

Н. П. Шемедюк¹, І. С. Ромашко¹, В. І. Буцяк¹, І. І. Двилюк¹, О. В. Швед^{1,2}

¹ Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Ґжицького
кафедра біотехнології та радіології,

² Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології
natshem13@gmail.com

ІНДУКУВАННЯ СИСТЕМНОЇ СТІЙКОСТІ РОСЛИН ТА ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ *STREPTOMYCES* ЯК АГЕНТІВ БІОКОНТРОЛЮ ІНФЕКЦІЙНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

<https://doi.org/10.23939/ctas2022.01.102>

Використання мікроорганізмів для профілактики, лікування інфекційних захворювань рослин і підвищення врожайності все більше цікавить людство як альтернатива хімічним засобам захисту, зокрема сільськогосподарських культур. У статті охарактеризовано *Streptomyces* як агенти біоконтролю та ризобактерії, які стимулюють ріст рослин, і також механізми, сигнальні шляхи індукованого ними системного захисту рослини. Нове, сучасне бачення у вивчення цих питань привносять проаналізовані світові наукові дослідження останніх років, які все більше доводять перспективність *Streptomyces* у створенні біобезпечних біотехнологічних засобів захисту рослин. Експериментально доведено антифунгальну, антибактерійну активність *Streptomyces*, одержаних із біогумусу.

Ключові слова: *Streptomyces*; фітопатогени; індукована системна резистентність; набута системна резистентність; біотехнологічні засоби захисту рослин; сигнальні шляхи; вторинні метаболіти; ензими.

Вступ

Фітопатогени становлять глобальну загрозу для виробництва екологічно чистих продуктів харчування та вирощування сільськогосподарських культур. Руйнівні наслідки захворювань, темпи поширення інфекцій призводять до значних економічних втрат. Принаймні 30–40 % втрат врожаю спричинені фітопатогенними інфекціями, а збитки сягають 200 мільярдів доларів за рік загалом у світі [15]. Вирішують проблему забезпечення населення продуктами харчування двома тісно пов'язаними способами: збільшенням врожайності рослин методами селекції, мутагенезу, генетичної інженерії, контрольованим внесенням добрив, зокрема біодобрив; мінімізацією втрат врожаю, спричинених шкідниками та захворюванням рослин. Тривале застосування хімічних пестицидів призводить до виявлення наслідків їх токсикогенності у людей, що харчуються ними. Також вони є основними забруднювачами ґрунту, води, порушують стабіль-

ність екосистеми, видовий склад її мікробіоти, призводять до загибелі запилювачів рослин. Якщо внаслідок токсичного впливу пестицидів вивільняється екологічна ніша, яку займали корисні мікроорганізми, її з високою ймовірністю заповнюють мікроорганізми-фітопатогени. Через тривалий час застосування пестицидів фітопатогени набувають резистентності до них [15].

Фітопатогени уражають рослини, колонізуючи їх поверхню або тканини. Інфікування супроводжується широким спектром ознак, які у кінцевому результаті призводять до старіння, загнивання та загибелі рослин. Гриби родів *Fusarium*, *Aspergillus* синтезують мікотоксини, зокрема канцерогенні, що погіршують якість зерна [14].

Інфіковані рослини здатні себе захищати. Механізмами внутрішньої стійкості рослин до біотичного стресу є синтез алкалоїдів, фенолів, глюкозинолатів, бетанінів, терпеноїдів, ціаногенних глюкозидів. Ці сполуки або згубно діють на

патоген, або нейтралізують фітотоксичні метаболіти патогену. Сьогодні багато досліджень спрямовані на вивчення індукованої стійкості рослин до патогенів. Рістстимулювальними ризобактеріями (*plant growth-promoting rhizobacteria* – *PGPR*) є *Streptomyces*, водночас багато досліджень обґрунтовують їхню значущість у сенсі організмів, перспективних для біоконтролю інфекційних захворювань.

Саме рослини відіграють центральну роль у відборі, ініціації та залученні потенціалу мікроорганізмів, які утворюють мікробіом їхньої ризосфери. За час тривалої коеволюції з рослинами та іншими мікроорганізмами утворилась складнорегульована біологічна асоціація, у якій *Streptomyces* співіснують, конкурують за рахунок здатності до синтезу безлічі вторинних метаболітів, сидерофорів, ензимів. Індукований ними механізм стійкості рослини до патогенів ініціюється позаклітинними структурами, які сприймають рецептори рослин, унаслідок чого рослини мобілізують захисні сили для швидкого реагування на майбутню атаку патогену [9]. Невивченими залишаються окремі питання щодо ефекторів та акцепторів сигналу запуску механізмів захисту рослин, функціонування, взаємозалежності сигнальних шляхів набутого та індукованого системного захисту за участі *Streptomyces*.

Тому **метою роботи** є аналіз досліджень сигнальних молекул, мереж індукованих та набутих реакцій захисту рослин, експериментальні підтвердження антифунгальної, антибактерійної активності *Streptomyces*. Адже дослідження механізмів взаємодії між рослинами і *PGPR*, механізмів, якими забезпечуються їхні переваги під час колонізації ризосфери, інгібування розвитку фітопатогенів, мають вирішальне значення для створення біобезпечних біотехнологічних засобів захисту рослин.

Матеріали та методи досліджень

У роботі використано ізоляти *Streptomyces* із біогумусу (за культурально-морфологічними ознаками їх зараховано до білої серії роду *Streptomyces*). Для порівняння використано колекційний штам *Streptomyces albus* J1074, який не продукує забарвлених вторинних метаболітів. Як тест-культуру для визначення антифунгальної активності використано *Debaryomyces hansenii*,

антибактерійної – *Bacillus cereus* (ATCC19637). Для культивування *Streptomyces* використано середовище SG2 (20,0 г – глюкоза, 5,0 г – дріжджовий екстракт, 10,0 г – соєвий пептон, 20,0 г – агар, 1 л – дистильована вода; рН – 7,5–8). Температура культивування – 28 – 30°C. Штами актиноміцетів вирощували упродовж двох – семи діб, *B. cereus*, *D. hansenii* – 24 год.

Біотести виконували за стандартною методикою. Блоки, вирізані із газонів досліджуваних зразків, поміщали на чашки Петрі із висіяними тест-культурами *B. cereus* або *D. hansenii*. Вимірювали діаметри зон пригнічення росту тест-культур через 12–18 год росту та вираховували індекси продуктивності (ІП).

Проаналізовано результати світових наукових досліджень, значну частину яких висвітлено у наукових публікаціях останніх років (перелік джерел літератури наведено у статті).

Результати досліджень та їх обговорення

Аналіз взаємодії рослини із фітопатогеном та індукування механізмів системного захисту

1. Фітопатогени, молекулярні механізми взаємодії фітопатогенів із рослинами

Фітопатогенами, зокрема *Fusarium spp.*, *Phytophthora capsici*, *Pythium spp.*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Magnaporthe oryzae*, *Gaeumannomyces graminis*, рослини уражаються на різних етапах онтогенезу: від часу висівання насіння до плодоношення. Крім того, фітопатогени спричиняють ураження плодів, серед яких, наприклад, збудники антракнозу *Colletotrichum acutatum*, *C. capsici* [3].

Фітобактерії спричиняють важкі бактерійні інфекції, які важко контролювати. Їхні симптоми – плямистість, рак, гниль, гормональний дисбаланс, що призводить до надмірного росту рослин або його затримки. Серед фітопатогенних бактерій найпоширеніші інфекційні захворювання спричиняють *Clavibacter michiganensis*, *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, *Erwinia amylovora*, *E. carotovora*, *Ralstonia solanacearum* і *Xylella fastidiosa*, *Pantoea stewartii*. У табл. 1 наведено приклади найпоширеніших збудників бактерійних інфекцій та механізми інфікування.

**Бактерійні інфекції рослин, які призводять до найбільших економічних збитків
для світового аграрного ринку [15, 6]**

Назва мікроорганізму	Захворювання рослин	Локалізація інфекції	Механізм проникнення
<i>Pseudomonas syringae</i>	Бактеріальний рак, бактеріальна плямистість	Через продири потрапляє в апопласт, де розмножується	Ефекторні протеїни (вірулентні фактори) потрапляють до рослини, використовуючи консервативну секреторну систему III типу. Виникає реакція надчутливості (<i>hypersensitive response – HR</i>)
<i>Ralstonia solanacearum</i>	Бактеріальне в'янення	Ґрунтова бактерія спочатку вражає корінь, провідною системою поширюється по рослині, спричиняє загибель	Ефекторні протеїни (вірулентні фактори) потрапляють до рослини, використовуючи консервативну секреторну систему III типу. Виникає HR
<i>Xanthomonas</i> spp.	Судинний бактеріоз (чорна гниль) хрестоцвітних; рак цитрусових	Спочатку вражаються листя або корінь, розмножується у міжклітинниках і поширюється по рослині ксилемою	Ефекторні протеїни (вірулентні фактори) потрапляють до рослини, використовуючи консервативну секреторну систему III типу. Виникає HR. Вірулентним фактором можуть бути екзополісахариди. Клітинна стінка рослин деградує через ензими
<i>Erwinia amylovora</i>	Бактеріальний опік плодів	Уражаються квітки, молоде листя, кінчики пагонів	Клітинна стінка рослин деградує через ензими. Формують біоплівки за участі екзополісахаридів. Ефекторні протеїни (вірулентні фактори) потрапляють до рослини, використовуючи консервативну секреторну систему III типу. Виникає HR.
<i>Xylella fastidiosa</i>	Бактеріоз винограду (хвороба Пірса); цитрусовий різнобарвний хлороз	Інфікується тільки ксилема	Формують біоплівки, Використовують консервативну секреторну систему I і II типів

Серед фітопатогенних грибів найбільшої економічної шкоди завдають *Fusarium* spp., *Phytophthora capsici*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* та *Colletotrichum* spp., *Rhizoctonia solani*, *Magnaporthe oryzae*, *Gaumannomyces graminis*, *Pythium* spp. У табл. 2 наведено приклади найпоширеніших збудників грибкових інфекцій, механізми інфікування.

Молекулярні механізми взаємодії фітопатогенів з рослинами

За визначенням [25], патогенні мікроорганізми є вірулентними, якщо вони спричиняють симптоми захворювання у чутливих рослин, або авірулентними, якщо зумовлюють захисну реакцію рослини, внаслідок якої блокується патологічний процес.

Фітопатогенні грам-негативні бактерії *P. syringae*, *E. carotovora*, *E. amylovora*, *P. stewartii* та багато інших активують імунну систему рослини через введення у клітину рослини ефекторних протеїнів (вірулентних факторів), використовуючи консервативну для цих організмів секреторну систему III типу [27]. Для формування цієї системи необхідні пілі – транспортний коридор, у результаті якого відбувається експорт протеїнових факторів вірулентності у клітину господаря. Ці протеїни рослинна клітина може розпізнавати на ранніх етапах взаємодії з патогеном та індукувати захисну реакцію. Секреторну систему III типу фітопатогенних бактерій вперше досліджено 30 років

тому в результаті вивчення фітопатогенних псевдомонад. Формування цієї системи і пілей бактеріями контролює кластер генів патогенності (*hrp*). Їх продукти – гарпіни – необхідні бактерії для виникнення реакції надчутливості (*hypersensitive response* – *HR*) та швидкого процесу, подібного до запрограмованої загибелі клітини у локусі інфекції, щоб обмежити поширення інфекції. Гарпіни багаті на гліцин, не містять цистеїну, термостабільні гідрофобні протеїни.

Усі протеїни фітопатогенних бактерій, які транспортуються за допомогою секреторної системи III типу, можна поділити на ефектори –

протеїни, які транспортуються у клітину рослини і забезпечують умови розвитку патогену в ній, та протеїни – хелпери (власне до них належать гарпіни). Хелпери до цитоплазми не потрапляють, локалізуються міжклітинно, забезпечують транспортування ефекторів, індукуючи каскад реакцій зміни проникності цитоплазматичної мембрани рослинних клітин. Ефектори – найменш вивчена група протеїнів. Ефекторами є *Avr*- та *Dsp*-протеїни (*avirulence u disease specific protein*). Хоча ці протеїни різні за назвами, обидва є факторами вірулентності, але *Avr*-протеїни можуть упізнавати відповідні *R*-протеїни резистентних рослин [27].

Таблиця 2

Інфекції рослин, спричинені мікроскопічними грибами, які призводять до найбільших економічних збитків для світового аграрного ринку [15, 6]

Назва мікроорганізму	Захворювання рослин	Локалізація інфекції	Механізм інфікування
<i>Fusarium spp.</i>	Захворювання рису “бакане” або “скажений рис”; фузаріоз; рак сосни	Патоген безпосередньо проникає в основу стебла, біля поверхні ґрунту або через коріння	Синтез ензимів, які руйнують клітинні стінки рослин та сполук, що пригнічують біосинтез фітоалексинів
<i>Botrytis cinerea</i>	Сіра гниль	Інфікування унаслідок безпосереднього проникнення через раневу поверхню, зокрема після обрізання або збирання врожаю	Синтез ензимів і токсинів, за дії яких рослина гине
<i>Alternaria alternata</i>	Некротичні ураження (коричневі/чорні плями); темні ураження на коренях, плодах	Інфікування унаслідок безпосереднього проникнення через раневу поверхню	Синтез токсинів
<i>Colletotrichum spp.</i>	Антракноз; коренева гниль полуниці, бананова коренева гниль; червона гниль кави і цукрової тростини	Інфікування відбувається завдяки синтезу кутинази і проникненню через кутикулу рослини в клітини епідермісу	Синтез ензимів деградації токсинів

За наявності у стійких рослин відповідних захисних *R*-протеїнів (зокрема, так званих протеїнів-“охоронців”), які локалізуються у клітинних стінках рослини, продукти *avr* спричиняють *RH*, що вмикає каскад захисних реакцій, кінцевим результатом чого є блокування розмноження патогену в рослинному організмі. Таке уявлення про захисний механізм рослини ввів у 40–50-ті роки минулого століття Г. Флор. Успішна захисна реакція рослини спостерігається тоді, коли

вона має відповідний *R*-протеїн, який упізнає сигнальні молекули патогену [25].

Відомо, що функцією вірулентних факторів є пригнічення експресії генів, які беруть участь у захисті та стійкості рослин до фітопатогенів. Зокрема *Avr*-протеїни інгібують гени, продукти яких беруть участь у захисті рослин, біосинтезі фітоалексинів та інших вторинних метаболітів із антимікробною дією [13].

Оскільки результатом контакту гарпінів та Avr-протеїнів із клітинами є запуск захисного механізму рослин, деякі субстрати секреторної системи III типу можна використати як точки впливу, створюючи засоби захисту рослин.

Ефектори індують синтез сполук, токсичних для патогену і рослинної клітини: процеси вільнорадикального окиснення, утворення вільних гідроксил-радикалів, радикалів Оксигену та гідроген пероксиду, надходження йонів Кальцію до уражених клітин. Вони спричиняють так звану першу хвилю імунної відповіді рослин [5, 9, 20].

Якщо у відповідь на проникнення до рослини фітопатогену захисні реакції виникають безпосередньо у місці інфікування, їх називають “локальними”. “Системні” захисні реакції – це реакції, що розвиваються у вільних від зараження тканинах інфікованої рослини.

Загалом захист – це стратегія виживання організму. За вірусного, бактерійного, фунгального інфікування системи захисту намагаються локалізувати збудника у місці проникнення. Наслідок – апоптоз або некроз тканин рослин, що є механічною перешкодою на шляху поширення інфекції.

Локально, у місці інфікування, процеси вільнорадикального окиснення ініціюють зміну складу клітинних стінок (синтез протеїнів, багатих на гідроксипролін, відкладення калози (β -глюканового полімеру) і фенольних сполук та формування наростів, потовщення). Системно процеси вільнорадикального окиснення ініціюють синтез *de novo* антимікробних сполук, таких як фітоалексини, фітогормони, експресію генів протеїнів, пов’язаних із патогенезом (*pathogenesis-related* (PR) *proteins*). PR-протеїни можуть ініціювати другу хвилю імунної відповіді, впізнаючи власні сигнальні молекули. Наприклад, глюкани (продукти глюканазної активності окремих PR-протеїнів) є елісаторами захисної відповіді й, отже, опосередковано індують антимікробну активність рослин. У відповідь на окисдаивний стрес потенціюється експресія групи захисних або стресасоційованих генів, включаючи гени глутатіон-S-трансферази, цитохрому P450, супероксиддисмутази, а також генів, що кодують PR-протеїни, зокрема PR1 і PR2.

Протеїни фітопатогенів – не єдиний клас ефекторів у механізмах взаємодій між мікроорганізмами та рослинною клітиною. Під час вивчення взаємодії рослин з асоціативною та патогенною мікрофлорою виявлено, що ліпополіцукориди зовнішньої мембрани клітин грам-негативних бактерій беруть участь у їх взаємодії з іншими організмами. Ліпополіцукориди, залежно від походження, хімічного стану та виду рослини-господаря, здатні індукувати/репресувати реакції захисту рослинних клітин. Зокрема, ліпополіцукориди бульбочкових бактерій можуть діяти як супресори захисних реакцій рослини-господаря, що необхідно для інфікування і можливостей симбіозу. Також ефекторами можуть бути пептиди, ліпіди.

Індукована ліпополіцукоридами експресія деяких захисних генів рослин відбувається як локально, так і системно. Досліджено, що оброблення рослин ліпополіцукоридами різних бактерій може безпосередньо не індукувати синтез вторинних захисних сполук, воно праймує їхню індукцію за подальшого бактерійного інфікування [5, 9, 20, 29].

Праймування – мобілізація захисних сил рослини для швидкого реагування на атаку патогену. Праймування рослини непатогенними бактеріями (як і природними або синтетичними хімічними речовинами) пришвидшує реакцію клітини і рослини загалом на бактерійну, грибкову та вірусну інфекції, а також на інші стреси. Роботи з праймування культури клітин петрушки й арабідопсису бактеріями дали змогу зробити висновок, що праймування є основним механізмом індукованої системної резистентності у рослин. Праймування клітинного захисту рослин енергетично доцільніше, ніж конститутивний механізм захисту, оскільки захисна реакція рослини потрібна лише в разі атаки патогенів або впливу абіотичних факторів. Окрім того, постійний синтез активних протеїнів, безпосередньо залучених до програми захисту, напевне, перешкоджає би нормальному метаболізмові у клітині [25].

2. Індукована системна резистентність

Для організму рослин важливим захистом від негативної дії фітопатогенів є системна резистентність. Розрізняють дві форми індукованої

системної резистентності: набута системна резистентність (*systemic acquired resistance – SAR*) та, власне, індукована системна резистентність (*induced systemic resistance – ISR*). Ці дві форми відрізняються за механізмом виникнення та шляхами регуляції. Зазвичай ISR та SAR залежать від сигнальних молекул жасмонової кислоти (JA) та саліцилової кислоти (SA) відповідно. Ці дві молекули відіграють важливу роль у регуляції сигнальних мереж індукованих реакцій захисту. Саме сигнальні шляхи, у яких задіяні названі молекули, проаналізовано у цій роботі.

Зазвичай ISR опосередковано ризобактеріями PGPR, непатогенними мікроорганізмами, а SAR – патогенами.

Індукторами резистентності можуть бути: ліпополісахариди і сидерофори, компоненти джгутів, біосурфактанти, N-ацил-гомосерин лактони (AHL), N-алкіловані бензиламіни, антибіотики та екзополісахариди. Якщо у рослин не формується ISR, це зумовлено відсутністю синтезу індукторів ISR мікроорганізмами або нездатністю конкретного виду рослин сприймати ці сполуки як індуктори ISR. Одну або кілька детермінант бактерій розпізнають специфічні рецептори рослин, що індукує резистентність [2, 9].

Процеси вільнорадикального окиснення, про які йшлося вище, є першою лінією у системному захисті рослин. Підвищення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} активує переміщення ензиму фосфоліпази D із цитозолу до плазмолем, індукуючи в ній ензиматичну активність. Активна фосфоліпаза D необхідна для утворення JA та її етеру – стресових гормонів, сигнальних молекул системного захисту рослини, а саме JA/ET-шляху. Вільні радикали, гідрогену пероксид є причиною активації синтезу SA і захисту рослин SA-шляхом. Збільшення концентрації SA підсилює HR, оскільки саліцилат є інгібітором каталази, яка розщеплює H_2O_2 . Тобто H_2O_2 , активуючи синтез SA, сприяє ще більшому накопиченню активних форм Оксигену і тим самим підсилює HR [5, 9, 16, 20, 26].

JA та її метиловий етер – метилжасмонат (Me-JA) – зазвичай синтезуються у разі механічного ушкодження клітин із ліноленою та лінолевою кислот, які утворюються унаслідок гідролізу фосфоліпідів клітинних мембран. Отже, місцем синтезу JA є ушкоджені тканини. Далі JA

транспортується до неушкоджених ділянок флоємою, а летка сполука Me-JA – повітрям, забезпечуючи системний захист рослини загалом. У цьому аспекті цікаві дані щодо транспортування флоємою системіну – пептиду, до складу якого входить 18 амінокислот. Системін стимулює синтез JA. Раніше системін вважали системним мобільним сигналом, що відповідає за індукцію захисних реакцій у віддалених від місця ураження тканинах. Однак дослідження останніх років показали, що сигналом, який передається на відстань, є JA, тоді як системін необхідний для продукування системного сигналу в місцях ураження, зокрема листків, але не для передавання його на відстань. Системін сприяє також експресії генів ліпоксигеназного сигнального шляху, що приводить до вивільнення ліноленою кислоти і її перетворення на JA.

JA активує експресію генів, які кодують антифунгальні протеїни: тіонін, осмотин, PDF (*plant defensin gene*) і протеїн RIP60 (*replication invitation-region protein 60 кДа*), що інактивують рибосоми інфікувального агента. JA модулює експресію протеїнів клітинної стінки, таких як PRP (*proline-rich cell wall protein*), які задіяні у створенні бар'єрів на шляху інфекції. Крім того, JA стимулює активність генів біосинтезу фітоалексинів та фенольних сполук, яким притаманні захисні ефекти. JA індукує експресію генів не самотійно, а разом із іншими фітогормонами, зокрема з етиленом (ET), тому шлях регуляції називають JA/ET (рис. 1) [28].

SAR, індукована патогенами, залежить від фітогормону саліцилату (SA) і пов'язана з накопиченням PR-протеїнів. Місцем синтезу SA є пластиди ушкоджених тканини. SA не є мобільною молекулою. Мобільною сигнальною формою SA є метилсаліцилат (Me-SA). Me-SA транспортується до неушкоджених ділянок флоємою, забезпечуючи системний захист рослини загалом. У неуразених тканинах-мішенях Me-SA деметилюється із утворенням SA. Також мобільною сигнальною молекулою є піпеколева кислота. SA та кон'югати SA є ключовими елементами для розвитку HR – швидкої локальної загибелі інфікованих рослинних клітин разом з патогеном. Це в кінцевому рахунку забезпечує стійкість рослини загалом. Також SA володіє антимікробною активністю [16].

Наслідком оксидативного стресу, який підсилюється SA під час розвитку HR, є синтез PR-протеїнів. Індукування SA синтезу PR-протеїнів потребує взаємодії SA із активатором – протеїном NPR1, наявного в цитоплазмі у формі олігомеру (неактивній формі). Існування активатора у такій формі дає змогу уникнути активації SAR за відсутності збудника. Зв'язування NPR1 із SA спричиняє зміну структури NPR1 з вивільненням С-кінцевого трансактиваційного домена. Це дає можливість NPR1 транспортуватися до ядра, брати участь у взаємодії із транскрипційними факторами, необхідними для зв'язу-

вання комплексу з промотором генів PR-протеїнів, і, як наслідок, активувати їх експресію. Надекспресія гена *NPR1* сприяє посиленню стійкості до патогену [12].

NPR1 регулює захисні реакції, опосередковані різними сигнальними шляхами, молекулами, зокрема JA/ET. Регулювання NPR1 JA/ET-шляху ISR не призводить до синтезу PR-протеїнів. Отже, NPR1 є спільною ланкою між SAR і ISR і регулює як SAR, так і ISR. Питання про те, як відбувається вибір запуску того чи іншого шляху захисту рослин, ще вивчають (рис. 2) [2, 12].

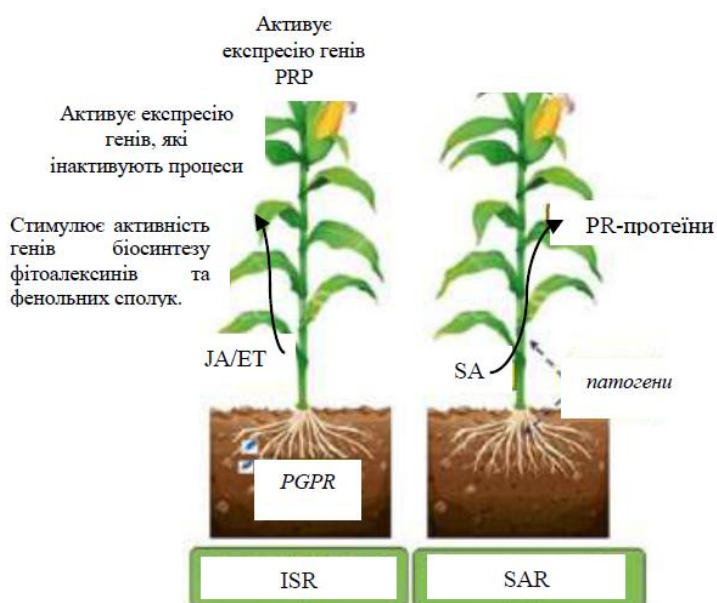


Рис. 1. Схематичне зображення двох форм індукованого захисту рослин. Системна набута резистентність (SAR), індукована впливом еліситорів, сигнальною молекулою є SA, що призводить до накопичення PR. Індукована системна резистентність (ISR), індукована впливом ризобактерій PGPR, сигнальні молекули – JA, ET

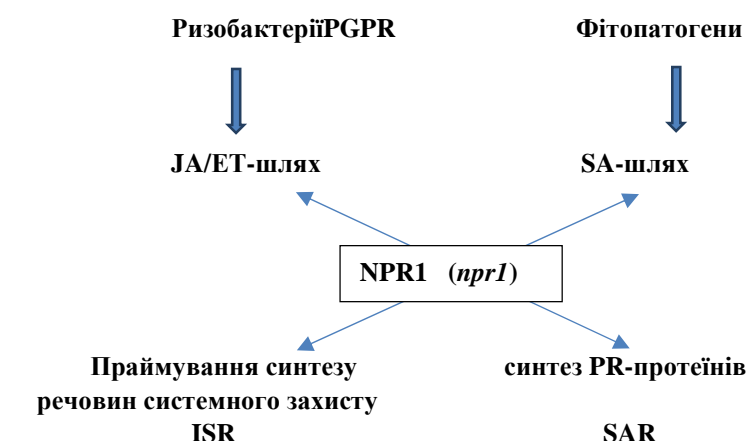


Рис. 2. Спільна залежність саліцилатного та жасмонатного шляхів захисту рослин від експресії гена *npr1* у *Arabidopsis thaliana*

Зазвичай ISR, опосередкована ризобактеріями, непатогенними мікроорганізмами, не залежить від SA, не асоціюється з накопиченням

протеїнів, пов'язаних із патогенезом. Інколи JA-залежні захисні реакції рослин активуються унаслідок інфікування некротрофами, тоді як контакт

з ризобактеріями активує SA-залежний шлях, який є ланкою механізму індукування ISR. Виявлено також, що вплив *Bacillus* spp. та *P. protegens* призводить до експресії гена *PR1* рослин. Окрім того, такі фітопатогени, як *A. brassicicola*, здатні запускати, принаймні, два захисних шляхи, в одному з яких задіяно саліцилат (SA), а в іншому – JA та етилен (ET). Відомий також інгібувальний вплив саліцилату на біосинтез та дію JA. Ймовірно, така взаємодія сполук дає рослині змогу модулювати відповідну кількість саліцилат- та JA-індукованих захисних реакцій у відповідь на ушкодження специфічними патогенами [24, 28].

У 70-ті роки вважали, що синтез PR-протеїнів характерний лише для інфікованих рослин, їх концентрація у рослинних тканинах зростає після виявлення ознак інфекції. Сьогодні розрізняють два класи PR-протеїнів: кислі (накопичуються у міжклітинниках), основні (накопичуються внутрішньоклітинно, у вакуолях). Їх переважно розглядають як маркери системного захисту. Не досліджено їхню протибактерійну чи противірусну активності.

Для деяких PR-протеїнів характерна хітиназна (родина PR-3, -4, -8, -11) або β -1,3-глюканазна активності (родина PR-2). Хітинази гідролізують хітин клітинної стінки патогенних мікрокопічних грибів. Рослини, здатні до надекспресії хітинази, стійкі до інфікування грибами. Участь усього спектра виявлених PR-протеїнів у механізмах захисту рослин все ще не досліджено. Відомо, що PR-протеїни експресуються у неінфікованій тканині рослини у відповідь на перше проникнення інфікувального агента. Підвищення рівня синтезу основних PR-протеїнів досліджено також у тканинах листка під час старіння рослини [16].

Останнім часом інтенсивно досліджують механізми явища індукованої системної резистентності, основні сигнальні шляхи цієї системи, їх потенційне використання під час розроблення біотехнологічних засобів захисту рослин.

3. Рістстимулювальні ризобактерії рослин роду *Streptomyces* та їх значення у формуванні ISR.

Ризосфера – це зона ґрунту (в межах 0,5–4 мм від кореня), що характеризується підвищеною

біологічною активністю завдяки впливу різних хімічних речовин, які виділяє коренева система рослин та мікробіота. Ця зона ґрунту багатша на амінокислоти та цукри – джерела енергії та поживні речовини для бактерій. Ризосфера населена різноманітними ризобактеріями, які, еволюціонуючи, набули переваг задля колонізування цього середовища проживання. Ризобактерії здатні синтезувати вторинні метаболіти із антимікробною дією щодо фітопатогенів. Досліджено специфічні ізоляти мікробіому кореня рослини, які інгібують життєдіяльність та функціонування рослинних патогенів як *in vitro*, так і *in vivo*. PGPR впливають на ріст рослин двома різними способами, опосередковано або безпосередньо. Безпосереднє стимулювання росту рослин відбувається через забезпечення рослин поживними речовинами, полегшення їх всмоктування чи синтез фітогормонів, непряме – за рахунок синтезу антагоністів фітопатогенів або індукування стійкості рослини до патогенів.

У багатьох штамів ризобактерій *Streptomyces* досліджено PGPR активність: у клітині експресуються гени триптофан-2-монооксигенази та індол-3-ацетамідгідролази. Перший ензим перетворює амінокислоту триптофан на проміжний індол-3-ацетамід, інший гідролізує індол-3-ацетамід до індол-3-ацетатної кислоти – фітогормону [19]. Лише 1–2 % бактерій від загальної кількості ризобактерій зараховують до рістстимулювальних ризобактерій рослин. Це бактерії різних родів, серед яких переважають мікроорганізми родів *Bacillus* і *Pseudomonas* spp.

PGPR, зокрема *Streptomyces*, індукують ISR рослин за рахунок синтезованих ними еліситорів – молекул протеїнової, ліпідної, поліпептидної чи олігоцукоридної природи. Еліситори є антигенною детермінантою. Рослини здатні розпізнавати ці біогенні індуктори і вмикати у відповідь ISR.

Найширше коло еліситорів синтезують грамнегативні бактерії, зокрема, види роду *Pseudomonas*. Кількість видів роду *Bacillus*, які здатні індукувати ISR, швидко зростає упродовж останнього десятиліття. Сьогодні це: *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. pasteurii*, *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. mycoides* та *B. sphaericus* [24].

Вперше явище ISR, індуковане *P. fluorescens* штамом WCS417r, описано у 1991 р. як результат

дослідження виникнення системної резистентності у Гвоздиківих до фітопатогену *F. Oxysporum* [14]. Згодом досліджено, що ризобактерії за рахунок механізмів ISR індукують стійкість огірків до антракнозу, спричиненого *C. orbiculare* [14]. Відомо, що більшість ризобактерій родів *Pseudomonas* і *Bacillus* відіграють роль у виникненні ISR рослин, активуючи обидва сигнальні шляхи JA/ET або SA. Специфічність їхньої дії у тому, що вони не індукують транскрипції PR-протеїнів. Індукування системного захисту рослин бактеріями роду *Streptomyces* відрізняється тим, що під час захисту в рослини виникають ознаки задіяних як ISR, так і SAR, а також перехресні зв'язки між різними сигнальними шляхами.

Наприклад, експерименти із секвенування РНК продемонстрували, що в обробленого інокулятом *Streptomyces sp. AcH505* дуба активується широкий спектр генів, що беруть участь в ISR та SAR. Активуються гени, продукти яких є маркерами синтезу JA, ET, SA та абсцизової кислоти, PR-гени, а також ті, що стосуються біосинтезу триптофану, фенілаланіну та фенілпропаноїдів. У більшості стрептоміцетів відсутні патогенні детермінанти, вони не індукують механізм “повноцінного” системного захисту в рослин. Лише під час подальшої взаємодії із фітопатогенами виникає повна відповідь рослини на інфікування [14].

Інші учені стверджують, що після взаємодії рослини зі стрептоміцетами рослина сприймає їх як “слабопатогенні”. Це призводить до активації шляхів захисту SAR. Враховуючи здатність тісно взаємодіяти із кореневою системою рослин та синтезувати антимікробні препарати, стрептоміцети є важливим агентом біоконтролю рослинних захворювань [21, 22].

Механізми антагоністичної активності *Streptomyces* проти фітопатогенів такі (рис. 3):

1. Конкуренція за джерела живлення, поверхню колонізації.
2. Синтез гідролітичних ензимів (хітинази, глюканази, протеази та ліпази, які можуть лізувати патогенні клітини грибів).
3. Синтез сидерофорів та антибіотиків.

Здатність до синтезу широкого спектра вторинних метаболітів з антимікробною дією і

можливість ендоефітного способу життя дала змогу стрептоміцетам конкурувати за екологічну нішу в ризосфері та багаті Карбоном ресурси, тим самим зменшуючи ймовірність колонізації ризосфери фітопатогенами. Синтез гідро- та целюлолітичних ензимів стрептоміцетами забезпечує їм доступ до використання як джерела Карбону, Нітрогену складнокарбонівих сполук (целюлози, хітину). Крім цього, здатність до спороутворення допомагає стрептоміцетам вижити у несприятливих умовах, а здатність утворювати гіфи – легко колонізувати корені та клітини рослин [14, 17, 19].

Задля колонізації ризосфери і конкуренції за джерела живлення стрептоміцети задіюють механізми підвищення доступності поживних речовин: мобілізацію фосфатів, фіксацію Нітрогену або хелатування Феруму. Водночас ці механізми забезпечують рістстимульовальні властивості *Streptomyces* (рис. 3, табл. 3).

Фосфор існує у ґрунті як у неорганічній, так і в органічній формах, але лише 0,1 % Фосфору – у розчинній формі, яку можуть поглинути рослини. Штами актинобактерій сприяють розчиненню Фосфору, синтезуючи кілька органічних кислот, таких як: лимонна, глюконова, щавлева, молочна, яблучна, бурштинова та пропіонова кислоти. Як біологічні азотфіксатори *Streptomyces* задіюють власну нітрогеназну ензиматичну систему, яка перетворює атмосферний Нітроген, необхідний рослинам, на амоніак і нітрати [20, 21].

Забезпечення організму Ферумом є одним з найважливіших ресурсів, за який конкурують мікроорганізми ризосфери. Нестача Феруму обмежує ріст фітопатогенів. Стрептоміцети мають здатність продукувати сидерофори, за участі яких до клітини надходять сполуки Феруму, які містяться у ґрунті у нерозчинній формі. Виділений до середовища сидерофор утворює комплекси з йонами Fe^{3+} , які згодом потрапляють усередину клітини мікроорганізму за допомогою механізмів активного транспорту. Оскільки актинобактерії синтезують високоафінні сидерофори (гідроксамат, десферіоксаміни та цееліхелін), а патогени низькоафінні, актинобактерії мають переваги у конкуренції [7, 8].



Рис. 3. Механізми антагоністичної активності бактерій проти фітопатогенів

Таблиця 3

Спектр механізмів *Streptomyces*, задіяних в індукуванні росту рослин

Actinobacteria	Механізм	Рослина
<i>Streptomyces sp. GMKU 3100</i>	Синтез сидерофорів	Рис
<i>Streptomyces sp.</i>	Розчинення фосфатів, синтез ауксину	Пшениця
<i>Streptomyces griseoflavus P4</i>	Фіксація Нітрогену	Соя
<i>Streptomyces spp.</i>	Синтез ауксину	Сорго, рис
<i>Streptomyces sp.</i>	Забезпечення доступної форми речовини	Конюшина
<i>Streptomyces olivaceoviridis, S. Rochei</i>	Синтез гіберелової кислоти, ауксинів, цитокінів	Пшениця

Метаболіти стрептоміцетів є стимуляторами росту рослин: арабідопсису, рису, пшениці, сорго і томатів тощо. Низькі дози ауксину, синтезованого стрептоміцетами, сприяють росту первинних коренів і кореневих волосків, розвитку кореневої системи. *Streptomyces* також продукують цитокініни. Актинобактерії, що сприяють росту рослин, наявні в ризосфері люцерни, сорго, томатів та пшениці [21, 22].

Крім того, штам *S. griseocarneus R132* стимулює ріст надземної частини перцю *C. annuum*, що може бути пов'язано із важливими функціональними ознаками цього штаму, такими як наявність гена *nif* та синтез NH_3 [11]. Інші автори зазначають, що двадцять ізолятів *Streptomyces* із ризосфери сої здатні фіксувати Нітроген і стимулювати ріст паростків сої *in vitro* [19].

4. Антибактерійна та антифунгальна активність *Streptomyces*

Антифунгальна активність стрептоміцетів пов'язана із синтезом ензимів хітиназ, які руйнують хітин – нерозчинний нітрогеновмісний поліцукорид клітинної стінки мікроміцетів. Стрептоміцети використовують його як джерело Карбону та Нітрогену. Крім розчинних сполук та

ензимів, багато *Streptomyces* синтезують низькомолекулярні леткі органічні сполуки (спирти, альдегіди, кетони, складні естери, терпени, терпеноїди, тіоефіри), які заповнюють пори ґрунту. Леткі органічні сполуки володіють антимікробною дією проти фітопатогенів, наприклад, *R. solani*, *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.* (впливають на розвиток повітряного та субстратного міцелію) та індукують ріст коренів і пагонів рослин. Зокрема, досліджено антифунгальну дію штаму *Streptomyces S4-7* і штаму *Streptomyces CEN26* проти фузаріозу. Його тіопептид володіє потужною інгібувальною активністю щодо біогенезу клітинної стінки. Також синтезують 2,5-біс(гідроксиметил)фуран моноацетат, який пригнічує конідіальне проростання *Alternaria brassicicola* [7, 18–20].

Понад 50 штамів *Streptomyces* здатні пригнічувати ріст *Phytophthora spp.* за рахунок праймування імунної системи рослини, характеризуються антифунгальною активністю щодо *Rhizoctonia spp.* і *Pythium spp.* [14].

Досліджуючи антимікробну активність, штами *S. albus* та ізолят *Streptomyces* із біогумусу вирощували одну добу в рідкій культурі, а потім відбирали по 100 мкл суспензії та висівали на чашки з твердим середовищем SG-2. Культивували

п'ять діб та вирізали блоки, що переносили на чашки з м'яким агаром та тест-культурою *B. cereus* чи *D. hansenii*. Після 12-годинної інкубації вимірювали діаметр зон пригнічення. Результати біотестів, які ми отримали, чітко засвідчили антибактерійну та антифунгальну активності обох зразків щодо вибраних тест-культур (рис. 4, табл. 4).

Наші результати доповнили наведені вище дані, довели синтез *in vitro* *Streptomyces* біологічно активних речовин із антимікробною дією.

Доведено антифунгальну активність *Streptomyces* sp. MM140. Механізмами пригнічення росту міцелію *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *Macrophomina phaseolina* та *Phomopsis* sp., є

синтез сидерофорів, що дає можливість конкурувати за йони Феруму, синтез антибіотиків і секреція літичних ензимів: хітинази, β -1,3-глюканази, ліпази, целюлази та екзопротеази. *S. griseocarneus* R132 інгібує *Fusarium oxysporum* (рис. 6), *Botryosphaeria dothidea* CFMAC3 контролює розвиток симптомів антракнозу, спричинених *C. gloeosporioides* MPU99 у перцю (рис. 5). *S. griseocarneus* R132 перспективний для біологічного контролю патогенних мікроорганізмів рослин до і після збирання врожаю та є PGPR перцю.

Індекси продуктивності наведено в табл. 4 (діаметр агарових блоків дорівнює $0,7 \pm 0,1$ см).



Рис. 4. Антибактерійна (А) та антифунгальна (Б) активності ізоляту *Streptomyces* із біогумусу (1) та колекційного штаму *S. albus* (2). К – контроль (вирізаний блок із SG-2)

Таблиця 4

Індекси продуктивності *Streptomyces* у разі культивування на агаризованому середовищі SG-2

Штам	Ізолят <i>Streptomyces</i> з біогумусу	<i>S. albus</i>
ІП проти <i>B. cereus</i>	$2,6 \pm 0,2$	$2,6 \pm 0,1$
ІП проти <i>D. Hansenii</i>	$1,4 \pm 0,1$	$1,3 \pm 0,1$

Безклітинний культуральний фільтрат *S. griseocarneus* Di944 пригнічує ріст грибкових фітопатогенів *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. solani*, *Thielaviopsis basicola* та *Verticillium dahliae* та містить ризотрептин [11].

S. cavourensis та *S. parvulus* пригнічують ріст із *A. carbonarius*, *A. westerdijkiae* та *F. graminearum*. *S. griseocarneus* SWW368 синтезує антибактерійну сполуку 1-метоксипірол-2-карбоксамід *S. griseocarneus* NCIMB 40,447 синтезують протигрибкові та антибактерійні анти-

біотики піразолоізохінолінони. *Streptomyces* sp. здатні до синтезу антрахінонів та алкалоїдів [11].

Актинобактерії – біотехнологічно важливі організми, вони синтезують антибіотики, протипухлинні, імуносупресивні засоби, ензими та інсектициди. За визначником бактерій Берджі (2005 р.), бактерії, що належать до порядку *Actinomycetales*, синтезують приблизно 8700 із 16 500 відомих антибіотиків. Стрептоміцети синтезують майже 80 % антибіотиків із усіх, що синтезують *Actinomycetales* [1, 7, 11, 17].

У табл. 5 наведено деякі антимікробні сполуки, синтезовані *Streptomyces spp.*, проти фітопатогенів.

Здатність штамів *Streptomyces* синтезувати захисні сполуки для рослин свідчить про те, що вони є потенційними агентами біоконтролю. У табл. 6

наведено приклади застосування *Streptomyces* з метою біозахисту. Стратегії біоконтролю можуть подолати проблеми, які супроводжують застосування хімічних пестицидів, і є недорогою альтернативою захисту рослин від фітопатогенів без заподіяння шкоди екосистемі [4, 19, 23].

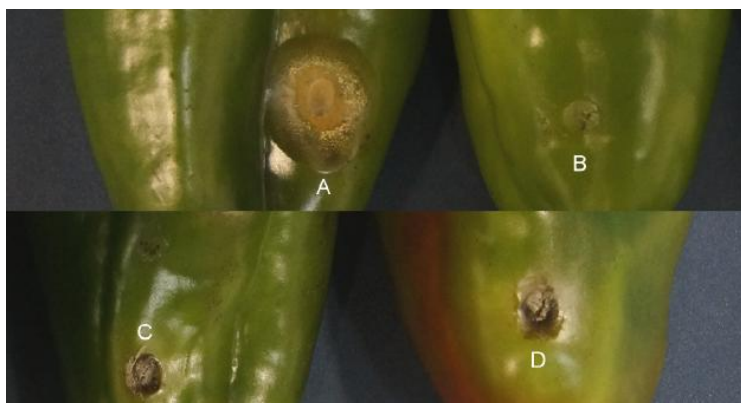


Рис. 5. Пригнічення розвитку антракнозу плодів перцю *Capsicum annuum*, спричиненого *Colletotrichum gloeosporioides* MPU99 [11]. Плоди перцю оброблено різними видами актинобактерій:
A – контроль (оброблено культуральним середовищем, у якому культивували *Streptomyces*);
B – зразок оброблено *Streptomyces griseocarneus* R132;
C – оброблено *Streptomyces prasinopilosus* R199;
D – оброблено *Streptomyces acidiscabies* R403

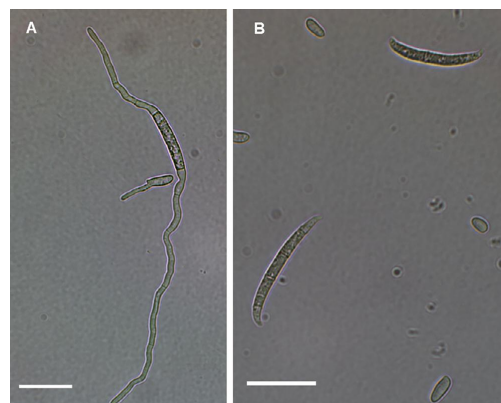


Рис. 6. Пригнічення проростання спор [11].
Fusarium oxysporum *Streptomyces griseocarneus* R132. A – контроль, B – спори культивували за присутності *Streptomyces griseocarneus*

Таблиця 5

Антимікробні сполуки, синтезовані *Streptomyces spp.*, проти фітопатогенів [17]

Метаболіт	Клас метаболіту	Патоген
Олігоміцин	Антибіотик	<i>Erwinia carotovora</i>
Cycle (l-Pro-l-Tyr) Cycle (d-Pro-l-Tyr)	Циклічні пептиди	<i>Xanthomonas axonopodis</i> <i>Ralstonia solanacearum</i> <i>Clavibacter michiganensis</i>
Протеази	Ензим	<i>Colletotrichum dematium</i>
Піроли	Антибіотик	<i>Aspergillus sp.</i> <i>Penicillium sp.</i>
Бластицидин-S, касугаміцин, олігоміцин А, рапаміцин, піроли	Антибіотик	<i>Pyricularia oryzae</i>
β-1,3-глюканаза, бензальдегід, ацетальдегід, бутанова кислота, 2-метил-1-бутанол, бензен, 2-метилпропанова кислота, 3-метилбутанова кислота, бензиловий спирт	Леткі сполуки	<i>Colletotrichum sp.</i> <i>Curvularia lunata</i>

Застосування стрептоміцетів з метою біозахисту [14, 17, 23]

Фітопатогени	Культури, які вражає патоген	Ознаки захворювання	Результат інфікування	Застосування стрептоміцетів із метою біозахисту
<i>Magnaporthe oryzae</i>	Рис, пшениця	Ураження суцвіття, листя	Втрата врожайності та синтез мікотоксинів	Доведено на рослинах, які зростають у тепличних умовах, дослідженнями <i>in vitro</i>
<i>Fusarium spp.</i>	Усі зернові	Забруднення мікотоксинами насіння, ураження стебла, коренів	Втрата врожайності та синтез мікотоксинів	Доведено на рослинах, які зростають у тепличних та польових умовах, дослідженнями <i>in vitro</i>
<i>Rhizoctonia solani</i>	Усі зернові	Ураження стебла, листя, коренів, насіння	Втрата врожайності та синтез мікотоксинів	Доведено на рослинах, які зростають у тепличних умовах, дослідженнями <i>in vitro</i>
<i>Gaeumannomyces graminis</i>	Пшениця, ячмінь, жито, рис, овес, кукурудза	Ураження кореневою гниллю, яка поширюється до надземної частини	Втрата врожайності	Доведено на рослинах, які зростають у тепличних умовах, дослідженнями <i>in vitro</i>
<i>Pythium spp.</i>	Пшениця, ячмінь, рис, кукурудза	Стеблова та коренева гниль, ураження насіння	Втрата врожайності	Доведено на рослинах, які зростають у тепличних умовах, дослідженнями <i>in vitro</i>

На ринку існують комерційно доступні продукти біоконтролю, активними компонентами яких є живі штами *Streptomyces*. Це “Mycostop” (*Streptomyces griseoviridis* K61) та “Actinovate” (*Streptomyces lydicus* WYEC 108). Ці штами реалізуються як висушені препарати спор та застосовуються для оброблення насіння або як добавка до зрошувального розчину. Обидва види *Streptomyces* вивчено у лабораторних умовах. Однак їх ефективність як антифітопатогенних засобів у разі застосування у польових умовах нестабільна. Наприклад, доведено, що “Actinovate” недостатньо ефективний проти фузаріозу кавуна під час польових випробувань та борошнистої роси (*Podosphaera xanthii*), але ефективний для захисту від фітопатогенів кабачків. Оцінювання ефективності дії щодо ячменю (*Hordeum vulgare*) та ярої пшениці (*Triticum aestivum*) “Mycostop” упродовж п’яти років свідчить про збільшення врожайності обох видів сільськогосподарських культур у перший рік оброблення препаратом і зниження його ефективності у наступні роки. “Mycostop” знижує ймовірність появи кореневої гнилі, але, порівняно із хімічними пестицидами, є

менш ефективним. Ці факти спонукають до провадження ширших досліджень, пошуку нових біопрепаратів для профілактики та лікування захворювань рослин.

Стрептоміцети мають великі перспективи і переваги як біотехнологічні засоби захисту рослин. Але потрібно зважати на певні моменти безпечності та доцільності їх застосування. Адже антагонізм стрептоміцетів, крім патогенів, стосуватиметься усього мікробіому ризосфери; мікроорганізмів, які беруть участь у біогеохімічному циклі. *S. griseoviridis* та інші інгібують ініціацію симбіозу між рослинами та грибами. Гриби, що формують мікоризу, відіграють важливу роль у колообігу Фосфору в ґрунті, забезпечують рослини поживними речовинами. *S. kanamyceticus* пригнічує утворення бульбочок азотфіксуючими бактеріями, наприклад *Bradyrhizobium japonicum*, на коренях бобових рослин, зокрема сої. Не усім стрептоміцетам притаманна антагоністична дія щодо мікоризи та азотфіксуючих бактерій. Ці негативні ефекти є штамспецифічними, що звертає увагу на необхідність відбору, скринінгу мікроорганізмів для біоконтролю. Індикаторами

негативного впливу засобів біоконтролю може бути експресія генів рослини, задіяних у біохімічних циклах, наприклад, 1-аміноциклопропан-1-карбоксилатдеамінази, транспортерів фосфатів, що надходять до тканин рослини у результаті мікоризи (*mycorrhizal-inducible phosphate transporters*), а також видовий склад мікробіому ризосфери [14].

Із понад 500 вивчених видів *Streptomyces* лише десять є патогенними. *S. scabiei* – збудник парші картоплі, причиною виникнення цього захворювання є синтез речовин: коронафацинової кислоти і такстоміну. Ці речовини гальмують синтез целюлози клітинної стінки [10, 14, 20].

Висновки

Створення ефективних біотехнологічних розробок із використанням *Streptomyces* для пригнічення розвитку захворювань рослин та підвищення врожайності сільськогосподарських культур триває, набирає все більших обертів як інноваційна альтернатива хімічним препаратам. У цьому керунку *Streptomyces* мають безліч переваг над іншими мікроорганізмами: стійкість до факторів навколишнього середовища, конкурентоздатність під час колонізації ризосфери, здатність до бактерійного та фунгального інгібування, індукування росту рослин та їх системної резистентності. Основа біологічної активності біобезпечних біотехнологічних засобів захисту рослин – не до кінця з'ясовані механізми індукованого системного захисту рослин, що гальмує досягнення кращих результатів щодо їх ефективності. Тому в статті проаналізовано результати останніх досліджень щодо сигнальних мереж та механізмів активації ISR, рістстимулювальних властивостей *Streptomyces* і перспективності їх використання як інструменту біологічного контролю.

References

1. Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of *Actinobacteria*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 80, 1–43.
2. Beneduzi, A., Ambrosini, A. & Passaglia, M. P. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35, 4, 1044–1051.
3. Castañeda-Novoa, C. D., Vincira-Villarraga, D. M., García Romero, I. A. & Sarmiento, N. M. (2021). Evaluation of the production of antifungal metabolites against *Colletotrichum gloeosporioides* in *Streptomyces* 5.1 by random mutagenesis. *Acta Scientiarum*.
4. Claessen, D., Errington, J. (2019). Cell wall deficiency as a coping strategy for stress. *Trends in Microbiology*, 5, 12, 1025–1033.
5. Enebe, M. Ch. & Babalola, O. O. (2019). The impact of microbes in the orchestration of plants' resistance to biotic stress: a disease management approach. *Applied Microbiol Biotechnol*, 103, 9–25. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9433-3>.
6. Evangelista-Martínez, Z., Contreras-Leal, E. A., Corona-Pedraza, L. F. & Gastélum-Martínez, É. (2020). Biocontrol potential of *Streptomyces* sp. CACIS-1.5CA against phytopathogenic fungi causing postharvest fruit diseases. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30:117. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00319-9>.
7. González-Franco, A. C. & Robles-Hernández, L. (2009). Actinomycetes as biological control agents of phytopathogenic fungi. *Tecnociencia Chihuahua*. 3, 2, 64–73.
8. Hossain, A. (2021). Actinobacteria: Potential Candidate as Plant Growth Promoters, Plant Stress Physiology. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93272>.
9. Kannoja, P., Sharma, P. K., Kashyap, K. A., Manzar, N., Singh, U. B., Chaudhary, K., Malviya, D., Singh, Sh. & Sharma, S. K. (2017). Microbe-Mediated Biotic Stress Management in Plants Plant-Microbe. *Interactions in Agro-Ecological*, 26, 627–648. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6593-4_26.
10. Li, Y., Liu, J., Díaz-Cruz, G., Cheng, Z. & Li, B. (2019). Virulence mechanisms of plant-pathogenic *Streptomyces* species: an updated review. *Microbiology*, 165, 1025–1040. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000818>.
11. Liotti, R. G., Silva Figueiredo, M. I., Soares, M. A. (2019). *Streptomyces griseocarneus* R132 controls phytopathogens and promotes growth of pepper (*Capsicum annuum*). *Biological control*, 138. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104065>.
12. Liorens, E., García-Agustín, P., Lapeña, L. (2017). Advances in induced resistance by natural compounds: towards new options for woody crop protection. *Sci. Agric.* 74, 1, 90–100. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-992X-2016-0012>.
13. Mudgett, M. B. (2005). New Insights to the Function of Phytopathogenic Bacterial Type III Effectors in Plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56:509–31. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.56.032604.144218>.
14. Newitt, J. T., Prudence, S. M. M., Hutchings, M. I., Worsley, S. F. (2019). Biocontrol of Cereal Crop Diseases Using *Streptomyces*. *Pathogens*, 8, 78. <https://doi.org/10.3390/pathogens8020078>.
15. Pacios-Michelena, S., Aguilar González, C. N., Alvarez-Perez, O. B., Rodríguez-Herrera, R., Chávez-González, M., Arredondo Valdés, R., Ascacio Valdés, J. A., Govea Salas, M. & Ilyina, A. (2021) Application of *Streptomyces* Antimicrobial Compounds for the Control

- of Phytopathogens. *Front. Sustain. Food Syst.*, 5:696518. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.696518>.
16. Palmer, I. A., Shang, Z., Fu, Zh. Q. (2017). Salicylic acid-mediated plant defense: Recent developments, missing links, and future outlook. *Front. Biol.*, 12, 4, 258–270. <https://doi.org/10.1007/s11515-017-1460-4>.
17. Patel, J. K., Madaan, Sh., Archana, G. (2018) Antibiotic producing endophytic *Streptomyces* spp. colonize above-ground plant parts and promote shoot growth in multiple healthy and pathogenchallenged cereal crops. *Microbiological Research*, 215, 36–45.
18. Pérez-Corral, D. A., Jesús Ornelas-Paz, J., Olivas-Orozco, G. I., Acosta-Muñiz, C. H., Salas-Marina, M. A., Ruiz-Cisneros, M. F., Molina-Corra, F. J., Fernández-Pavía, S. P., Rios-Velasco, C. (2020). Antagonistic effect of volatile and non-volatile compounds from *Streptomyces* strains on cultures of several phytopathogenic fungi. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 32, 12, 879–889. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2020.v32.i12.2222>.
19. Sari, M., Nawangsih, A. A., Wahyudi, A. T. (2021). Rhizosphere *Streptomyces* formulas as the biological control agent of phytopathogenic fungi *Fusarium oxysporum* and plant growth promoter of soybean. *Biodiversitas*, 22, 6, 3015–3023.
20. Sousa, J. A. & Olivares, F. L. (2016) Plant growth promotion by streptomycetes: ecophysiology, mechanisms and applications. *Chem. Biol. Technol. Agric.*, 3, 24. <https://doi.org/10.1186/s40538-016-0073-5>.
21. Viaene, T., Langendries, S., Beirinck, S., Maes, M. & Goormachtig, S. (2016) *Streptomyces* as a plant's best friend? *FEMS Microbiology Ecology*, 92, 8. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw119>.
22. Vijayabharathi R., Gopalakrishnan S., Sathya A., Kumar M. V., Srinivas V. & Mamta Sh. (2018) *Streptomyces* sp. as plant growth-promoters and host-plant resistance inducers against *Botrytis cinerea* in chickpea. *Biocontrol Science and Technology*. <https://doi.org/10.1080/09583157.2018.1515890>
23. Vurukonda, S. S. K. P., Giovanardi, D. & Stefani, E. (2018). Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces* spp. as endophytes, *Int. J. Mol. Sci.*, 19, 952, 2–26. <https://doi.org/10.3390/ijms19040952>.
24. Wang, N., Liu, M., Guo, L., Yang, X., Qiu, D. (2016). A novel protein elicitor (PeBA1) from *Bacillus amyloliquefaciens* NC6 induces systemic resistance in Tobacco. *Int J Biol Sci*, 12, 6, 757–767. DOI: 10.7150/ijbs.14333. Available from <https://www.ijbs.com/v12p0757.htm>.
25. Kozyrovs'ka, N. O. (2006). Mekhanizmy pryrodnoyi immunnosti roslyn. *Biopolimery i klityna*, 22, 2, 91–101.
26. Kolomiyets', Yu. V., Hryhoryuk, I. P., Butsenko, L. M. (2018) Rol' pryrodnykh induktoriv u formuvanni stiykosti roslyn tomativ do zbudnykiv bakterial'nykh khvorob. *Nauk. zap. Ternop. nats. ped. un-tu. Ser. Biol.*, 1, 72, 75–81.
27. Nykolaychuk, E. A., Lahonenko, A. L., Valentovych, L. N., Leshkovych, Y. Y., Ovchynnykova, T. V., Prysyazhnenko, O. K., Doruzhynskaya, N. H., Lymorova, Y. M., Evtushenkov, A. N. (2006). Molekulyarnye mekhanizmy vzaymodeystviya fytopatohennykh bakteriy Erwinia s rastenyyamy. *Vestnyk BHU*, 2, 3, 60–64.
28. Panyuta, O. O., Shablii, V. A., Belava, V. N. (2009). Zhasmonova kyslota ta yiyi uchast' u zakhysnykh reaktsiyakh roslynnoho orhanizmu. *Ukr. biokhim. zhurn.*, 81, 2, 14–26.
29. Shylina, Yu. V., Hushcha, M. I., Molozhava, O. S., Shevchenko, Yu. I., Dmytriiev, O. P. (2017). Imunomodulyuval'ni vlastyvoli bakterial'nykh lipopolisakharydiv u roslyn Arabidopsis thaliana ta yikh modyfikatsiya. *Fyzyolohyya rastenyy y henetyka*, 49, 2, 121–128.

N. P. Shemediyuk¹, I. S. Romashko¹, V. I. Butsiak¹, I. I. Dvilyuk¹, O. V. Shved^{1,2}

¹ Lviv National Stepan Gzhytsky University of Veterinary Medicine and Biotechnology,
Department of Biotechnology and Radiology,

² Lviv Polytechnic National University,
Department of Technology of Biologically Active Substances, Pharmacy and Biotechnology
natshem13@gmail.com

THE DEVELOPMENT OF SYSTEMIC PLANT STABILITY AND THE PROSPECTS OF USING *STREPTOMYCES* AS BIOCONTROL AGENTS

Microorganisms are used for the prevention, treatment of infectious diseases of plants and increasing yields. Products based on a culture of microorganisms mankind use as an alternative to chemical pesticides and fungicides. In this work we consider *Streptomyces* as agents of biocontrol and plant growth stimulator as well as induced by their mechanisms, metabolic pathways. We experimentally proved antifungal, the antibacterial activity of *Streptomyces* isolates obtained from compost.

Key words: *Streptomyces*; phytopathogens; induced system resistance; resistance; biotechnological tools for plant protection; signal path; secondary metabolism; enzyme.