



## Влияние биостимулятора *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D на бактерии, выделенные из эндо- и ризосферы растений картофеля

А.С. Мориц, Ю.А. Маркова, Н.В. Филинова, И.С. Петрушин✉

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Российская Федерация

**Аннотация.** Микробиом картофеля оказывает существенное влияние на рост и развитие растений. Для воздействия на микробиом в сельском хозяйстве перспективно использовать различные биопрепараты на основе почвенных микроорганизмов. Растения картофеля, будучи уязвимыми к патогенам и засухе, наиболее интересны в качестве объекта для разработки биопрепаратов. Особое внимание уделяется бактериям рода *Rhodococcus* благодаря их способности очищать почву от загрязнений и стимулировать рост растений. Целью проведенного исследования являлось изучение влияния штамма *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D на бактерии, выделенные из эндо- и ризосферы растений картофеля. Известно, что лишь малая часть микроорганизмов в составе растительного микробиома может быть получена в чистой культуре. С учетом этих ограничений без использования селективных сред удалось выделить более 70 эндофитных штаммов и показать, что многие из них чувствительны к присутствию компонента биопрепарата из *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D. Данные метагеномного исследования свидетельствуют об изменении состава микробного сообщества после обработки биопрепаратом. Эксперименты также показывают, что бактерии сохраняют чувствительность к родококку даже в присутствии других конкурирующих штаммов. В целом результаты проведенного исследования указывают на модулирующее воздействие биопрепарата на микробиом картофеля без фитотоксичности. Полученные сведения важны для понимания влияния биопрепаратов на микробный состав почвы и растений картофеля, а также для разработки эффективных стратегий использования микроорганизмов в сельском хозяйстве.

**Ключевые слова:** родококк, инокуляция, вторичные метаболиты, эндофиты, картофель

**Благодарности.** Биоинформатический анализ был выполнен на оборудовании Центра коллективного пользования «Биоинформатика» Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск). Секвенирование ДНК проведено в Центре коллективного пользования «Геномика» Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск).

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 23-26-10049.

**Для цитирования:** Мориц А.С., Маркова Ю.А., Филинова Н.В., Петрушин И.С. Влияние биостимулятора *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D на бактерии, выделенные из эндо- и ризосферы растений картофеля // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2024. Т. 14. N 4. С. 578–585. DOI: 10.21285/achb.942. EDN: TIVSPZ.

## Influence of *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D biostimulator on bacterial isolates from potato endo- and rhizosphere

Anna S. Morits, Yulia A. Markova, Nadezhda V. Filinova, Ivan S. Petrushin✉

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

**Abstract.** The potato microbiome has a significant impact on plant growth and development. In order to affect this microbiome, agriculture can use various biopreparations on the basis of soil microorganisms. Being vulnerable to pathogens and drought, potato plants are particularly useful in the development of biopreparations. Special attention is given to *Rhodococcus* bacteria due to their ability to clean contaminated soil and stimulate plant growth. The present study was aimed at examining the effect of *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D on bacteria isolated from potato endo- and rhizosphere. It is known that only a small fraction of microorganisms within the plant microbiome can be obtained in pure culture. Given these limitations, it was possible to isolate over 70 endophytic strains without the use of selective media and show that many of them are sensitive to the presence of a biopreparation component on the basis of *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D. The metagenomic study indicates a change in the composition of the microbial community following treatment with the biopreparation. The experiments also show that the bacteria remain sensitive to *Rhodococcus* even in the presence of other competing strains. In general, the study results indicate a modulating effect of the biopreparation on the potato microbiome without phytotoxicity. The findings are important for understanding the effect of the biopreparation on the microbial composition of soil and potato plants, as well as for developing effective strategies for the use of microorganisms in agriculture.

**Keywords:** *Rhodococcus*, inoculation, secondary metabolites, endophytes, potato

**Acknowledgements.** Bioinformational analysis was performed using the equipment of Research Equipment Sharing Center "Bioinformatika" of Institute of Cytology and Genetics SB RAS (Novosibirsk). DNA sequence was carried out in Research Equipment Sharing Center "Genomika" of Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS (Novosibirsk).

**Funding.** Russian Science Foundation financially supported this work (grant no. 23-26-10049).

**For citation:** Morits A.S., Markova Yu.A., Filinova N.V., Petrushin I.S. Influence of *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D biostimulator on bacterial isolates from potato endo- and rhizosphere. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2024;14(4):578-585. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.942. EDN: TIVSPZ.

### ВВЕДЕНИЕ

Микробиом картофеля, как и других высших растений, выполняет важные функции, поддерживая рост и развитие растения на всех этапах его жизни. Полезное действие микроорганизмов на растения заключается в увеличении азотфиксации, улучшении фосфорного питания, стимуляции роста, повышении устойчивости к неблагоприятным факторам окружающей среды, подавлении фитопатогенов и т.д. [1]. В настоящее время большой интерес вызывает перспективность использования в сельском хозяйстве биопрепаратов на основе почвенных микроорганизмов, однако при их использовании необходимо учитывать не только их действие на растение, но и их влияние на состав автохтонной микрофлоры в разных нишах растения (ризосфере, эндосфере, филлосфере), в том числе в неблагоприятных условиях [2]. Растения картофеля, будучи уязвимыми к патогенам и засухе, особенно интересны в качестве объекта для разработки биопрепаратов. В литературе описаны успешные примеры

использования эндофитных и почвенных бактерий для обработки растений картофеля с целью повышения устойчивости к патогенам. В частности, устойчивость к фитофторе удалось повысить при обработке клубней бактериями *Bacillus subtilis* [3]. Известны также работы по изоляции штаммов микроорганизмов из микробиома диких сортов и видов культурных растений, устойчивых к определенным патогенам. Так, группе под руководством Н. Падилья-Гальвес удалось выявить антагонистическую активность штаммов бактерий рода *Streptomyces* по отношению к возбудителям болезни черной ножки (мягкой гнили) [4]. Эти бактерии были выделены из эндосферы дикого сорта картофеля, произрастающего в Чили.

Среди микроорганизмов, способных реагировать на неблагоприятные изменения в среде обитания и инициировать адаптивные реакции, особое место занимают актинобактерии рода *Rhodococcus*. За последнее десятилетие родококки вызвали значительный интерес благодаря своим высоким катаболическим свойствам. Эти

почвенные бактерии также являются известными продуцентами биологически активных соединений, в том числе обладающих антимикробным действием. Таким образом, родококки могут оказывать влияние на ассоциированные с растением микроорганизмы и играть роль в формировании почвенной экосистемы [5, 6].

Из ризосферы пырея ползучего (*Elymus repens*), произрастающего на нефтезагрязненной почве, нами в 2010 году был выделен штамм *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D. Было показано, что эти бактерии способны окислять как полициклические ароматические углеводороды, так и алканы, что позволяет использовать этот штамм для биологической очистки почв [7]. *R. qingshengii* VKM Ac-2784D входит в состав микробного препарата для биоремедиации почвы, загрязненной нефтью и нефтепродуктами. Установлено, что данный микроорганизм уменьшает неблагоприятное воздействие нефти на растения, а также обладает способностью стимулировать рост растений за счет присутствия в супернатантах ауксинов [8]. Как и некоторые известные штаммы родококка, выделенный нами штамм *R. qingshengii* VKM Ac-2784D способен синтезировать антимикробные соединения, что подтверждается наличием генных кластеров синтеза вторичных метаболитов [9]. В связи с этим возникает вопрос: как исследуемый штамм может повлиять на автохтонный микробиом ризо- и эндосферы растений картофеля при внесении его в почву в составе биопрепарата.

В литературе описаны подходы к анализу межмикробного взаимодействия, в том числе изолятов из эндосферы растений, для чего проводится массовый скрининг парного взаимодействия культур бактерий с последующим отбором случаев ингибирования или стимуляции [10]. Учитывая широкую доступность полногеномного секвенирования, данные такого скрининга возможно сопоставить с составом генных кластеров, участвующих в синтезе вторичных метаболитов [11].

Поскольку известно, что применение родококка может вызвать сдвиг в составе микробного сообщества растений [12], в рамках данной работы предпринята попытка оценить влияние *R. qingshengii* VKM Ac-2784D на бактерии, ассоциированные с растениями картофеля (*Solanum tuberosum*) сорта Луговской.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

При проведении лабораторных исследований применяли штамм *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D из коллекции Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск). Штамм также передан нами во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов [13].

Для выделения эндо- и ризосферных бактерий использовали растения картофеля (*S. tuberosum*) сорта Луговской, выращиваемые на опытном участке, расположенном на территории бассейнов рек Малой Олхи и Большой Олхи на юго-западе Прибайкалья (52°02'07.9» N, 104°04'57.2» E). Выбор сорта картофеля обусловлен большим опытом работы с ним в рамках лаборатории растительно-микробных взаимодействий Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН и наличием культуры *in vitro* этого сорта [14].

Почвообразующими породами являлись элювиевые отложения коренных и подстилающих пород, почвы легкосуглинистые со слабой или средней

щебеночностью. Эндофитные бактерии выделяли из листьев картофеля, которые для этого промывали, обрабатывали 3%-й перекисью водорода в течение 5 мин, затем 96%-м этиловым спиртом 1 мин, далее трижды отмывали стерильной дистиллированной водой. Растительные образцы растирали в ступке, гомогенат последовательно разбавляли водой в соотношениях 1:1, 1:10 по объему. Ризосферные бактерии выделяли из почвенной вытяжки (1 г почвы на 10 мл дистиллированной воды). Использовали разведение от  $10^{-1}$  до  $10^{-11}$ . Посев эндо- и ризосферных бактерий осуществляли по 200 мкл на чашки Петри на твердый питательный агар на основе гидролизата говяжьего мяса ферментативного (ООО «Научно-исследовательский центр фармакотерапии», Россия). Культивировали в термостате при температуре 26 °С.

Тинкториальные свойства эндо- и ризосферных бактерий определяли с использованием метода окраски по Граму.

Чувствительность бактерий к вторичным метаболитам *R. qingshengii* определяли дискодиффузионным методом. Для этого исследуемый штамм родококка культивировали в течение 3 суток ( $OD = 0,2$  при длине волны 595 нм) в минеральной среде 8E с концентрацией солей, г/л:  $NH_4NO_3 - 1,0$ ,  $MgCl_2 - 0,1$ ,  $KH_2PO_4 - 3,0$ ,  $K_2HPO_4 - 7,0$ ,  $CaCO_3 - 1,0$ ; pH = 7,0. В качестве источника углерода к среде добавляли глюкозу (5 г/л). Для получения супернатанта суспензию клеток *R. qingshengii* центрифугировали 1–2 мин при 14000 об/мин (CM-150 Micro, Stgler, Китай).

В чашку Петри вносили по 200 мкл бактериальной суспензии (бактерии, ассоциированные с картофелем). На поверхность агара помещали диски из фильтровальной бумаги (диаметром 8 мм) и аккуратно пропитывали их супернатантом (10 мкл). Культивировали в термостате при температуре 26 °С. Через 2 суток фиксировали размер зоны подавления роста вокруг диска в миллиметрах.

Для моделирования взаимоотношений родококка с чувствительным к нему изолятом (№ 38) и картофелем *in vitro* растения выращивали в течение 10 суток на твердой питательной среде Мурасиге – Скуга (MS) (Sigma, США) с добавлением 20 г/л сахарозы при температуре 20–21 °С с 16-часовым фотопериодом до достижения ими размера  $4,2 \pm 0,1$  см. Далее переносили на жидкую среду MS для адаптации на 4 дня. Затем в среду роста добавляли смыв (200 мкл) изолята № 38 с твердого агарового субстрата ( $OD = 0,2$  при длине волны 595 нм). Длительность коинкубации составляла 10 суток. Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) бактерий в начале экспозиции составляло  $\log 7$  кл/мл. Высев бактерий из эндо- и ризосферы картофеля осуществляли каждые 48 ч. Для изоляции эндосферных бактерий верхнюю часть растения (2 см) растирали в ступке с добавлением 90 мкл среды, далее 10 мкл гомогената разводили в соотношениях 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000. На чашку Петри вносили по 90 мкл суспензии. Для оценки ризосферы брали по 10 мкл среды роста растений, разведение и высеив проводили аналогично вышеописанному. Подсчет колоний производили через 2 суток.

Для оценки влияния среды роста MS растений на *R. qingshengii* и эндосферную бактерию № 38, ассоции-

рованную с *S. tuberosum*, обе бактерии культивировали в течение 10 суток в данной среде. Смыв бактерий производили с твердой агаризованной среды (OD = 0,2 при длине волны 595 нм), инкубировали в тех же условиях, что и растения картофеля *in vitro*. Через каждые 48 ч производили высев культур на чашки для подсчета КОЕ.

Для поиска генов, кодирующих вторичные метаболиты, проводили анализ генома *R. qingshengii* VKM Ac-2784D [9] в программе AntiSMASH версии 7.1.0 [15].

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Создание коллекции эндо- и ризосферных бактерий растений картофеля сорта Луговской. Из образцов ризосферы и эндосферы картофеля сорта Луговской были выделены 74 бактериальные культуры, из них 4 грамотрицательных, 70 грамположительных. 39 штаммов обладали способностью к спорообразованию. Все культуры были использованы в дальнейших экспериментах для оценки антагонизма с *R. qingshengii* VKM Ac-2784D.

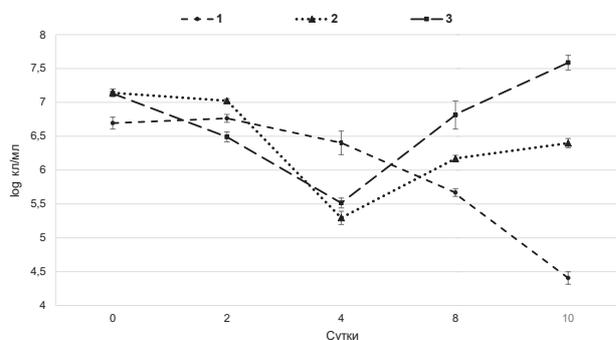
Антагонизм *Rhodococcus qingshengii* по отношению к бактериям, ассоциированным с растениями картофеля сорта Луговской. Установлено, что из всех выделенных бактерий наиболее высокой чувствительностью обладали 5 штаммов (7% от всех изолятов) с диаметром зоны подавления роста 18–22 мм, 17 штаммов (23%) обладали средней восприимчивостью (диаметр подавления роста – 14–18 мм), а 24 штамма (32%) показали слабую чувствительность. Остальные 28 изолятов проявляли устойчивость к метаболитам *R. qingshengii*. Одним из наиболее чувствительных штаммов являлся грамположительный спорообразующий изолят № 38 (рис. 1).



**Рис. 1.** Оценка влияния метаболитов *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D на изолят № 38 (К – контроль (стерильная дистиллированная вода); С – супернатант *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D)

**Fig. 1.** Evaluation of *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D metabolites impact on isolate no. 38 (К – control (sterile water); С – supernatant of *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D)

Моделирование взаимоотношений *Rhodococcus qingshengii* со штаммом № 38 в растении картофеля *in vitro*. При инкубировании *R. qingshengii* VKM Ac-2784D и наиболее чувствительного к нему изолята № 38 в среде роста растений картофеля MS было показано, что обе культуры способны к выживанию в данной среде как в случае монокультуры, так и при совместном культивировании (рис. 2).



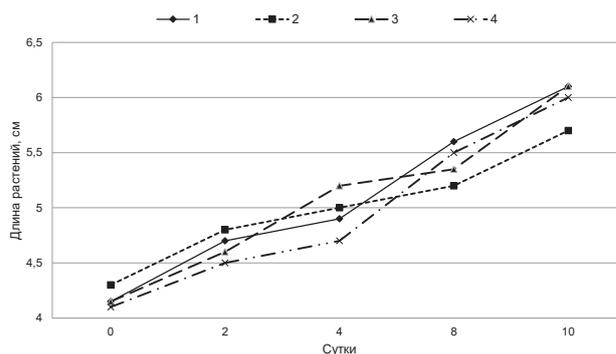
**Рис. 2.** Изменение количества колониобразующих единиц культур *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D и изолята № 38 в среде Мурасиге – Скуга:

1 – *Rhodococcus qingshengii*; 2 – изолят № 38; 3 – совместное культивирование *Rhodococcus qingshengii* и изолята № 38

**Fig. 2.** Change of the number of colony-forming units of *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D and isolate no. 38 at the Murashige and Skoog culture:

1 – *Rhodococcus qingshengii*; 2 – isolate no. 38; 3 – both *Rhodococcus qingshengii* and isolate no. 38

При заражении растений картофеля *in vitro* сорта Луговской *R. qingshengii* VKM Ac-2784D и изолятом № 38 показано, что данные микроорганизмы не обладают фитотоксическим действием на растения и практически не оказывают влияния на рост растений (рис. 3).



**Рис. 3.** Рост растений картофеля *in vitro* при коинкуляции *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D и изолятом № 38:

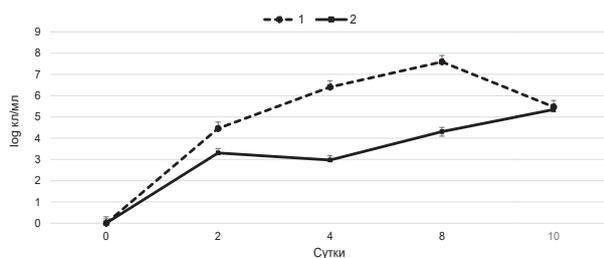
1 – контроль; 2 – изолят № 38; 3 – *Rhodococcus qingshengii*; 4 – совместное культивирование *Rhodococcus qingshengii* и изолята № 38

**Fig. 3.** Potato plant growth *in vitro* when co-inoculated with *Rhodococcus qingshengii* and isolate no. 38: 1 – control; 2 – isolate no. 38; 3 – *Rhodococcus qingshengii*;

4 – both *Rhodococcus qingshengii* and isolate no. 38

Исследуемые бактерии проникали в эндосферу картофеля *in vitro*. Дальнейшее высевание колоний бактерий из тканей картофеля, зараженных ими, и подсчет количества КОЕ штамма № 38 и родококка в эндосфере картофеля показало, что эти бактерии способны к эндофитному образу жизни.

При совместном культивировании, начиная с 4-х суток, родококк оказывал угнетающее воздействие на изолят № 38, которое продолжалось до 9-х суток, как в среде роста, так и в эндосфере (рис. 4, 5).



**Рис 4.** Изменение количества колониеобразующих единиц *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D и изолята № 38 в эндосфере растений картофеля *in vitro*: 1 – изолят № 38; 2 – *Rhodococcus qingshengii*

**Fig. 4.** Change of the number of colony-forming units of *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D and isolate no. 38 at the endosphere of potato plant *in vitro*: 1 – isolate no. 38; 2 – *Rhodococcus qingshengii*

На 10-е сутки количество КОЕ было примерно равным, что говорит о компенсационном влиянии растения и установлении равновесия в системе «растение – изолят № 38 – родококк».

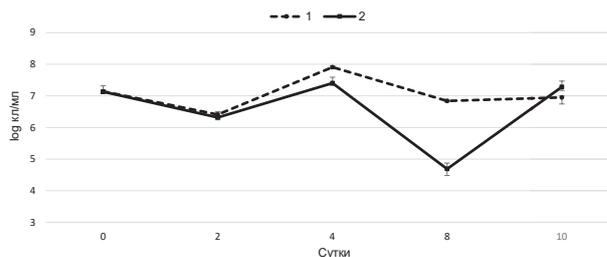
Определение генных кластеров, кодирующих вторичные метаболиты в геноме *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D. Чтобы выяснить состав антимикробных соединений, синтезируемых родококком, был проведен анализ генных кластеров полного генома родококка [13] с помощью инструмента AntiSmash версии 7.1.0 [15]. Анализ указывает на наличие в геноме *R. qingshengii* VKM Ac-2784D 8 генных кластеров, кодирующих нерибосомальные пептидсинтазы, характерные для родококков [16], в том числе гетеробактин (100%-я гомология) и эритрохелин (57%-я гомология). Перечень обнаруженных кластеров с указанием доли сходства с экспе-

Описание генных кластеров синтеза вторичных метаболитов, обнаруженных в геноме *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D

Secondary metabolites gene clusters description of *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D genome

Тип кластера	Наименование	Процент идентичности	Идентификатор в базе NCBI <sup>1</sup>
RiPP-like	branched-chain fatty acids	75	MG324007
ectoine	ectoine	75	MT149902
terpene	isorenieratene	42	AP009493
NRPS	coelichelin	27	AL645882
NRP-metallophore	heterobactin B	100	LQWU01000088
NRP-metallophore	erythrochelin	57	AM420293
NRPS-like	corynecin III	100	CP023720
NAPAA	ε-poly-L-lysine	100	LC517046

<sup>1</sup> National Center for Biotechnology Information // Ncbi.nlm.nih.gov. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (дата обращения: 21.03.2024).



**Рис. 5.** Изменение количества колониеобразующих единиц *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D и изолята № 38 в среде роста растений картофеля *in vitro*: 1 – изолят № 38; 2 – *Rhodococcus qingshengii*

**Fig. 5.** Change of the number of colony-forming units of *Rhodococcus qingshengii* VKM Ac-2784D and isolate no. 38 at the growth media of potato plant *in vitro*: 1 – isolate no. 38; 2 – *Rhodococcus qingshengii*

риментально подтвержденными образцами приведен в таблице. Присутствие генов синтеза эктоина указывает на способность бактерий к осморегуляции (характерно для представителей *Rhodococcus*), что позволяет им адаптироваться к широкому спектру внешних условий при осмотическом стрессе [17]. Синтез эктоина часто сочетается с синтезом трегалозы, соответствующие гены также содержатся в геноме *R. qingshengii* VKM Ac-2784D, что описано в одной из наших предыдущих публикаций [9]. Выработка ароматического каротиноида изорениератена позволяет бактерии нейтрализовать активные формы кислорода, повышает фотозащитные свойства и антиоксидантную активность [18], в том числе благодаря его более устойчивой к ультрафиолету форме в сравнении с другими каратеноидами [19].

Для борьбы с конкурирующими бактериями штамм обладает необходимыми средствами. Так, тетрапептидные сидерофоры гидроксаматного типа (эритрохелин и коэлихелин) за счет ингибирующего действия против *Bacillus*, *Micrococcus* spp. и *Pseudomonas* позволяют получить преимущество в условиях дефицита железа [20]. Аналогичную функцию выполняет гетеробактин, катехолатно-гидроксаматный сидерофор смешанного типа. Рассматриваемый штамм способен синтезировать и антибиотики, такие как ε-поли-лизин, представляющий собой нетоксичный и биоразлагаемый гомополи-

пептид из микроорганизмов родов *Streptomyces* и *Kitasatospora* [21].

Широкое применение различных бактерий для инокуляции растений картофеля, несмотря на успешность многих экспериментов [1], оставляет открытыми несколько существенных вопросов. Во-первых, важно понимать, как долго могут сохраняться внесенные в почву компоненты биопрепарата, требуется ли повторная обработка в течение полевых сезонов до сбора урожая. Во-вторых, выяснить, индуцирует ли биопрепарат существенное изменение состава микробиома почвы и растения, возможно негативного свойства (аналогично дисбиозу у животных после приема антибиотиков или обширной инфекции). Некоторые исследователи отмечают, что инокуляция биопрепаратом может вызвать сдвиг в составе микробного сообщества растений [12]. В этом случае необходимо определить, сохраняются ли после инокуляции родококком в составе микробиома растения ключевые представители микробного сообщества.

Первым шагом к оценке влияния родококка на микробиом картофеля стали метагеномные исследования, проводимые нами в рамках проекта Российского научного фонда (№ 23-26-10049). В образцах ризосферной почвы картофеля преобладали представители филумов Proteobacteria, Acidobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria и Firmicutes. Предварительные данные таксономического анализа указывают на то, что обработка суспензией клеток родококка привела к снижению содержания Proteobacteria и Bacteroidetes. Напротив, содержание Acidobacteria, Firmicutes, Verrucomicrobia возросло. Тем не менее говорить о том, как такой сдвиг состава микробного сообщества влияет на физиологию растения и его продуктивность, без физиологического исследования с достаточным количеством статистически убедительных данных затруднительно.

Особый интерес представляют механизмы конкуренции, аспекты антагонизма разных штаммов [22].

Известно, что лишь малая часть микроорганизмов в составе растительного микробиома может быть получена в чистой культуре и зачастую требуется подбор среды и особых условий [23]. Даже с учетом этих ограничений без использования селективных сред нам удалось выделить более 70 эндофитных штаммов и показать, что многие из них чувствительны к присутствию компонента биопрепарата *R. qingshengii* VKM Ac-2784D. Выделенные штаммы были сгруппированы по чувствительности к родококку от высокой (7% изолятов) и средней (23% изолятов) к минимальной (32% изолятов) и нулевой, т.е. резистентности (28% изолятов). Определив в дальнейшем в общем микробиоме долю чувствительных штаммов, можно грубо оценить изменение их относительной представленности после обработки биопрепаратом. Из группы высокочувствительных штаммов для исследования антагонизма был выбран изолят № 38. Заражение растений картофеля *in vitro* родококком и изолятом № 38 не выявило фитотоксического эффекта – достоверного изменения роста растений не происходило. Дальнейшая совместная культивация этих бактерий (родококка и изолята № 38) в составе растения показала, что изолят № 38 сохраняет чувствительность к родококку даже в таких условиях. Для борьбы с конкурирующими бактериями штамм обладает необходимыми средствами: синтезирует антиоксидантные, антимикробные соединения и сидерофоры.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Результаты проведенного исследования показывают, что биопрепарат *R. qingshengii* VKM Ac-2784D способен оказывать модулирующее действие на компоненты микробиома картофеля, фитотоксичной активности по отношению к картофелю не выявлено. Представители основных бактериальных таксонов сохраняются в микробиоме, хотя их доля меняется по сравнению с контрольными образцами.

#### **REFERENCES**

1. Petrushin I.S., Filinova N. V., Gutnik D.I. Potato microbiome: relationship with environmental factors and approaches for microbiome modulation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(2):750. DOI: 10.3390/ijms25020750.
2. Petrushin I.S., Vasilev I.A., Markova Yu.A. Drought tolerance of legumes: physiology and the role of the microbiome. *Current Issues in Molecular Biology*. 2023;45(8):6311-6324. DOI: 10.3390/cimb45080398.
3. Yarullina L.G., Burkhanova G.F., Tsvetkov V.O., Cherepanova E.A., Zaikina E.A., Sorokan A.V., et al. Stimulation of the protective mechanisms of *Solanum tuberosum* by the bacteria *Bacillus subtilis* and chitoooligosaccharides upon infection with *Phytophthora infestans*. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2022;58:166-174. DOI: 10.1134/S0003683822020168.
4. Padilla-Gálvez N., Luengo-Urbe P., Mancilla S., Maurin A., Torres C., Ruiz P., et al. Antagonistic activity of endophytic actinobacteria from native potatoes (*Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* L.) against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *Pectobacterium atrosepticum*. *BMC Microbiology*. 2021;21:335. DOI: 10.1186/s12866-021-02393-x.
5. Cappelletti M., Presentato A., Piacenza E., Firrincieli A., Turner R.J., Zannoni D. Biotechnology of *Rhodococcus* for the production of valuable compounds. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020;104:8567-8594. DOI: 10.1007/s00253-020-10861-z.
6. Ivshina I., Bazhutin G., Tyumina E. *Rhodococcus* strains as a good biotool for neutralizing pharmaceutical pollutants and obtaining therapeutically valuable products: through the past into the future. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:967127. DOI: 10.3389/fmicb.2022.967127.
7. Krivoruchko A., Kuyukina M., Peshkur T., Cunningham C.J., Ivshina I. *Rhodococcus* strains from the specialized collection of alkanotrophs for biodegradation of aromatic compounds. *Molecules*. 2023;28(5):2393. DOI: 10.3390/molecules28052393.
8. Tretyakova M.S., Ivanova M.V., Belovezhets L.A., Markova Yu.A. Possible use of oil-degrading microorganisms for protection of plants growing under conditions of oil pollution. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2019;315:072046. DOI: 10.1088/1755-1315/315/7/072046.
9. Markova Yu.A., Petrushin I.S., Belovezhets L.A. Detection of gene clusters for biodegradation of alkanes and aromatic compounds in the *Rhodococcus qingshengii*

VKM Ac-2784D genome. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2023;27(3):276-282. DOI: 10.18699/VJGB-23-33.

10. Helfrich E.J.N., Vogel C.M., Ueoka R., Schäfer M., Ryffe F., Müller D.B., et al. Bipartite interactions, antibiotic production and biosynthetic potential of the *Arabidopsis* leaf microbiome. *Nature Microbiology*. 2018;3:909-919. DOI: 10.1038/s41564-018-0200-0.

11. Scherlach K., Hertweck C. Mining and unearthing hidden biosynthetic potential. *Nature Communications*. 2021;12:3864. DOI: 10.1038/s41467-021-24133-5.

12. Chen W., Zuo Y., Hou Z., Wang B., Xiong S., Ding X., et al. Effect of *Rhodococcus* bioaugmentation and biostimulation on dibenzothiophene biodegradation and bacterial community interaction in petroleum-contaminated soils. *Frontiers in Environmental Science*. 2023;11:1270599. DOI: 10.3389/fenvs.2023.1270599.

13. Petrushin I.S., Markova Y.A., Karepova M.S., Zaytseva Y.V., Belovezhets L.A. Complete genome sequence of *Rhodococcus qingshengii* strain VKM Ac-2784D, isolated from *Elytrigia repens* rhizosphere. *Microbiology Resource Announcements*. 2021;10(11). DOI: 10.1128/mra.00107-21.

14. Graskova I.A., Romanenko A.S., Vladimirova S.V., Kolesnichenko A.V. Changes in peroxidase activity during potato ring rot infection. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2004;51:476-479. DOI: 10.1023/B:RUPP.0000035739.81684.11.

15. Blin K., Shaw S., Augustijn H.E., Reitz Z.L., Biermann F., Alanjary M., et al. AntiSMASH 7.0: new and improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualisation. *Nucleic Acids Research*. 2023;51(W1):W46-W50. DOI: 10.1093/nar/gkad344.

16. Undabarrena A., Valencia R., Cumsille A., Zamora-Leiva L., Castro-Nallar E., Barona-Gomez F., et al. *Rhodococcus* comparative genomics reveals a phylogenomic-dependent non-ribosomal peptide synthetase distribution: insights into biosynthetic gene cluster connection to an orphan metabolite. *Microbial Genomics*. 2021;7(7):000621. DOI: 10.1099/mgen.0.000621.

17. Czech L., Hermann L., Stöveken N., Richter A.A., Höppner A., Smits S.H.J., et al. Role of the extremolytes ectoine and hydroxyectoine as stress protectants and nutrients: genetics, phylogenomics, biochemistry, and structural analysis. *Genes*. 2018;9(4):177. DOI: 10.3390/genes9040177.

18. Chen Y., Xie B., Yang J., Chen J., Sun Z. Identification of microbial carotenoids and isoprenoid quinones from *Rhodococcus* sp. B7740 and its stability in the presence of iron in model gastric conditions. *Food Chemistry*. 2018;240:204-211. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.06.067.

19. Jiang W., Sun J., Gao H., Tang Y., Wang C., Jiang Y., et al. Carotenoids production and genome analysis of a novel carotenoid producing *Rhodococcus aetherivorans* N1. *Enzyme and Microbial Technology*. 2023;164:110190. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2022.110190.

20. O'Brien S., Culbert C.T., Barraclough T.G. Community composition drives siderophore dynamics in multi-species bacterial communities. *BMC Ecology and Evolution*. 2023;23:45. DOI: 10.1186/s12862-023-02152-8.

21. Nazari M.T., Simon V., Machado B.S., Crestani L., Marchezi G., Concolato G., et al. *Rhodococcus*: a promising genus of actinomycetes for the bioremediation of organic and inorganic contaminants. *Journal of Environmental Management*. 2022;323:116220. DOI: 10.1016/j.jenvman.2022.116220.

22. Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Krivoruchko A.V., Tyumina E.A. Responses to ecopollutants and pathogenization risks of saprotrophic *Rhodococcus* species. *Pathogens*. 2021;10(8):974. DOI: 10.3390/pathogens10080974.

23. Sarhan M.S., Patz S., Hamza M.A., Youssef H.H., Mourad E.F., Fayed M., et al. G3 phylochip analysis confirms the promise of plant-based culture media for unlocking the composition and diversity of the maize root microbiome and for recovering unculturable candidate divisions/phyla. *Microbes and Environments*. 2018;33(3):317-325. DOI: 10.1264/jsme2.ME18023.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

##### Мориц Анна Сергеевна,

ведущий инженер,  
Сибирский институт физиологии  
и биохимии растений СО РАН,  
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,  
Российская Федерация,  
aconitkaaco@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0003-2266-3764>

##### Маркова Юлия Александровна,

д.б.н., главный научный сотрудник,  
заведующий лабораторией,  
Сибирский институт физиологии  
и биохимии растений СО РАН,  
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,  
Российская Федерация,  
juliam06@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-7767-4204>

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

##### Anna S. Morits,

Leading Engineer,  
Siberian Institute of Plant Physiology  
and Biochemistry SB RAS,  
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,  
Russian Federation,  
aconitkaaco@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0003-2266-3764>

##### Yuliya A. Markova,

Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher,  
Head of the Laboratory,  
Siberian Institute of Plant Physiology  
and Biochemistry SB RAS,  
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,  
Russian Federation,  
juliam06@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-7767-4204>

**Филинова Надежда Владимировна,**  
к.б.н., ведущий технолог,  
Сибирский институт физиологии  
и биохимии растений СО РАН,  
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,  
Российская Федерация,  
filinova\_nv@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-0328-6716>

**Петрушин Иван Сергеевич,**  
к.т.н., научный сотрудник,  
Сибирский институт физиологии  
и биохимии растений СО РАН,  
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,  
Российская Федерация,  
✉ ivan.kiel@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0002-8788-5352>

**Nadezhda V. Filinova,**  
Cand. Sci. (Biology), Leading Technologist,  
Siberian Institute of Plant Physiology  
and Biochemistry SB RAS,  
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,  
Russian Federation,  
filinova\_nv@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-0328-6716>

**Ivan S. Petrushin,**  
Cand. Sci. (Engineering), Researcher,  
Siberian Institute of Plant Physiology  
and Biochemistry SB RAS,  
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,  
Russian Federation,  
✉ ivan.kiel@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0002-8788-5352>

#### **Вклад авторов**

А.С. Мориц – проведение экспериментов, подготовка иллюстративного материала.  
Ю.А. Маркова – разработка концепции исследования, развитие методологии, обсуждение результатов, написание текста статьи.  
Н.В. Филинова – обсуждение результатов, написание текста статьи.  
И.С. Петрушин – обработка полученных данных, обсуждение результатов, написание текста статьи.

#### **Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.*

#### **Информация о статье**

Поступила в редакцию 04.08.2024.  
Одобрена после рецензирования 20.09.2024.  
Принята к публикации 30.11.2024.

#### **Contribution of the authors**

Anna S. Morits – investigation, visualization.  
Yulia A. Markova – conceptualization, methodology, results discussion, writing the text of manuscript.  
Nadezhda V. Filinova – results discussion, writing the text of manuscript.  
Ivan S. Petrushin – data processing, results discussion, writing the text of manuscript.

#### **Conflict interests**

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.*

#### **Information about the article**

The article was submitted 04.08.2024.  
Approved after reviewing 20.09.2024.  
Accepted for publication 30.11.2024.