компонентов метаболитных комплексов. Например, в статье Бойковой И.В. с соавторами, представлены данные, свидетельствующие о том, что уже через 2 часа после обработки 0,1% раствором метаболитного комплекса зафиксирована гибель 90% имаго некоторых видов тлей [25].

Среди биологически активных веществ, выделенных из стрептомицетов, особое место занимают метаболиты с репеллентными и антифидантными свойствами. В Институте сельскохозяйственной микробиологии (г. Санкт-Петербург, Россия) создан антифидантный препарат высокоэффективный в отношении колорадского жука и паутинного клеща, вызывающий 95-98% гибель вредителя на 3 суток после обработки растений [17]. Изучено, что активный компонент метаболитного комплекса содержится в липидной фракции мицелия продуцента и характеризуется высокой кишечной токсичностью. Существуют данные, свидетельствующие о том, что при низких концентрациях метаболитные компоненты актиномицетов способны ингибировать питание насекомых-вредителей.

Средства защиты растений на основе актиномицетов характеризуются достаточно высокими акарицидными свойствами. Данные препараты способны проявлять биологическую эффективность в отношении ряда насекомых (минеры, тли, трипсы, чешуекрылые), но в значительно более высоких концентрациях и нормах расхода. Отметим, что одним из известных инсектоакарицидов кишечного-контактного действия является биопрепарат «Фитоверм» (ООО НБЦ «Фармбиомед»), полученный на основе штамма *Streptomyces avermitilis*. Данный биопестицид эффективен против различных видов клещей и других вредителей (всех видов тлей, трипсов) [26; 27]. По данным ряда исследователей выявлено, что «Фитоверм» в концентрации 0,5-1% проявляет 75-100%-ю эффективность в отношении вредителей капусты: капустной моли, лугового мотылька, капустной тли, капустной совки. Препараты марки «Фитоверм» эффективны против паутинного клеща в концентрации 0,1-1,0%.

Научно доказано, что механизм действия препаратов на основе актиномицетов связан с его

контактно-кишечным действием. Попадая в организм вредителя, метаболиты, продуцируемые данной группой микроорганизмов, вызывают активный синтез нейромедатора торможения в нервных клетках беспозвоночных. В результате чего запускаются процессы, согласно опытам ряда ученых, при которых испытуемый тест-объект перестает воспринимать возбуждение и наступает паралич.

Таким образом, вторичные метаболиты актиномицетов, в том числе и стрептомицетов, представлены уникальным и разнообразным химическим составом, поэтому одной из главных задач наших дальнейших исследований является изучение компонентного состава данных изолятов актиномицетов.

В ходе работы был проведен скрининг исследуемых актиномицетов, характеризующихся отсутствием фитотоксичности и высокими показателями акарицидной и акарицидной активностей. Для дальнейших исследований отобрано 5 изолятов: №2, №3, №10, №11, №18. Исследуемые изоляты высевались на следующие питательные среды: глицерин-нитратный агар, крахмало-казеиновая среда, овсяный агар, Гаузе 1, Гаузе 2. Сравнительное изучение диагностических признаков при росте изолятов актиномицетов на данных средах проводили на 7, 14 и 21 сутки.

Принадлежность изолятов к р. *Streptomyces* предварительно определяли по наличию вегетативных гиф и наличию цепочек из нескольких неподвижных спор на воздушном мицелии. Установлено, что к семейству *Streptomycetaceae* принадлежат 2 изолята: №3 и №11. По морфологическим и физиолого-биохимическим признакам изоляты №2, №10 и №18 относятся к семейству *Nocardiaceae*.

В настоящее время из 5 отобранных изолятов актиномицетов с помощью метода секвенирования 16S ДНК в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ФГБНУ ВНИИСХМ, г. Санкт-Петербург, Пушкин) идентифицированы 2 штамма: №2 и №18, представленные видом *Nocardiaopsis umidischolae*. Амплифицированную ДНК визуализировали с помощью электрофореза в 1% агарозном геле с использованием маркера Lambda DNA/HindIII (Fermentas) для оценки размера фрагментов и количества ДНК. Определение нуклеотидной последовательности ПЦР-продуктов проводили на генетическом анализаторе ABI 3500xl (Applied Biosystems). Поиск гомологичных последовательностей и идентификацию проводили с помощью базы данных GenBank (программа BLAST).

Штамм №2 – *Nocardiaopsis umidischolae* депонирован под регистрационным номером RCAM04882, штамм №18 – *Nocardiaopsis umidischolae* депонирован под регистрационным номером RCAM04883 в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения и размещены в жидкой среде с 15% глицерином на Станции низкотемпературного автоматизированного хранения биологических образцов (Liconic Instruments, Лихтенштейн) при -80°C.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенных исследований отобраны пять изолятов актиномицетов, обладающих наиболее высокими показателями всхожести, афидицидной и акарицидной активностей, характеризующихся отсутствием фитотоксичности, на основе которых планируется разработка лабораторных образцов биопрепаратов для контроля широкого спектра насекомых-вредителей, повышения урожайности и качества сельскохозяйственных культур в различных почвенных биотопах аридной зоны.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Chung W.C., Huang J.W., Huang H.C. Formulation of a soil biofungicide for control of damping-off of Chinese cabbage (*Brassica chinensis*) caused by *Rhizoctonia solani* // Biological Control. 2005. V. 32. Iss. 2. P. 287-294. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2004.10.011
2. Ulloa-Ogaz A.L., Muñoz-Castellanos L.N., Nevárez-Moorillón G.V. Biocontrol of phytopathogens: Antibiotic production as mechanism of control. In: The battle against microbial pathogens: basic science, technological advances and educational programs. A. Méndez-Vilas (eds.). Formatex. 2015. P. 123-131.
3. Терехова В.А., Воронина Л.П., Гершкович Д.М., Ипатова В.И., Исакова Е.Ф., Котелевцев С.В., Попутникова Т.О., Рахлеева А.А., Самойлова Т.А., Филенко О.Ф. Биотест-системы для задач экологического контроля // Методические рекомендации по практическому использованию стандартизованных тест-культур. Москва, 2014. 48 с.
4. Costa F.G., Zucchi T.D., de Melo I.S. Biological control of phytopathogenic fungi by endophytic actinomycetes isolated from maize (*Zea mays* L.) // Brazilian Archives of Biology and Technology. 2013. V. 56. N 6. P. 948-955. DOI: 10.1590/S1516-89132013000600009
5. Климова Е.В. Актиномицеты – основа новых биопрепаратов для защиты растений от вредных членистоногих (Перспективы использования актиномицетов р. *Streptomyces* для борьбы с сосущими вредителями) // Экологическая безопасность в АПК. 2004. N 3. 659 с.
6. Леманова Н.Б., Бурцева С.А., Бырса М.Н. Применение стрептомицетов, выделенных из почв Молдовы, при выращивании овощей // Селекция и семеноводство овощных культур. 2015. N 46. С. 310-316.
7. Миндубаев А.З., Сапармырадов К.А., Алимова Ф.К. Сравнение антагонистических свойств стрептомицетов из различных биотопов // Российский журнал прикладной экологии. 2016. N 3 (7). С. 28-32.
8. Abdelmohsen U.R., Grkovic T., Balasubramanian S., Kamel M.S., Quinn R.J., Hentschel U. Elicitation of secondary metabolism in actinomycetes // Biotechnology Advances. 2015. V. 33. Iss. 6. Pt. 1. P. 798-811. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2015.06.003
9. Лукашевич Е.О., Яковлева Е.П., Бойкова И.В. Фунгицидное действие биологически активных веществ, продуцируемых стрептомицетами // Материалы V международной научной конференции «Инновации в здоровье нации», 2017. С. 238-240
10. Taechowisan T., Lu C., Shen Y., Lumyong S. Secondary metabolites from endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130 and their antifungal activity // Secondary Metabolites in Soil Ecology. 2005. V. 151. Pt. 6. P. 29-34. DOI: 10.1099/mic.0.27758-0
11. Khamna S., Yokota A., Peberdy J.F., Lumyong S. Antifungal activity of *Streptomyces* sp. isolated from rhizosphere of Thai medicinal plants // International Journal of Integrative Biology. 2009. V. 6. N 3. P. 143-147. DOI: 10.1186/s13568-017-0351-z
12. Khanna M., Solanki R., Lal R. Selective isolation of rare actinomycetes producing novel antimicrobial compounds // International Journal of Advanced Biotechnology and Research. 2011. V. 2. Iss. 3. P. 357-375.
13. Pathalam G., Rajendran H.A., Appadura D.R., Munusamy R.G., Michael G.P., Savarimuthu I., Naif A.A. Isolation and molecular characterization of actinomycetes with antimicrobial and mosquito larvicidal properties // Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences. 2017. V. 6. Iss. 2. P. 209-217. DOI: 10.1016/j.bjbas.2017.04.002
14. Joo G.-J. Production of an anti-fungal substance for biological control of *Phytophthora capsici* causing phytophthora blight in red-peppers by *Streptomyces halstedii* // Biotechnology Letters. 2005. V. 27. P. 201-205. DOI: 10.1007/s10529-004-7879-0
15. Prapagdee B., Kuekulvong C., Mongkolsuk S. Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi // International Journal of Biological Sciences. 2008. V. 4. Iss. 5. P. 330-337. DOI:10.7150/ijbs.4.330
16. Jiang J., He X., Cane D.E. Biosynthesis of the earthy odorant geosmin by a bifunctional *Streptomyces coelicolor* enzyme // Nature Chemical Biology. 2007. V. 3. Iss. 11. P. 711-715. DOI: 10.1038/nchembio.2007.29
17. Бурцева С.А., Маслоброд С.Н., Акири И.Г., Братухина А.А., Бырса М.Н. Регуляция роста растений метаболитами стрептомицетов почв Молдовы и перспективы их применения // Вестник защиты растений. 2016. N 3 (89). С. 35-37.
18. Koch E., Löffler I. Partial characterization of the antimicrobial activity of *Streptomyces antimycoticus* FZB53 // Journal of Phytopathology. 2009. V. 157. Iss. 4. P. 235-242. DOI: org/10.1111/j.1439-0434.2008.01484.x
19. Taechowisan T., Lu C., Shen Y., Lumyong S. Streptomyces: Molecular Biology and Biotechnology // Science. 2011. P. 179-194.
20. Tarkka M., Hampp R. Secondary metabolites of soil *Streptomyces* in biotic interaction. In: Secondary metabolites in soil ecology. Springer-Verlag, Berlin, 2008, P. 107-126. DOI: 10.1007/978-3-540-74543-3_6
21. Tiwari K.L., Gupta R.K. Chapter 14 - Bioactive Metabolites from Rare Actinomycetes // Studies in natural products chemistry. 2014. V. 41. P. 419-512. DOI: 10.1016/B978-0-444-63294-4.00014-0
22. Рогожина Е.В., Самарина Л.С. Особенности культивирования штаммов стрептомицетов и получения их метаболитов // Субтропическое и декоративное садоводство. 2016. N 58. С. 100-106.
23. Сергеева О.В. Изучение действия штаммов актиномицетов рода *Streptomyces* на морковную листоблошку // Известия Санкт-Петербургского

государственного аграрного университета. 2009. N 15. С. 60-63.

24. Prabavathy V.R., Mathivanan N., Murugesan K. Control of blast and sheath blight diseases of rice using antifungal metabolites produced by *Streptomyces* sp. PM5 // *Biological Control*. 2006. V. 39. Iss. 3. P. 313-319. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2006.07.011

25. Бойкова И.В., Павлюшин В.А. Актиномицеты – основа новых биопрепаратов для защиты растений от вредных членистоногих // *Вестник защиты растений*. 2002. N 2. С. 102-105.

26. Мешков Ю.И., Яковлева И.Н., Кругляк Е.Б. Препараты марки «Фитоверм» в системе защиты культур закрытого грунта // *Теплицы России*. 2006. N 2. С. 12-15.

27. Гафурова Л.А., Каримов А., Махкамова Д.Ю., Аблакулов М. Актиномицеты в засоленных орошаемых сероземно-луговых почвах Сырдарьинского вилоята (ф/х Галаба баяутского тумана) // XI Международная научно-практическая конференция «Аграрная наука - сельскому хозяйству», Барнаул, 04-05 февраля 2016 г. С. 6-68.

REFERENCES

1. Chung W.C., Huang J.W., Huang H.C. Formulation of a soil biofungicide for control of damping-off of Chinese cabbage (*Brassica chinensis*) caused by *Rhizoctonia solani*. *Biological Control*, 2005, vol. 32, iss. 2, pp. 287-294. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2004.10.011
2. Ulloa-Ogaz A.L., Muñoz-Castellanos L.N., Nevárez-Moorillón G.V. Biocontrol of phytopathogens: Antibiotic production as mechanism of control. In: The battle against microbial pathogens: basic science, technological advances and educational programs. A. Méndez-Vilas (eds.). *Formatex*, 2015, pp. 123-131.
3. Terekhova V.A., Voronina L.P., Gershkovich D.M., Ipatova V.I., Isakova E.F., Kotelevtsev S.V., Poputnikova T.O., Rakhleeva A.A., Samoilova T.A., Filenko O.F. Biotest systems for environmental control tasks. In: *Metodicheskie rekomendacii po prakticheskomu ispolzovaniyu standartizovannykh test kultur* [Methodological recommendations for the practical use of standardized test cultures]. Moscow, 2014, 48 p. (In Russian)
4. Costa F.G., Zucchi T.D., de Melo I.S. Biological control of phytopathogenic fungi by endophytic actinomycetes isolated from maize (*Zea mays* L.). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2013, vol. 56, no. 6, pp. 948-955. DOI: 10.1590/S1516-89132013000600009
5. Klimova E.V. Actinomycetes – the basis of new biologics to protect plants from harmful arthropods (Prospects for the use of p. *Streptomyces* actinomycetes for controlling sucking pests). *Ehkolgicheskaya bezopasnost v APK* [Ecological safety in the agricultural sector]. 2004, no. 3, 659 p. (In Russian)
6. Lemanova N.B., Burtseva S.A., Byrsa M.N. Application of *Streptomyces* spp. extracted from soils of Moldova for vegetable growing. *Selekcija i semenovodstvo ovoshchnyh kultur* [Selection and seed production of vegetable crops]. 2015, no. 46, pp. 310-316. (In Russian)
7. Mindubaev A.Z., Saparmyradov K.A., Alimova F.K. Comparison of antagonistic properties of *Streptomyces* from biotopes. *Rossiiskii zhurnal prikladnoi ekologii* [Russian Journal of Applied Ecology]. 2016, no. 3 (7), pp.

28-32. (In Russian)

8. Abdelmohsen U.R., Grkovic T., Balasubramanian S., Kamel M.S., Quinn R.J., Hentschel U. Elicitation of secondary metabolism in actinomycetes. *Biotechnology Advances*, 2015, vol. 33, iss. 6, part 1, pp. 798-811. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2015.06.003
9. Lukashevich E.O., Yakovleva E.P., Boykova I.V. Fungitsidnoe deistvie biologicheskii aktivnykh veshchestv, produtsiruemykh streptomitsetami [The fungicidal effect of biologically active substances produced by streptomycetes]. *Materialy V mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii «Innovatsii v zdorov'e natsii», 2017* [Materials of the V international scientific conference «Innovations in the health of the nation», 2017]. 2017, pp. 238-240. (In Russian)
10. Taechowisan T., Lu C., Shen Y., Lumyong S. Secondary metabolites from endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130 and their antifungal activity. *Secondary Metabolites in Soil Ecology*, 2005, vol. 151, part 6, pp. 29-34. DOI: 10.1099/mic.0.27758-0
11. Khamna S., Yokota A., Peberdy J.F., Lumyong S. Antifungal activity of *Streptomyces* sp. isolated from rhizosphere of Thai medicinal plants. *International Journal of Integrative Biology*, 2009, vol. 6, no. 3, pp. 143-147. DOI: 10.1186/s13568-017-0351-z
12. Khanna M., Solanki R., Lal R. Selective isolation of rare actinomycetes producing novel antimicrobial compounds. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 2011, vol. 2, iss. 3, pp. 357-375.
13. Pathalam G., Rajendran H.A., Appadurai D.R., Munusamy R.G., Michael G.P., Savarimuthu I., Naif A.A. Isolation and molecular characterization of actinomycetes with antimicrobial and mosquito larvicidal properties. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 2017, vol. 6, iss. 2, pp. 209-217. DOI: 10.1016/j.bjbas.2017.04.002
14. Joo G.-J. Production of an anti-fungal substance for biological control of *Phytophthora capsici* causing phytophthora blight in red-peppers by *Streptomyces halstedii*. *Biotechnology Letters*, 2005, vol. 27, pp. 201-205. DOI: 10.1007/s10529-004-7879-0
15. Prapagdee B., Kuekulvong C., Mongkolsuk S. Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. *International Journal of Biological Sciences*, 2008, vol. 4, iss. 5, pp. 330-337. DOI:10.7150/ijbs.4.330
16. Jiang J., He X., Cane D.E. Biosynthesis of the earthy odorant geosmin by a bifunctional *Streptomyces coelicolor* enzyme. *Nature Chemical Biology*, 2007, vol. 3, iss. 11, pp. 711-715. DOI: 10.1038/nchembio.2007.29
17. Burtseva S.A., Maslobrod S.N., Akiri I.G., Bratuhina A.A., Byrsa M.N. Regulation of plant growth by metabolites of streptomycetes of soil of Moldova and its application prospects. *Vestnik zashchity rastenii* [Bulletin of Plant Protection]. 2016, no. 3 (89), pp. 35-37. (In Russian)
18. Koch E., Löffler I. Partial characterization of the antimicrobial activity of *Streptomyces antimycoticus* FZB53. *Journal of Phytopathology*, 2009, vol. 157, iss. 4, pp. 235-242. DOI: org/10.1111/j.1439-0434.2008.01484.x
19. Taechowisan T., Lu C., Shen Y., Lumyong S. *Streptomyces*: Molecular Biology and Biotechnology. Science, 2011, pp. 179-194.
20. Tarkka M., Hampp R. Secondary metabolites of soil

- Streptomyces in biotic interaction. In: *Secondary metabolites in soil ecology*. Springer-Verlag, Berlin, 2008, pp. 107-126. DOI: 10.1007/978-3-540-74543-3_6
21. Tiwari K.L., Gupta R.K. Chapter 14 - Bioactive Metabolites from Rare Actinomycetes. *Studies in natural products chemistry*, 2014, vol. 41, pp. 419-512. DOI: 10.1016/B978-0-444-63294-4.00014-0
22. Rogozhina Ye.V., Samarina L.S. Characteristics of cultivating streptomyces strains and producing their metabolites. *Subtropicheskoe i dekorativnoe sadovodstvo* [Subtropical and ornamental gardening]. 2016, no. 58, pp. 100-106. (In Russian)
23. Sergeeva O.V. The study of the action of strains of actinomycetes of the genus *Streptomyces* on the carrot leaf cover. *Izvestiya Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Bulletin of the St. Petersburg State Agrarian University]. 2009, no. 15, pp. 60-63. (In Russian)
24. Prabavathy V.R., Mathivanan N., Murugesan K. Control of blast and sheath blight diseases of rice using antifungal metabolites produced by *Streptomyces* sp. PM5. *Biological Control*, 2006, vol. 39, iss. 3, pp. 313-319. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2006.07.011
25. Boykova I.V., Pavlyushin V.A. Actinomycetes - the basis of new biological products to protect plants from harmful arthropods. *Vestnik zashchity rastenii* [Plant Protection News]. 2002, no. 2, pp. 102-105. (In Russian)
26. Meshkov Yu.I., Yakovleva I.N., Kruglyak E.B. Preparations of the Fitoverm brand in the system of protecting crops in closed ground. *Tepliy Rossii* [Greenhouses of Russia]. 2006, no. 2, pp. 12-15. (In Russian)
27. Gafurova L.A., Karimov A., Makhkamova D.Yu., Ablakulov M. [Actinomycetes in saline irrigated gray-earth meadow soils of the Syrdarya viloyat (farm Galaba Bayautesky fog)]. *XI Mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya «Agrarnaya nauka - sel'skomu khozyaystvu»*, Barnaul, 04-05 fevralya 2016 [XI International Scientific and Practical Conference "Agricultural Science - Agriculture", Barnaul, 04-05 February, 2016]. Barnaul, 2016, pp. 6-68. (In Russian)

КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Лилит Н. Григорян и Юлия В. Батаева исследовали инсектоакарицидную активность актиномицетов, выделенных из засоленных почв аридной территории, а также проанализировали данные; Виктор А. Шляхов, Дамеля К. Магзанова и Аделя С. Баймухамбетова изучили фитотоксичность исследуемых актиномицетов, сравнивая всхожесть семян томата, высоту растения, длину корня в контрольном и опытных вариантах. Все авторы в равной степени несут ответственность при обнаружении плагиата, самоплагиата или других неэтических проблем.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Lilit N. Grigoryan and Julia V. Bataeva investigated the insect-acaricidal activity of actinomycetes isolated from saline soils in arid territory, also analyzed the data and wrote the manuscript. Viktor A. Shlyahov, Damelya K. Magzanova and Adele S. Baimukhambetova investigated the phytotoxicity of the actinomycetes studied by comparing the germination of tomato seeds, plant height and root length in control and experimental variants. All authors are equally responsible for plagiarism, self-plagiarism or other ethical transgressions

NO CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

The authors declare no conflict of interest.

ORCID

Лилит Н. Григорян / Lilit N. Grigoryan <https://orcid.org/0000-0002-1132-2043>
Юлия В. Батаева / Julia V. Bataeva <https://orcid.org/0000-0003-1064-3731>
Виктор А. Шляхов / Viktor A. Shlyahov <https://orcid.org/0000-0002-0254-8366>
Дамеля К. Магзанова / Damelya K. Magzanova <https://orcid.org/0000-0002-4654-296X>
Аделя С. Баймухамбетова / Adele S. Baimukhambetova <https://orcid.org/0000-0001-5788-6242>