

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И СОСТАВ МЕТАБОЛИТОВ ШТАММА
STREPTOMYCES CARPATICUS K-11 RCAM04697 (SCPM-O-B-9993),
ПЕРСПЕКТИВНОГО ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В РАСТЕНИЕВОДСТВЕ

© 2023 г. Ю. В. Батаева^а, *, Л. Н. Григорян^а, А. Г. Богун^б, А. А. Кисличкина^б, М. Е. Платонов^б,
Е. А. Курашов^с, Ю. В. Крылова^д, А. Г. Федоренко^е, М. П. Андреева^а

^аАстраханский государственный университет им В.Н. Татищева, Астрахань, 414056 Россия

^бГосударственный научный центр прикладной микробиологии
и биотехнологии Роспотребнадзора, Оболенск, 142279 Россия

^сИнститут озерадения Российской академии наук, обособленное подразделение СПб ФИЦ РАН,
Санкт-Петербург, 196105 Россия

^дСанкт-Петербургский филиал ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства
и океанографии» (ГосНИОРХ им. Л.С. Берга), Санкт-Петербург, 199004 Россия

^еЮжный федеральный университет, Ростов-на-Дону, 344006 Россия

*e-mail: aveatab@mail.ru

Поступила в редакцию 02.11.2022 г.

После доработки 28.11.2022 г.

Принята к публикации 10.01.2023 г.

Из бурой полупустынной почвы Астраханской области с очень сильной степенью засоления выделен штамм К-11, который на основании анализа последовательности гена 16S рРНК отнесен к виду *Streptomyces carpaticus* K-11 RCAM04697 (SCPM-O-B-9993). Проведено полногеномное секвенирование штамма. Изучена фитотоксичность, противовирусная, антиоксидантная, антифунгальная, инсектицидная активности штамма. Все экстракты и суспензии штамма *S. carpaticus* RCAM04697 обладали фитостимулирующей активностью. Противовирусные свойства проявлялись в сдерживании развития и распространения вирусных возбудителей в лабораторных условиях: вируса мозаики томата (ВМТо) (*Tomato mosaic virus*, *ToMV*) – 26.3%, вируса мозаики огурца (ВОМ) (*Cucumber mosaic virus*, *CMV*) – 33.8%, Y-вируса картофеля (YBK) (*Potato Ypotyvirus*, *PVY*) – 51.3%, X-вируса картофеля (ХВК) (*Potato Xpotyvirus*, *PVX*) – 41.3%. Наибольшую антиоксидантную активность проявили суспензия – 88.8% и водно-спиртовой экстракт (20 : 80) – 76.0% штамма *S. carpaticus* RCAM04697. Штамм в различной степени ингибировал рост фитопатогена *Fusarium sporotrichioides*. Инсектицидная активность в отношении *Aphis fabae* через 6 ч обработки составила 100% в вариантах с обработкой суспензией, водно-спиртовым (80 : 20, 50 : 50), метанольным и гексановым экстрактами. В составе метаболитов штамма *S. carpaticus* RCAM04697 обнаружены флавоноиды, алкалоиды, гликозиды, органические кислоты (изолимонная, уксусная, фумаровая, молочная, пировиноградная, яблочная), спирты, альдегиды, углеводороды, эфиры, серосодержащие соединения и другие группы низкомолекулярных органических соединений.

Ключевые слова: стрептомицеты, *Streptomyces*, актинобактерии, антиоксидантная активность, антифунгальная активность, противовирусная активность, метаболиты, экстракт, масс-спектрометрия

DOI: 10.31857/S0026365622600730, **EDN:** FVXVYA

Вследствие применения химических удобрений и средств защиты растений, агроценозы аридной зоны испытывают большой стресс по сравнению с природными экосистемами, что сопровождается обеднением состава биоценоза почвы, выпадением из нее ценных видов, деградацией почвенных экосистем, ухудшением качества сельскохозяйственной продукции. Поэтому в настоящее время все большее применение находят биологические удобрения и средства защиты растений на основе почвенных микроорганизмов, которые являются

экологически безопасными стимуляторами роста растений и защищают их от болезней.

Стрептомицеты широко распространены в природе и составляют основную часть актинобактерий, населяющих почву. Разнообразие стрептомицетов, их место среди прочих почвенных микроорганизмов, высокий уровень выживаемости обусловлены конкурентоспособностью и широким спектром продуцируемых метаболитов (Korkmaz et al., 2015; Grigoryan et al., 2020). Стрептомицеты продуцируют в окружающую среду вторичные экзометаболиты,

представляющие собой многокомпонентные комплексы различных по химическому строению природных соединений — антибиотиков, литических ферментов, аминокислот, терпеноидов, алкалоидов и других полезных веществ (Rezanka et al., 2004; Егорова и соавт., 2019). Такие соединения обуславливают полезные свойства стрептомицетов: фитостимулирующие (Бурцева и соавт., 2014), противовирусные (патент № 2226214), антифунгальные (Домрачева и соавт., 2022), антиоксидантные, инсектицидные (Анисимова, 2008). В подавляющем большинстве случаев многие виды стрептомицетов способны синтезировать не один, а несколько вторичных метаболитов (Cho, 2012).

Среди актинобактерий известен ряд штаммов, являющихся перспективной основой для разработки высокоэффективных биопестицидов: *S. avermitilis* CCM 4697 — продуцент авермектинов, оказывающих токсическое действие на клещей (патент № 2156301); *S. chrysomallus* P-21 действует против грибных и вирусных фитопатогенов (патент № 2226214); *S. hygrosopicus* ssp. ЦКМ В-4561 обладает фунгицидными, бактерицидными и инсектицидными свойствами (патент № 2243259).

Основой микробиологических средств защиты растений являются высокопроизводительные штаммы, в связи с чем необходимо знание эколого-биологических особенностей и биотехнологических возможностей данных продуцентов (Поляк, Сухаревич, 2017). Кроме того, активность штаммов часто обоснована синтезом первичных и вторичных метаболитов, изучение состава которых дает основу понимания механизмов их влияния на объекты.

Цель работы — изучение физиолого-биохимических свойств, таксономического положения, молекулярно-генетических особенностей, спектра биологической активности и полезных для растений экзометаболитов штамма *Streptomyces carpaticus* K-11 RCAM04697.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования — штамм *Streptomyces carpaticus* RCAM04697, выделенный в 2013 г. из бурой полупустынной почвы с очень сильной степенью засоления (сухой остаток водной вытяжки — 2.4%) в Наримановском районе Астраханской области.

Условия культивирования. Для изучения культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств штамм выращивали на плотной крахмально-казеиновой среде при температуре 28°C в течение 7 сут. Культуральные свойства исследовали путем определения цвета воздушного и субстратного мицелия, цвета растворимых пигментов, которые окрашивают среду. Изучение морфологического строения репродуктивных структур штамма проводили на 14 сут роста, вырастив

культуру на среде, наиболее благоприятной для спороношения — минеральном агаре. Физиолого-биохимические признаки определяли по стандартным методикам (Методы..., 1984).

Электронно-микроскопическое исследование клеток штамма *S. carpaticus* RCAM04697. Для ультраструктурного исследования клеток штамма *S. carpaticus* RCAM04697 на 3 сут инкубации отбирали фрагменты биопленки, выращенной на крахмально-казеиновой среде, размером примерно 2 × 2 мм. Образцы фиксировали в 2.5% растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере (pH 7.4) в течение 2 ч при комнатной температуре (22°C). После двукратной промывки фосфатным буфером с сахарозой образцы дофиксировали 2% раствором OsO₄ в течение 2 ч при комнатной температуре. После отмычки указанным выше буфером образцы обезвоживали в серии растворов этилового спирта восходящей концентрации. Перед помещением в 96% спирт образцы выдерживали в 70% спиртовом растворе уранилацетата в течение 12 ч при температуре 4°C. Затем образцы отмывали от уранилацетата и продолжали обезвоживание 100% спиртом и чистым ацетоном в три смены по 15 мин каждая. Далее образцы пропитывали смолой в серии растворов эпона в ацетоне возрастающих концентраций и заливали в чистый эпоно. Полимеризацию проводили в термостате при температуре 37°C (24 ч), 60°C (48 ч).

Ультратонкие срезы (толщиной 90–100 нм) получали на приборе EM UC26 (“Leica”, Wetzlar, Германия). Их ультраструктурный анализ проводили в электронном микроскопе Tecnai 12 (“FEI, Philips”, Чехия).

Молекулярно-генетическая идентификация штамма. Для идентификации выделенного штамма выделяли геномную ДНК, используя набор реактивов AxyPrep Multisource Genomic DNA Miniprep Kit (“Corning”, США). Для амплификации участка гена 16S рРНК (около 1500 п.н.) применяли праймеры fD1 (5'-AGAGTTTGGATCCTGGCTCAG-3') и rD1 (5'-CTTAAGGAGGTGATCCAGCC-3'). ПЦР проводили в амплификаторе C1000™ Thermal Cycler (“BioRad”, США) в течение 36 циклов. Выделенную ДНК визуализировали с помощью электрофореза в 1%-ном агарозном геле с использованием маркера Lambda DNA/HindIII (“Fermentas”, США) для оценки размера фрагментов и количества ДНК. Определение нуклеотидной последовательности ПЦР-продукта проводили на генетическом анализаторе ABI 3500 × 1 (“Applied Biosystems”, США). Поиск гомологичных последовательностей проводили с помощью базы данных GenBank NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) и программы BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Для конструирования филогенетических деревьев использовали программу MEGA 6.0 и метод

Neighbor-Joining. Эволюционные расстояния рассчитаны с использованием модели Maximum Composite Likelihood. Статистическую достоверность кластеров оценивали с помощью бутстреп-анализа (1000 реплик).

Полногеномное секвенирование и аннотирование генома. Геномную ДНК выделяли фенол-хлороформным методом. Полногеномное секвенирование осуществлено на платформе Illumina MiSeq, с использованием наборов Nextera DNA Library Preparation Kit и MiSeq Reagent Kits v3. Мономолекулярное нанопоровое секвенирование ДНК осуществлено на платформе MinION, согласно рекомендациям производителя, с использованием набора для быстрого баркодирования (RBK004) и проточной ячейки MinION (R9.4.1). Программное обеспечение для проведения секвенирования — MinKNOW v18.05.5 (время — 48 ч, 180 мВ), демультиплексирование — с помощью программы Guppy v6.0.1. Гибридную сборку генома без предварительного треммирования прочтений осуществили с помощью программы Unicycler v0.4.7.

Приготовление суспензии и экстрактов штамма. Для определения биологической активности и при изучении продукции вторичных метаболитов исследуемый штамм выращивали в жидкой крахмально-казеиновой среде в течение 72 ч при 28°C и непрерывном перемешивании на шейкере (120 об./мин) (Гаузе и соавт., 1983). Суспензия исследуемого штамма представляла собой однородную жидкость светло-желтого цвета со специфическим “землистым” запахом (концентрация клеток 10^9 КОЕ/мл).

Метанольный и водно-спиртовой экстракты готовили из сухой биомассы исследуемого штамма *S. carpaticus* RCAM04697 с титром клеток 10^9 КОЕ/мл, полученной путем высушивания в ротационном испарителе (IKA RV 10 digital). Сухую биомассу штамма заливали метанолом или раствором дистиллированной воды и этанола (20 : 80; 50 : 50; 80 : 20) в соотношении 1 мг/мл на 40 мин. После центрифугирования, удаления осадка, высушивания жидкости в ротационном вакуумном испарителе при температуре от 60 до 70°C, досушивания в сушильном шкафу (ШС-80-01 СПУ) при температуре 37°C в течение 3 сут до постоянной массы получали сухой экстракт.

Для приготовления гексановых экстрактов 250 мл суспензии (концентрация клеток 10^9 КОЕ/мл) штамма экстрагировали 5 мл гексана в течение 3 мин в делительной воронке. Гексановый экстракт высушивали в ротационном испарителе. Экстракты хранили в морозильной камере при температуре –18°C.

Для определения биологической активности использовали высушенную и измельченную массу сухих экстрактов, которую разводили дистиллированной водой до концентраций 1.0 и 0.5 мг/мл.

Определение фитотоксичности. Фитотоксичность суспензии и экстрактов штамма RCAM04697 исследовали методом ингибирования роста корня редиса (*Rarhanus sativus*) сорта Хелро при 20°C в течение 3 сут в двух концентрациях: 0.5 и 1.0 мг/мл.

Создание инфекционного фона для определения противовирусной активности. Искусственное заражение рассады томата проводили на стадии 3–4 настоящих листьев вирусами мозаики томата (ВМТо) и мозаики огурца (ВОМ) путем нанесения на листовые пластинки инокулюмов, полученных путем растирания пестиком инфицированных фитовирусами растений. Проростки картофеля искусственно заражали на стадии 3–4 настоящих листьев Y-вирусом картофеля (YBK) и X-вирусом картофеля (ХВК). Идентифицированные изоляты вирусов (ВОМ, ВМТо, YBK, ХВК) взяты из коллекции филиала ФГБУ “Россельхозцентр” по Астраханской области. Обработку растений томата и картофеля суспензией штамма *S. carpaticus* RCAM04697 с титром 10^9 КОЕ/мл проводили двукратно методом опрыскивания через 7 сут после контаминации возбудителями вирусной инфекции. Интервал времени между обработками составил 5 сут. Контрольные растения опрыскивали водопроводной водой. На 3 сут после второго опрыскивания определяли наличие вирусов в растениях.

Иммунохроматографический метод определения вирусов растений. Присутствие вирусов в растениях томата и картофеля, обработанных суспензией штамма, определяли методом ИХА с помощью иммунострипов (ImmunoStrip Test Kit Flashkits, США), которые состоят из пластины микротитра, пропитанной щелочным ферментом, покрытой с обеих сторон антителами выявляемого возбудителя болезни, и пакета с буфером для экстракции образцов.

Метод ПЦР-диагностики определения вирусов растений. Определение вирусов в растениях проводили также методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов в режиме “реального времени” с использованием микроципового амплификатора нуклеиновых кислот “АриаДНА”. Для этого получали пробы ДНК и РНК из зеленой массы картофеля.

Определение антиоксидантной активности. Изучение антиоксидантной активности и компонентного состава метаболитов суспензии и экстрактов штамма RCAM04697 проводили с концентрацией 1.0 мг/мл. Для определения антиоксидантной активности использовали реакцию со стабильным свободным радикалом ДФПГ.

Исследование антифунгальной активности. Антифунгальные свойства суспензии штамма в лабораторных условиях исследовали с помощью метода лунок на лабораторной культуре фитопатогенного гриба *Fusarium sporotrichioides*, хранящегося в

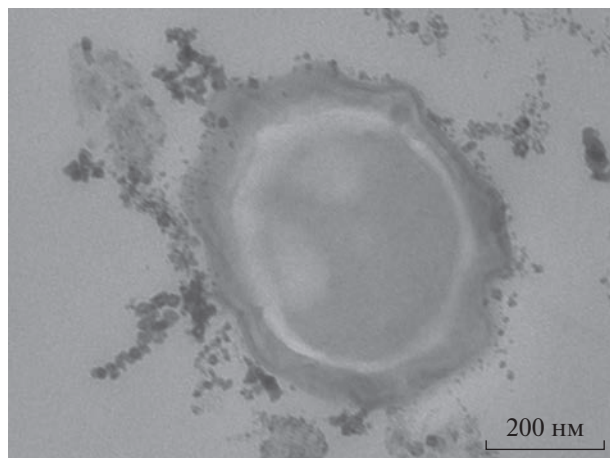


Рис. 1. Ультратонкий срез споры *S. carpaticus* RCAM04697, полученный с помощью трансмиссионного электронного микроскопа (масштабная метка — 0.2 мкм).

научной лаборатории биотехнологий АГУ им. В.Н. Татищева. В лунки помещали суспензию штамма *S. carpaticus* RCAM 04697 в концентрации 10^9 КОЕ/мл, в качестве контроля вносили дистиллированную воду. Опыт проводили в 4-х повторностях.

Исследование инсектицидной активности. Инсектицидную активность штамма в концентрации 10^9 КОЕ/мл определяли в лаборатории филиала ФГБУ “Россельхозцентр” по Астраханской области по методике, основанной на контактном взаимодействии препарата и тест-объекта — бобовой тли *Aphis fabae*. Расчет инсектоакарицидной активности осуществляли по формуле Аббота, % (при сопоставлении с контролем).

Исследование основных групп веществ методом качественных реакций. Определение флавоноидов, алкалоидов, гликозидов и сапонинов культуральной жидкости и экстрактов штамма проводили методом качественных реакций.

Определение органических кислот в водно-спиртовых экстрактах штамма *S. carpaticus* RCAM04697 проводили методом ВЭЖХ с использованием анионообменных колонок и супрессионной системы с кондуктометрическим детектированием. Для определения органических кислот использовали жидкостной хроматограф Waters — Alliance 2695 с диодно-матричным детектором Waters 2996 при длине волны 220 нм.

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

tra. Использовали неполярную колонку МТХ (1.30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм); газ-носитель — гелий. Масс-спектры снимали в режиме сканирования по полному диапазону масс (30–1090 m/z) в программном режиме температур (35°C — 3 мин, 2°C/мин до 60°C — 3 мин, 2°C/мин до 80°C — 3 мин, 4°C/мин до 120°C — 3 мин, 5°C/мин до 150°C — 3 мин, 15°C/мин до 240°C — 10 мин) с последующей пошаговой обработкой хроматограмм. Идентификацию обнаруженных НОС проводили с использованием библиотек масс-спектров “NIST-2014” и “Wiley”. Количественный анализ выполняли, используя декафторбензофенон и бензофенон в качестве внутренних стандартов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Морфолого-культуральные и физиолого-биохимические свойства

Штамм *S. carpaticus* К-11 RCAM04697 характеризуется следующими культурально-морфологическими свойствами. На крахмально-казеиновой среде колонии круглые, слабоскладчатые, с мучнистой поверхностью ($d = 4$ мм). Воздушный мицелий темно-коричневого цвета, субстратный — вишнево-красного цвета. Пигмент на среду не влияет. Пигменты, как продукты вторичного метаболизма, являются важной биохимической характеристикой актинобактерий (Гаузе и соавт., 1983). Оптимальная температура роста 28°C. Оптимальное значение pH 7.0–7.1. Споры прямые или извитые, короткие. Как видно на электронных микрофотографиях, споры овальные и шаровидные с плотной оболочкой, размером $0.5–1.0 \times 1.0–1.1$ мкм (рис. 1).

Исследование физиолого-биохимических признаков показало, что штамм не выделяет сероводород; использует органический азот (пептон); восстанавливает нитраты в нитриты; развивается на среде с мальтозой, глюкозой, фруктозой, лактозой, сахарозой, маннитом; не растет на средах с ксилитом, арабинозой, раффинозой, ионозитом.

Штамм депонирован в ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ФГБНУ “Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии”, г. Пушкин) под номером RCAM04697 и в государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур “ГКПМ-Оболensk” (ФБУН “Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии”) под номером SCPM-O-B-9993.

Для хранения штамма используется метод периодических пересевов (4–6 раз в год) на крахмально-казеиновой среде.

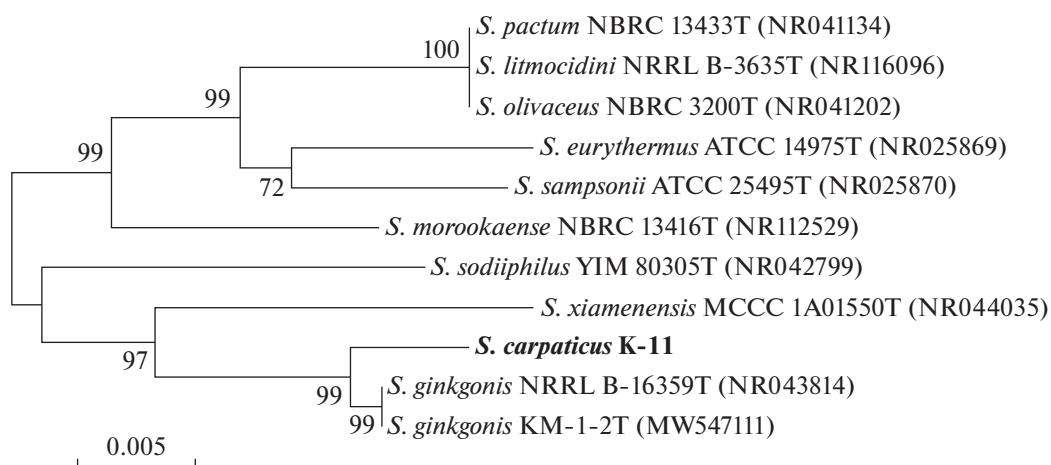


Рис. 2. *Rrs*-филограмма, отражающая таксономическое положение штамма К-11 в пределах рода *Streptomyces*. Полу-жирным шрифтом выделен изученный в данной работе штамм; литерой “Т” отмечены типовые штаммы; указаны уровни поддержки кластеров (более 30%).

Генотипическая характеристика. Анализ гена *16S rRNA*

С помощью метода секвенирования обнаружено, что фрагмент *rrs* гена штамма К-11 имеет уровень сходства 100% с аналогичным фрагментом типового штамма *Streptomyces carpaticus*, что позволяет отнести изучаемый штамм к данному виду (рис. 2).

Штамм К-11 сформировал единый кластер с типовым штаммом *S. ginkgonis* KM-1-2T при высоком уровне поддержки 99%.

Результаты полногеномного секвенирования

В результате полногеномного секвенирования на платформе Illumina MiSeq получено 916371 коротких прочтений (533 148 207 п.н.), на платформе MinION – 103 371 (24 766 704 п.н.). Впервые в базе данных NCBI GenBank задепонирована полногеномная последовательность штамма *Streptomyces carpaticus* под номером CP104005.1 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/CP104005.1>). Аннотация осуществлена в NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (PGAP) GeneMarkS-2+ (revision 6.2). Финальная сборка генома состояла из одной линейной хромосомы размером 5968715 п.н. (G + C) состав – 72.84%. В процессе аннотации и анализа генома было определено 5206 последовательности, кодирующие белки, 60 последовательностей тРНК, 15 – рРНК (5 – 5S, 5 – 16S, 5 – 23S) и 8 CRISPR-локусов.

Биологическая активность штамма *S. carpaticus* RCAM04697

Суспензию и экстракты штамма *S. carpaticus* RCAM04697 исследовали на биологическую ак-

тивность: фитотоксическую, антифунгальную, противовирусную, антиоксидантную и инсектицидную.

Фитотоксичность штамма. Штамм *S. carpaticus* RCAM04697 не оказал токсического действия на растения. Выявлено, что с обработкой всеми экстрактами при концентрации 0.5 мг/мл, в отличие от концентрации 1 мг/мл, наблюдалось увеличение всхожести семян редиса, что говорит о повышении ингибирующего эффекта при увеличении концентрации изучаемых образцов (табл. 1).

Наиболее высокие биометрические показатели растений, характеризующиеся длиной корня, выявлены в гексановом экстракте штамма *S. carpaticus* RCAM04697 2.67–2.82 см, превышающем контроль на 2.55 и 2.53 см – 2.38 и 2.40 см, и водно-спиртовом экстракте 80 : 20 в концентрации 0.5 мг/мл – 2.44 см, превышающем контроль на 2.15–2.17 см. Проявление высокой фитостимулирующей активности у гексановых экстрактов может быть связано с присутствием соединений стероидной природы, которые обладают высокой биологической активностью. В основном в литературе встречаются сведения о защитных свойствах стрептомицетов, используемых для борьбы с фитопатогенами (Pacios-Michelena et al., 2021). Но стрептомицеты также играют важнейшую роль в создании почвенного плодородия и оптимизации условий произрастания растений, что проявляется в стимуляции их роста, развития и увеличении урожайности в 2–2.5 раза (Бурцева и соавт., 2014; Чулуун и соавт., 2014; Pylro et al., 2019).

Противовирусная активность. После искусственного заражения растений вирусами и опрыскивания суспензией штамма определяли количество бессимптомных растений. Обнаружено, что суспензия исследуемого штамма проявляет про-

Таблица 1. Влияние штамма *S. carpaticus* RCAM04697 на биометрические характеристики редиса

Вариант	Средняя всхожесть, %		Средняя длина корня, см	
	0.5	1.0	0.5	1.0
Концентрация, мг/мл				
Гексановый экстракт	90.1 ± 1.21	87.5 ± 0.25	2.82 ± 0.22	2.67 ± 1.21
Метанольный экстракт	59.2 ± 0.20	57.0 ± 0.11	0.41 ± 1.14	0.31 ± 0.14
Водно-спиртовой экстракт (20 : 80)	75.7 ± 0.61	70.8 ± 0.34	1.85 ± 0.23	0.33 ± 0.62
Водно-спиртовой экстракт (50 : 50)	74.1 ± 2.30	73.8 ± 1.31	1.39 ± 0.25	1.15 ± 0.85
Водно-спиртовой экстракт (80 : 20)	86.6 ± 2.11	84.1 ± 1.21	2.44 ± 0.36	0.98 ± 0.92
Культуральная жидкость	75.5 ± 1.54		1.78 ± 1.14	
Контроль № 1	42.1 ± 0.22		0.27 ± 1.32	
Контроль № 2	44.4 ± 1.63		0.29 ± 2.10	

Таблица 2. Противовирусная активность суспензии штамма *S. carpaticus* RCAM04697 в лабораторных условиях

Вариант эксперимента	Количество инокулированных растений, шт.	Количество растений без симптомов	
		шт.	%
Томаты			
Контроль при инокуляции ВОМ	80	2	2.5
Контроль при инокуляции ВМТо	80	4	5.0
<i>S. carpaticus</i> RCAM04697			
Бактеризация суспензией штамма растений после инокуляции ВОМ	80	32	40.0
Бактеризация суспензией штамма растений после инокуляции ВМТо	80	26	32.5
Картофель			
Контроль при инокуляции УВК	80	3	3.8
Контроль при инокуляции ХВК	80	2	2.5
<i>S. carpaticus</i> RCAM04697			
Бактеризация суспензией штамма растений после инокуляции УВК	80	41	51.3
Бактеризация суспензией штамма растений после инокуляции ХВК	80	33	41.3

тивовирусную активность в отношении ВОМ, ВМТо, УВК и ХВК (табл. 2).

При бактеризации томатов, зараженных ВОМ, суспензией штамма количество бессимптомных растений составило 40.0%, зараженных ВМТо — 32.5%, в то время как в контроле это количество было 2.5 и 5.0% соответственно. Изучение противовирусной активности штамма на картофеле методами иммунострипов и ПЦР-диагностики показало количество бессимптомных растений, зараженных УВК — 51.3%, зараженных ХВК — 41.3%. В литературе редко встречается информация о проявлении активности микроорганизмов в отношении вирусов растений. Известен штамм *Streptomyces chrysomallus* P-21 с фиторегуляторной активностью, который проявлял свойства против вируса мозаики костра на ячмене (патент № 2226214).

Таким образом, лабораторные опыты по изучению противовирусных свойств исследуемого

штамма свидетельствует о подавлении развития вирусных патогенов ВОМ, ВМТо, УВК, ХВК.

Антиоксидантная, антифунгальная, инсектицидная активности. Антиоксиданты — вещества, которые задерживают, предотвращают или ингибируют окислительное повреждение молекул. Физиологическая роль антиоксидантов заключается в предотвращении повреждения клеточных компонентов в результате химических реакций, в которых участвуют свободные радикалы. Суспензия и экстракты штамма обладали антиоксидантной активностью, которая варьировала от 35.2% (водно-спиртовой экстракт 80 : 20) до 88.8% (суспензия штамма *S. carpaticus* RCAM04697), что существенно выше контроля (аскорбиновой кислоты) — 12.5%. Наибольшую антиоксидантную активность проявила суспензия штамма *S. carpaticus* RCAM04697 — 88.8%. Среди трех разных вариантов водно-спиртовых экстрактов достаточно высокий процент отме-

Таблица 3. Биологическая активность штамма *S. carpaticus* RCAM04697

Вариант опыта	Антифунгальная активность, ДЗЗР* <i>F. sporotrichioides</i> , мм	Инсектицидная активность, % относ. <i>A. fabae</i> через 6 ч обработки	Антиоксидантная активность, %
Гексановый экстракт	25.3 ± 1.24	100.0	37.2 ± 0.15
Метанольный экстракт	17.4 ± 3.20	100.0	56.1 ± 0.18
Водно-спиртовой экстракт (20 : 80)	28.1 ± 0.23	72.5	76.0 ± 0.08
Водно-спиртовой экстракт (50 : 50)	17.5 ± 1.12	100.0	63.5 ± 0.05
Водно-спиртовой экстракт (80 : 20)	14.2 ± 2.14	100.0	35.2 ± 0.12
Суспензия	31.4 ± 1.11	100.0	88.8 ± 0.09
Контроль	0	0	12.5 ± 0.07

* ДЗЗР — диаметр зоны задержки роста микромицета.

чен в модификации 20 : 80 штамма *S. carpaticus* RCAM04697 — 76.0%.

Суспензия и все экстракты штамма *S. carpaticus* RCAM04697 в различной степени ингибировали рост фитопатогенного гриба *F. sporotrichioides*. Наибольшее антагонистическое действие оказала суспензия и водно-спиртовой экстракт (20 : 80) с ДЗЗР гриба 31.4 и 28.1 мм соответственно (табл. 3). Микроскопирование показало лизис мицелия. Стрептомицеты широко известны своей антифунгальной активностью, например, против листовой и стеблевой ржавчины пшеницы, листовой ржавчины и септориоза ячменя, корневой гнили овса и др. (Широких и соавт., 2020). Присутствие у стрептомицетов первичных метаболитов — хитиназ, определяет ингибирование ими роста грибов путем разрушения клеточной стенки. Увеличение количества клеток, снижение разнообразия почвенного прокариотического комплекса с одновременным снижением количества грибов связано с развитием селективной группы гидролитического комплекса хитин-деградирующих микроорганизмов (Manucharova et al., 2016).

Инсектицидная активность в отношении бобовой тли *A. fabae* через 6 ч обработки составила 100% в вариантах: суспензия, водно-спиртовый (80 : 20, 50 : 50), метанольный и гексановый экстракты. Полученные данные свидетельствуют о том, что штамм *S. carpaticus* RCAM04697 способен к синтезу метаболитов с инсектицидной активностью (Григорян и соавт., 2020).

Таким образом, исследование показало, что суспензия и экстракты штамма *S. carpaticus* RCAM04697 обладали выраженной антиоксидантной, антифунгальной, инсектицидной активностью, ингибировали развитие фитопатогенного гриба *F. sporotrichioides* и бобовой тли *A. fabae*.

Компонентный состав вторичных метаболитов штамма

В экстрактах и суспензии штамма *S. carpaticus* RCAM04697 исследовали присутствие гликозидов, сапонинов, алкалоидов, флавоноидов. В составе метаболитов обнаружены флавоноиды, алкалоиды и гликозиды. Наличие флавоноидов установлено во всех исследуемых образцах, за исключением гексанового экстракта. Флавоноиды являются эффективными противомикробными агентами против широкого спектра микроорганизмов: бактерий, грибов, водорослей, а также обладают антиоксидантными свойствами (Karak, 2019). Алкалоиды присутствовали в гексановом и водно-спиртовом (20 : 80) экстрактах. Алкалоиды представляют собой большую и структурно разнообразную группу соединений, которые известны своей способностью усиливать действие антибиотиков. Изучено влияние алкалоидов на системы регуляции генов вирулентности. Например, синтетический изохинолиновый алкалоид вирстатин ингибировал регулятор транскрипции ToxT у *Vibrio cholerae*, предотвращая экспрессию холерного токсина и фимбрий и обеспечивая *in vivo* защиту от кишечной колонизации (Cushnie et al., 2014). Гликозиды выявлены во всех изучаемых пробах, за исключением гексанового и метанольного экстрактов штамма. Гликозиды характеризуются высокой фунгицидной и ростстимулирующей активностью (Толкачева и соавт., 2014). Результаты качественных реакций свидетельствуют об отсутствии сапонинов во всех исследуемых образцах.

Методом ВЭЖХ обнаружено наличие шести органических кислот в водно-спиртовых экстрактах штамма (табл. 4). Уксусная и фумаровая кислоты выявлены во всех экстрактах. Уксусная кислота в наибольшем количестве содержалась в водно-спиртовом экстракте (50 : 50) — 21.277 г/л. Широко известны антибактериальные, антифунгальные и противовирусные свойства уксусной кислоты (Zinn, Bockmühl, 2020). Фумаровая кис-

Таблица 4. Органические кислоты водно-спиртовых экстрактов штамма *S. carpaticus* RCAM04697

Тривиальное название	Название по ИЮПАК	Содержание, г/л		
		20 : 80	80 : 20	50 : 50
Изолимонная кислота	1-Гидрокси-1,2,3-пропантрикарбоновая кислота	—	0.484	—
Уксусная кислота	Этановая кислота	20.395	19.443	21.277
Фумаровая кислота	Транс-бутендиовая кислота	0.004	0.004	0.004
Молочная кислота	2-Гидроксипропановая кислота	0.270	—	—
Пировиноградная кислота	2-Оксопропановая кислота	—	0.082	—
Яблочная кислота	2-Гидроксипропановая кислота	0.063	—	0.009

лота обнаружена в концентрации 0.004 г/л во всех экстрактах. Она обладает антиоксидантным и бактериостатическим эффектом. Обработка пищевой продукции фумаровой кислотой приводила к снижению общего количества мезофильных и психротрофных бактерий, бактерий, продуцирующих H_2S , и *Pseudomonas* spp. (Remya et al., 2022). Изолимонная кислота с содержанием 0.484 г/л обнаружена в водно-спиртовом экстракте (80 : 20), в котором также установлено присутствие пировиноградной кислоты (0.082 г/л). Молочная кислота, известная противомикробными свойствами, зафиксирована в водно-спиртовом экстракте (20 : 80) в количестве 0.270 г/л. Яблочная кислота присутствовала в двух образцах: водно-спиртовой экстракт (20 : 80) с содержанием 0.063 г/л и водно-спиртовой экстракт (50 : 50) с содержанием 0.009 г/л. Обнаруженные органические кислоты обладают мощными антиоксидантными и противомикробными свойствами (Рыжкова и соавт., 2018).

ГХ/МС-анализ показал наличие в составе вторичных метаболитов — спиртов, альдегидов, углеводов, эфиров, серосодержащих соединений и других групп низкомолекулярных органических соединений (НОС) (табл. 5) (Батаева и соавт., 2021). При всех вариантах экстракции в составе НОС преобладали спирты и эфиры. Доминирующими соединениями в суспензии, в гексановом и водно-спиртовом экстракте были 3-бутенилпентилового эфира и 2-метилпентан-2,4-диол (1,2-гександиол). Их содержание в суспензии составило 32.17 и 23.20%, в гексановом экстракте — 19.49 и 20.69% и в водно-спиртовом экстракте — 15.59 и 18.91% соответственно.

В метанольном экстракте преобладал 5-(пиридин-4-ил)-1Н-пиразол-3-карбоксилат (57.8% от суммарного содержания НОС). По данным Katochi и соавт. (2018) вещества, содержащие пиразол, характеризуются противовирусными, противомикробными и противоопухолевыми свойствами. 1,2-Гександиол обладает широким антимикробным спектром действия, нарушает потенциал цитоплазматической мембраны и эффективен против как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий.

Возможные биологические активности 3-бутенилпентилового эфира не изучены. Хорошим решением исследования его потенциальных свойств мог бы стать метод QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship), позволивший, в частности, выявить наиболее перспективные метаболиты высших водных растений, обладающих противовоспалительной, антифунгальной и антибактериальной активностями (Kurashov et al., 2016).

Таким образом, изучен синтез штаммом *S. carpaticus* RCAM04697 химических соединений различных групп: флавоноидов, алкалоидов, гликозидов, спиртов, альдегидов, углеводов, эфиров, серосодержащих соединений; органических кислот (изолимонная, уксусная, фумаровая, молочная, пировиноградная, яблочная); 3-бутенилпентилового эфира, 1,2-гександиола, 5-(пиридин-4-ил)-1Н-пиразол-3-карбоксилата. Высокие противомикробные свойства органических кислот биологического происхождения хорошо известны, и они рассматриваются как перспективные соединения для защиты семян, кормов и растений (Рыжкова, 2018).

В биологической борьбе с фитопатогенами стрептомицеты играют регуляторную роль. Одновременный биосинтез вторичных метаболитов широкого спектра действия, по-видимому, определяет стратегию их воздействия на другие организмы и способность к высоким адаптационным возможностям и высокой конкурентоспособности в различных экологических нишах.

Штамм был запатентован в Российской Федерации в качестве средства для защиты от насекомых-вредителей, грибных, вирусных болезней и стимуляции роста томатов (патент РФ № 2695157).

Проведенные исследования показали, что бактерии рода *Streptomyces* являются богатым источником комплексных метаболитов, проявляющих высокую биологическую активность, и могут служить основой для разработки полифункциональных биопрепаратов для растениеводства с фитостимулирующими, противовирусными, ан-

тифунгальными, антиоксидантными и инсектицидными свойствами.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках реализации проекта “Разработка экологически безопасного средства защиты растений на основе почвенных актинобактерий для восстановления агроэкосистем” по Программе развития Астраханского государственного университета им. В.Н. Татищева на 2021–2030 гг. (“Приоритет 2030”), а также в рамках исследований, проводимых по теме № 0154-2019-0002 ИНОЗ РАН – СПб ФИЦ РАН.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

В настоящей статье отсутствует конфликт интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Анисимова О.С. *Streptomyces loidensis* и *Streptomyces herbaricolor*: биологическое обоснование использования вторичных метаболитов для создания новых инсекто-акарицидных биопрепаратов. Автореферат дис. ... канд. биол. наук, 24.07.2008. Санкт-Петербург: Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, 2008. 19 с.
- Батаева Ю.В., Григорян Л.Н., Курашов Е.А., Крылова Ю.В., Федорова Е.В., Явид Е.Я., Ходонович В.В., Яковлева Л.В. Изучение метаболитов *Streptomyces carpatensis* RCAM04697 для создания экологически безопасных средств защиты растений // Теоретическая и прикладная экология. 2021. № 3. С. 172–178. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2021-3-172-178>
- Бурцева С.А., Пойрас Н.А., Бырса М.Н., Пойрас Л.Н. Эффект предпосевной обработки семян томатов метаболитами стрептомицетов почв Молдовы // Материалы II Всеросс. научно-практ. конф. с межд. участием “Биоразнообразие и рациональное использование природных ресурсов”. Махачкала, 2014. С. 213–216.
- Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. Роды *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Chainia*. М.: Наука, 1983. 248 с.
- Григорян Л.Н., Батаева Ю.В., Шляхов В.А. Влияние штамма бактерий *Streptomyces carpatensis* RCAM04697 на фитостимуляцию, фитовирусы томата и насекомых-вредителей в лабораторных условиях // Естественные и технические науки. 2020. № 6(144). С. 58–61.
- Домрачева Л.И., Скугорева С.Г., Стариков П.А., Горностаева Е.А., Ашихмина Т.Я. Микробы-антагонисты против фитопатогенных бактерий и грибов (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2022. № 2. С. 6–14.
- Domracheva L.I., Skugoreva S.G., Starikov P.A., Gornostayeva E.A., Ashikhmina T.Ya. Microbes-antagonists against of phytopathogenic bacteria and fungi (review) // Theoretical and Applied Ecology. 2022. № 2. P. 6–14. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2022-2-006-014>
- Егорова А.М., Тарчевский И.А. Праймин-сигнальная функция антибиотиков, продуцируемых стрептомицетами // Экобиотех. 2019. Т. 2. № 4. С. 504–509. <https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-4-504-509>
- Методы общей бактериологии / Под ред. Герхардт Ф.М. М.: Мир, 1984. Т. 1–3.
- Патент РФ № 2156301. 2000. Штамм актиномицета *Streptomyces avermitilis* ССМ 4697 – продуцент авермектинов.
- Патент РФ № 2226214. 2004. Штамм актиномицета *Streptomyces chrysomallus* P-21 для получения биопрепарата полифункционального действия.
- Патент РФ № 2243259. 2002. Штамм актиномицета *Streptomyces hygroscopicus* subsp. ЦКМ В-4561, обладающий фунгицидными, бактерицидными и инсектицидными свойствами.
- Патент РФ № 2695157. 2019. Штамм *Streptomyces carpatensis* для защиты от насекомых-вредителей, грибных, вирусных болезней и стимуляции роста томатов.
- Поляк Ю.М., Сухаревич В.И. Выделение почвенных стрептомицетов – продуцентов комплексных антибиотиков // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2017. Т. 13. С. 18–24.
- Рыжкова Е.П., Данилова И.В., Шамрайчук И.Л., Кураков А.В., Непрусов А.И. Антифунгальная активность штамма *Propionibacterium freudenreichii* представителя рода *Lactobacillus* // Микология и фитопатология. 2018. Т. 52. С. 144–149.
- Ryzhkova E.P., Danilova I.V., Shamraichuk I.L., Kurakov A.V., Netrusov A.I. Antifungal activity of *Propionibacterium freudenreichii* and several *Lactobacillus* species // Mycology and Phytopathology. 2018. V. 52. P. 144–149.
- Толкачева Н.В., Комаровская-Порохнявец Е.З., Новиков В.П. Биологическая активность стероидных гликозидов, выделенных из луковиц *Allium cyrillii* ten. (Alliaceae) // Фармация и фармакология. 2014. № 6(7). С. 29–32.
- Tolkachova N.V., Komarovskaya-Porokhnyavets E.Z., Novikov V.P. Biological activity of steroid glycosides from bulbs of *Allium cyrillii* ten. (Alliaceae) // Pharmacy and Pharmacology. 2014. № 6(7). P. 29–32. [https://doi.org/10.19163/2307-9266-2014-2-6\(7\)-29-32](https://doi.org/10.19163/2307-9266-2014-2-6(7)-29-32)
- Чулуун Б., Сапармырадов А., Алимова Ф.К., Миндубаев А.З. Сравнение показателей фитотоксичности, фунгицидной и бактерицидной активности стрептомицетов из различных местообитаний // Бултеровские сообщения. 2014. Т. 38. № 6. С. 147–152.
- Широких И.Г., Бакулина А.В., Назарова Я.И., Широких А.А., Козлова Л.М. Влияние *Streptomyces castelarensis* A4 на заболеваемость и урожайность зерновых культур полевого севооборота // Микология и фитопатология. 2020. Т. 54. С. 59–66.
- Shirokikh I.G., Bakulina A.V., Nazarova Ya.I., Shirokikh A.A., Kozlova L.M. The influence of *Streptomyces castelarensis* A4 on the incidence and yield of grain crops of field crop rotation // Mycology and Phytopathology. 2020. V. 54. P. 59–66. <https://doi.org/10.31857/S0026364820010080>

- Cho J.Y., Kim M.S. Antibacterial benzaldehydes produced by seaweed-derived *Streptomyces atrovirens* PK288-21 // Fisheries Science. 2012. V. 78. P. 1065–1073. <https://doi.org/10.1007/s12562-012-0531-3>
- Cushnie T., Cushnie B., Lamb A.J. Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities // Int. J. Antimicrob. Agents. 2014. V. 44. P. 377–386. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001>
- Grigoryan L.N., Bataeva Y.V., Andreeva E.D., Zakar'yeva D.Kh., Turaeva Z.O., Antonova S.V. Study of the component structure of the metabolites of bacteria *Nocardiosis umidischolae* in the search for eco-friendly plant protection agents // Russ. J. Gen. Chem. 2020. V. 90. P. 2531–2541. <https://doi.org/10.1134/S1070363220130010>
- Karak P. Biological activities of flavonoids: an overview // Int. J. Pharm. Sci. Res. 2019. V. 10. P. 1567–1574. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10\(4\).1567-74](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10(4).1567-74)
- Karrouchi K., Radi S., Ramli Y., Taoufik J., Mabkhot Y.N., Al-aizari F.A. Synthesis and pharmacological activities of pyrazole derivatives // Molecules. 2018. V. 23. Art. 134. P. 1–85. <https://doi.org/10.3390/molecules23010134>
- Korkmaz M.O., Erturk D. Gurel insecticidal activity of some strains of streptomycetes isolated from the soil against larvae and adults of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) // Turkey: Bitki Koruma Bul. 2015. V. 55. P. 73–84. <https://doi.org/10.3923/jm.2017.218.228>
- Kurashov E.A., Fedorova E.V., Krylova J.V., Mitrukova G.G. Assessment of the potential biological activity of low molecular weight metabolites of freshwater macrophytes with QSAR // Scientifica. 2016. V. 2016. Art. 1205680. <https://doi.org/10.1155/2016/1205680>
- Manucharova N.A., Trosheva E.V., Kol'tsova E.M., Demkina E.V., Karaevskaya E.V., Rivkina E.M., Mardanov A.V., El'-Registan G.I. Characterization of the structure of the prokaryotic complex of antarctic permafrost by molecular genetic techniques // Microbiology (Moscow). 2016. V. 85. P. 102–108. <https://doi.org/10.7868/S0026365616010055>
- Pacios-Michelen S., Aguilar González C.N., Alvarez-Perez O.B., Rodriguez-Herrera R., Chávez-González M., Arredondo Valdés R., Ascacio Valdés J.A., Govea Salas M., Ilyina A. Application of *Streptomyces* antimicrobial compounds for the control of phytopathogens // Front. Sustain. Food Syst. 2021. V. 5. Art. 696518. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.696518>
- Pylro V.S., Dias A.C.F., Andreote C.C.F., Andreote F.D., Melo D.E., Varani A., Figueiredo D.E., Ribeiro I.A., Kitano I.T., Almeida D.E., Bernardo E.R. Draft genomic sequences of *Streptomyces misionensis* ACT66 and *Streptomyces albidoflavus* act77, bacteria with potential application for phytopathogen biocontrol // Microbiol. Resour. Announc. 2019. V. 8. № 36. P. 118–125. <https://doi.org/10.1128/MRA.00949-19>
- Remya S., Sivaraman G.K., Joseph T.C., Parmar E., Sreelakshmi K.R., Mohan C.O., Ravishankar C.N. Influence of corn starch based bio-active edible coating containing fumaric acid on the lipid quality and microbial shelf life of silver pomfret fish steaks stored at 4°C // J. Food Sci. Technol. 2022. V. 59. P. 3387–3398. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05322-y>
- Řezanka T., Spížek Přikrylová J., Prell A., Dembitsky V.M. Five new derivatives of nonactic and homo-nonactic acids from *Streptomyces globisporus* // Tetrahedron. 2004. V. 60. P. 4781–4787. <https://doi.org/10.1016/J.TET.2004.04.006>
- Zinn M.-K., Bockmühl D. Did granny know best? Evaluating the antibacterial, antifungal and antiviral efficacy of acetic acid for home care procedures // BMC Microbiology. 2020. V. 20. Art. 265. P. 1–9.

Biological Activity and Composition of Metabolites of Potential Agricultural Application from *Streptomyces carpaticus* K-11 RCAM04697 (SCPM-O-B-9993)

Yu. V. Bataeva^{1, *}, L. N. Grigoryan¹, A. G. Bogun², A. A. Kislichkina², M. E. Platonov², E. A. Kurashov³, J. V. Krylova⁴, A. G. Fedorenko⁵, and M. P. Andreeva¹

¹Tatishchev Astrakhan State University, Astrakhan, 414056 Russia

²State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Rospotrebnadzor, Obolensk, 142279 Russia

³Institute of Limnology, a Separate Subdivision of the St. Petersburg Federal Research Center, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, 196105 Russia

⁴Saint-Petersburg Branch of the All-Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography (L.S. Berg GosNIORKh), Saint-Petersburg, 199004 Russia

⁵Southern Federal University, Rostov-on-Don, 344006 Russia

*e-mail: aveatab@mail.ru

Received November 2, 2022; revised November 28, 2022; accepted January 10, 2023

Abstract—Strain K-11 was isolated from the highly saline brown semi-desert soil of the Astrakhan region. Based on analysis of the 16S rRNA gene sequence, this strain was identified as *Streptomyces carpaticus* K-11 RCAM04697 (SCPM-O-B-9993). Whole genome sequencing of the strain was performed. Phytotoxicity, antiviral, antioxidant, antifungal, and insecticidal activities of the strain were studied. All extracts and suspensions of *S. carpaticus* strain RCAM04697 had plant-stimulating activity. Antiviral properties was exhibited as suppression of development and propagation of viral pathogens in laboratory conditions: *Tomato Mosaic Virus* (ToMV) – 26.3%, *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) – 33.8%, *Y-Potato Virus* (YVK) (*Potato Y potyvirus*, PVY) – 51.3%, *Potato X-Virus* (PVX) (*Potato X potyvirus*, PVX) – 41.3%. The highest antioxidant activity was shown by a suspension of *S. carpaticus* strain RCAM04697 (88.8%) and its aqueous-alcoholic (20 : 80) extract

(76.0%). The strain inhibited growth of the phytopathogenic fungus *Fusarium sporotrichioides* to varying degrees. The insecticidal activity against *Aphis fabae* after 6 h of treatment was 100% in the variants with suspension treatment, water-alcohol (80 : 20, 50 : 50), methanol, and hexane extracts. The metabolites of the *S. carpaticus* RCAM04697 strain included flavonoids, alkaloids, glycosides, organic acids (isocitric, acetic, fumaric, lactic, pyruvic, and malic), alcohols, aldehydes, hydrocarbons, ethers, sulfur-containing compounds, and other groups of low-molecular weight organic compounds.

Keywords: streptomycetes, *Streptomyces*, actinobacteria, antioxidant activity, antifungal activity, antiviral activity, metabolites, extract, mass spectrometry