

# ПОИСК ГЕНОВ НЕРИБОСОМАЛЬНЫХ ПЕПТИДСИНТЕТАЗ В КУЛЬТУРАХ ПОЧВЕННЫХ БАЦИЛЛ — КАК СПОСОБ ПРОГНОЗА БИОФУНГИЦИДНОСТИ ШТАММОВ

**Васильченко Никита Геннадьевич**

М.н.с., Академия биологии и биотехнологии им.  
Д.И. Ивановского, Южного федерального университета;  
с.н.с., Концерн «Покровский», г. Ростов-на-Дону  
nvasilchenko@sfedu.ru

## SEARCH FOR NONRIBOSOMAL PEPTIDESYNTHETASE GENES IN CULTURES OF SOIL BACILLI — AS A WAY TO PREDICT THE BIOFUNGICIDAL ACTIVITY OF STRAINS

**N. Vasilchenko**

*Summary.* The article provides the results on the study of the nonribosomal peptidases genes spectrum in aerobic spore-forming bacteria of the genera *Bacillus* and *Paenibacillus*. The gene spectrum of nonribosomal peptidases was analyzed in strains with different levels of antagonistic activity against *Fusarium* fungi, one of the main pathogens of cereal crops. The study revealed that strains with a higher level of antagonism had at least two genes of different operons of nonribosomal peptidases each, while strains without strong antagonistic properties had only one gene each. The data obtained can be used to develop a method for the rapid search for strains with biofungicidal activity.

*Keywords:* aerobic spore-forming bacteria, *Fusarium*, NRPS, biofungicides, antagonism.

*Аннотация.* В статье представлены результаты по изучению спектра генов нерибосомальных пептидсинтетаз у аэробных спорообразующих бактерий родов *Bacillus* и *Paenibacillus*. Спектр генов нерибосомальных пептидсинтетаз был проанализирован у штаммов с различным уровнем антагонистической активности в отношении грибов рода *Fusarium* — одного из основных патогенов злаковых культур. В ходе проведенного исследования выявлено, что у штаммов с более высоким уровнем антагонизма было выявлено минимум по два гена различных оперонов нерибосомальных пептидсинтетаз, тогда как у штаммов без выраженных антагонистических свойств лишь по одному. Полученные данные могут быть использованы для разработки метода ускоренного поиска штаммов с биофунгицидной активностью.

*Ключевые слова:* аэробные спорообразующие бактерии, *Fusarium*, НРПС, биофунгициды, антагонизм.

## Введение

**А**эробные спорообразующие бактерии родов *Bacillus* и *Paenibacillus* — чрезвычайно разнообразная группа бактерий, отличающаяся широким спектром активностей, которые обуславливают распространённость данных бактерий в различных средах обитания с сильно отличающимися физико-химическими свойствами.

Множество обнаруживаемых в различных средах обитания представителей *Bacillus* и *Paenibacillus* могут быть легко выделены и культивированы в лабораторных условиях. Так, например, по данным некоторых авторов количество культивируемых бактерий данных родов в почвенных образцах обычно составляет от 103 до 106 клеток на грамм почвы (Mahaffee, Klopper, 1997; Seldin et al., 1998).

Основной средой обитания бактерий рода *Bacillus* является почва и различные части растущих на этих почвах растений. Под почвой, чаще всего понимается поверхностный, плодородный слой земли (Нетрусов, 2004). Помимо почвы, а также растений, бактерии данного рода могут быть обнаружены в различных водных экосистемах (включая, донные отложения), а некоторые виды являются патогенными для насекомых и могут быть высеваны из пораженных насекомых (например, *B. sphaericus*, *B. thuringiensis*, *P. larvae*) (Govindasamy et al., 2011).

Повсеместная распространённость аэробных спорообразующих бактерий р. *Bacillus* и *Paenibacillus*, а также разнообразный профиль, проявляемых ими активностей обуславливают возросший научно-исследовательский интерес к изучению и последующему применению данной группы почвенных микроорганизмов.

Известно множество примеров использования бактерий рода *Bacillus* в качестве биопрепаратов (Сопрунова и др., 2020). Кроме того, спорообразующие бактерии — продуценты разнообразных ферментов. Представители этой группы бактерий широко используются в различных странах мира для промышленной выработки широкого спектра гидролитических ферментов (Кузнецова и др., 2003; Abd-Elhalem et al., 2015).

Данные микроорганизмы применяются в самых разных сферах: растениеводство (Сираева, 2012), животноводство (Алексеев и др., 2015), экологическая очистка загрязнений природных экосистем (Пешков и др., 2015; Сунгурцева и др., 2015) и др.

При этом важно отметить, что огромное значение бактерии данных родов в сфере растениеводства обусловлен спектром активностей, которые присущи этой группе бактерий. Так бактерии родов *Bacillus* и *Paenibacillus* способны обеспечивать доступность элементов минерального питания растений, например путём мобилизации фосфора (Prakash, Arora, 2019), мобилизации калия (Yasin et al., 2016), мобилизации цинка и железа (Hussain et al., 2020); способны стимулировать рост растений за счёт продукции веществ с фитогормональной активностью, таких как: ауксины (Mei et al., 2014), цитокинины (Selvakumar et al., 2018), абсцизовые кислоты (Shin et al., 2019), гибберелиновые кислоты (Radhakrishnan, Lee, 2016), а также способны регулировать уровень этилена в растениях путем продукции фермента 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат (АЦК) деаминазы, который гидролизует предшественник этилена, (АЦК), до аммиака и альфа-кетобутирата (Gupta, Pandey, 2019).

Кроме того, высокий потенциал использования бактерий данной группы в решении сельскохозяйственных проблем обусловлен и их высокой антагонистической активностью в отношении различных фитопатогенных организмов, особо опасными из которых являются фитопатогенные грибы.

Так среди проблем, связанных с фитопатогенными грибами, значительно выделяются грибковые болезни злаковых культур, особенно опасными из которых являются различные фузариозы озимой пшеницы. При благоприятных условиях данная группа грибковых инфекций развивается всегда, и при этом вспышки инфекций наблюдаются практически во всех регионах, в которых возделывают пшеницу (Монастырский, 2016). Фузариозам подвержены все злаковые культуры, но наиболее распространённым считается фузариоз колоса и зерна пшеницы, который может приводить к потерям урожая вплоть до 40% (Антошина и др., 2008). Опасность поражения злаковых культур грибами р *Fusarium* заключа-

ется также в их способности в течение своего развития производить токсичные продукты жизнедеятельности (Гагкаева и др., 2011).

В основе высокой антагонистической активности аэробных спорообразующих бактерий в отношении большого количества фитопатогенных организмов лежит способность синтезировать соединения различной природы. Так противогрибковые соединения бактериальной природы можно разделить на: ферменты способствующие дергадаци компонентов клеточной стенки грибов (хитиназ,  $\beta$ -1,3-глюканаз), поликетидов, дипептидов и липопептидов.

Соединения последней группы — циклические липопептиды, синтезируемые без участия рибосом, благодаря работе ферментов с модульной организацией, которые относятся к семейству НРПС (нерибосомальные пептидсинтетазы) (Palazzini et al., 2016). Данная группа ферментов способны синтезировать пептиды размером от 2 до 48 аминокислот. Синтезируемые с помощью НРПС пептиды, в отличие от рибосомально синтезированных, могут содержать в своем составе не только протеиногенные аминокислоты, но также метилированные, гидроксильные и гликозилированные остатки, D-аминокислоты и даже непротеиногенные аминокислоты (Süssmuth, Mainz, 2017), что и обуславливает активность данных соединений в отношении различных микроорганизмов.

### Цель исследования

Целью исследования являлось изучение спектра генов нерибосомальных пептидсинтетаз у аэробных спорообразующих бактерий родов *Bacillus* и *Paenibacillus* с различной степенью выраженности антагонизма в отношении грибов р. *Fusarium*, для разработки способа ускоренного подбора биофунгицидных штаммов.

### Материалы и методы

Для проведения работ по поиску генов нерибосомальных пептидсинтетаз были отобраны штаммы бактерий с высокой антагонистической активностью, а также штаммы без выраженных антагонистических свойств. Отбор штаммов бактерий, места отбора почвенных проб и антагонистическая активность штаммов с биофунгицидной активностью подробно описаны в предыдущей работе (Gorovtsov et al., 2019). Штаммы с высокой антагонистической активностью в последствии были идентифицированы методом секвенирования последовательности гена 16S рРНК во всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ). Идентификация штаммов без выраженных

Таблица 1. Характеристики праймеров, использованных для поиска генов НРПС

Мишень	Последовательность праймера	Tm °C	Длина ампликона, п.н.	Источник
<b>Нерибосомальные пептид синтетазы</b>				
Сурфактин синтетаза, ген <i>srfAA</i>	F: TTTAATAGCGGCCATCTG R: GAAGTGTCTTCATCAGATCC	54	993–1036	(Coutte et al., 2010)
Фенгидин синтетаза, ген <i>fenC</i>	F: CTGAATCTCTTGCGCCATGT R: TGATCTGTGTGCTCCTTCA	60	214	(Zihahirwa Kulimushi et al., 2017)
Фузарицидин синтетаза, ген <i>fusA</i>	F: GCAGAGGATGATAGTGTGGTC R: CAGCACATCATGCGTTCC	60	110	(Raza et al., 2015)
Полимиксин синтетаза, ген <i>pmxE</i>	F: GAATCGGCTCGTCTCTCCAG R: GATGTGGACATTACGCGCAC	60	775	Primer Blast
Итурин синтетаза, ген <i>ituA</i>	F: TCCAGACAATGACGGATGGC R: TTGAAGGACCACGAGTTCCGG	57	994	(Narendra Kumar et al., 2017)
<b>Референсные гены</b>				
Ген малой субъединицы рибосомы <i>16s rRNA Bacillus</i>	F: CCTACGGGAGGCAGCAG R: ATTACCGCGGCTGCTGG	64	195	(Sun et al., 2013)
Ген малой субъединицы рибосомы <i>16s rRNA Paenibacillus</i>	F: CATTTCATCGTTTACGGCGT R: TGTTAATCCCGAGGCTCACT	64	210	(Raza et al., 2010)

антагонистических свойств проводили с использованием морфологических признаков и биохимических тестов.

Для выделения ДНК штаммы предварительно культивировали в течение. Выделение ДНК из клеток бактерий проводили с использованием коммерческого набора для выделения ДНК «ДНК Сорб С–М» (Amplisens, Россия). Выделение производили из суточной культуры, выращенной на Сусло-МПА. При необходимости проводили очистку ДНК с использованием набора CleanMag DNA (Евроген, Россия).

Выбор диапазона тестируемых температур для отжига праймеров проводили с использованием различных калькуляторов (Bio-Rad Ta calc, Tm Calculator New England Biolabs, Melting Temperature (Tm) Calculation University of the Basque Country, Oligo Calc).

Так предварительный подбор позволил определить диапазон для тестируемых температур отжига большинства подобранных праймеров: от 54 °C до 65 °C.

Для подбора оптимальной температуры отжига праймеров проводили градиентную ПЦР в приборе CFX96 (Bio-Rad, США), с использованием коммерческого набора «ScreenMix» (Евроген) и ДНК в качестве матрицы.

Поиск генов НРПС у штаммов бактерий с различным уровнем антагонизма в отношении грибов р. *Fusarium*

проводили с использованием коммерческого набора «ScreenMix» (Евроген) и ДНК в качестве матрицы.

Каждая ПЦР проводилась по программе:

1. Предварительная денатурация 95 °C 5 минут
2. Денатурация 95 °C 30 секунд,
3. Отжиг праймеров с градиентом от 54 °C до 65 °C 30 секунд,
4. Элонгация при 70 °C 60 секунд.

Пункты со 2 по 4 повторяли 40 раз

Каждая проба для постановки ПЦР имела следующий состав: 14,4 мкл ПЦР воды, 5 мкл ScreenMix, по 0,3 мкл каждого из праймеров (исходная концентрация каждого праймера 10 мкМ), 5 мкл ДНК (с концентрацией 2 нг/мкл), 5 мкл минерального масла.

В последующем полученные ПЦР-продукты вносили в 1,5% агарозный гель с бромистым этидием, проводили электрофорез при 143В, 9,4 Вт, 120 мА, в течение 30–50 минут с последующей визуализацией получившихся фрагментов каждые 15 минут в системе Gel Dock (Bio-Rad, США). В качестве отрицательного контроля в ПЦР использовали полную реакционную пробу, в которую вносили 5 мкл ПЦР воды вместо ДНК.

Серию постановок ПЦР проводили с использованием праймеров представленных в таблице ниже (Таблица 1). В графе температура отжига, указаны подобранные экспериментальным путем температуры.

Таблица 2. Гены различных нерибосомальных пептидсинтетаз, обнаруженные у штаммов бактерий-антагонистов методами ПЦР и электрофореза

		Штаммы бактерий (условное обозначение на графиках далее)									
		K1.14 (VI)	O1.27 (I)	O2.11 (VIII)	R3.13 (II)	V3.14 (IX)	R4.5 (V)	R4.6 (IV)	R4.24 (X)	R5.31 (III)	R6.14 (VII)
Гены	srfAA	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
	fenC	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
	fusA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	pmxE	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
	ituA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	16sBam	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	16sPmx	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+

Таблица 3. Гены различных нерибосомальных пептидсинтетаз, обнаруженные у штаммов бактерий без антагонистической активности методами ПЦР и электрофореза

		Штаммы бактерий (условное обозначение на графиках далее)		
		3	5	9
Гены	srfAA	-	-	+
	fenC	-	+	-
	fusA	+	-	-
	pmxE	-	-	-
	ituA	-	-	-
	16sBam	+	+	+

## Результаты и обсуждение

Так проведенная идентификация штаммов бактерий, позволила выявить, что большая часть штаммов бактерий с высокой антагонистической активностью в отношении грибов были идентифицированы как представители рода *Paenibacillus* (*P. polymyxa* R5.31, *P. peoriae*—O1.27, O2.11, R3.13, R4.5, R6.14, *P. jamilae*—K1.14, R4.24), а также 2 штамма были идентифицированы как вид *B. amyloliquefaciens* (R4.6, V3.14).

Идентификация штаммов без выраженных антагонистических свойств позволила определить, что штаммы 3, 5 и 9 могут быть отнесены к р. *Bacillus*.

В дальнейшем был проведен анализ имеющихся генов нерибосомальных пептидсинтетаз методами ПЦР и электрофореза.

Результат проведенного поиска генов синтеза различных НРПС у отобранных штаммов бактерий-антагонистов представлен в Таблице 2.

Исходя из данных, представленных в Таблице 2 можно сделать вывод, что у штаммов относящихся к роду *Bacillus* (V3.14, R4.6) помимо генов, отвечающих за синтез сурфактин (*srfAA*) и фенгицин синтетаз (*fenC*), был обнаружен ген *fusA*, отвечающий за синтез фузарицидин синтетазы.

Хотя наличие генов синтеза фузарицидин синтетазы обычно характерно лишь для бактерий рода *Paenibacillus*, присутствие этого гена у бактерий рода *Bacillus* может быть объяснено либо горизонтальным переносом генов, либо наличием близкого аналога этого гена (ортолога).

Также, ожидаемо было выявлено наличие референсного гена 16s субъединицы рибосомы (*16s Bam*).

В случае анализа продуктов ПЦР у штаммов бактерий, относящихся к роду *Paenibacillus*, из всех изученных мишеней были обнаружены лишь гены, ответственные за синтез фузарицидин и полимиксин (*pmxE*) синтетаз. Данные гены были обнаружены у всех 8 штаммов относящихся к данному роду бактерий.

Подбор референсного гена для бактерий данного рода позволил выявить, что в дальнейшей работе могут быть использованы как праймеры *16s Bam*, поскольку они являются универсальными праймерами для обнаружения гена *16s* у всех бактерий, так и праймеры *16sPmx*, которые предпочтительны для штаммов р. *Paenibacillus* из-за их родовой специфичности.

Так же спектр имеющихся генов НРПС у штаммов без антагонистических свойств проверяли методом ПЦР и последующим анализом продуктов реакций в 1,5% агарозном геле с бромистым этидием (таблица 3).

Как можно видеть, исходя из данных таблицы, у каждого из штаммов бактерий без антагонистической активности было обнаружено лишь по одному гену НРПС. В качестве референсного гена для данных штаммов использовали праймеры *16sBam*.

Таким образом в ходе проведенного анализа было установлено, что у штаммов с высоким уровнем антагонистической активности в отношении грибов рода *Fusarium* (диаметр зоны подавления роста грибов выше 24 мм), имеют в своём геноме самый минимум по два гена различных оперонов нерибосомальных пептидсинтетаз, тогда как у штаммов без выраженных антагонистических свойств количество генов не превышает одного. Подводя итог можно заключить, что количественный анализ генов различных нерибосомальных пептидсинтетаз у штаммов бактерий данной группы может быть одним из потенциальных способов ускоренного поиска штаммов-антагонистов с противогрибковой активностью.

### Благодарности

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-34-90057.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев И.А., Волков А.М., Иванова Р.Н. и др. Опыт выращивания телят с применением пробиотика споробактерина // Аграрный Вестник Урала. 2015. № 2 (132). С. 12–15.
2. Антошина О.А., Веневцев В.З., Дацюк П.В. и др. Оценка состояния посевов озимой пшеницы по фазам вегетации в условиях Центрального района Нечерноземной зоны // Москва: Федеральное государственное учреждение «Российский центр сельскохозяйственного консультирования», 2008. — 53 с.
3. Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Левитин М.М. и др. Фузариоз зерновых культур // Защита и карантин растений. — 2011. — Т. 5. — № . 69. — С. 1.
4. Кузнецова Т.Н. Патент № 2208633 С1 Российская Федерация, МПК C12N1/20, C12N9/56, C12R1/25. Штамм *Bacillus subtilis* P-1 — продуцент протеазы: № 2001130859/13: заявл. 14.11.2001: опубл. 20.07.2003 / Т.Н. Кузнецова, Р.С. Нафиков, М.М. Алсынбаев, В.Ф. Кулагин; заявитель Государственное унитарное предприятие «Имунопрепарат».
5. Монастырский О.А. Микотоксины-глобальная проблема безопасности продуктов питания и кормов // Агрохимия. — 2016. — № . 6. — С. 67–71.
6. Нетрусов А.И. Экология микроорганизмов. Москва: Академия, 2004. 272 с.
7. Пешков С.А., Сизенцов А.Н., Никиян А.Н. и др. Исследование биоаккумуляции тяжелых металлов бактериями рода *Bacillus* с использованием рентгенофлуоресцентного анализа и атомно-силовой микроскопии // Современные проблемы науки и образования. — 2015. — № . 4. — С. 526–526.
8. Сираева З.Ю. Биопрепарат для стимуляции роста и защиты растений от болезней на основе *Bacillus amyloliquefaciens* ВКПМ В-11008 // Автореф. дисс. . . . кан. биол. — 2012. — № . 2012. — 24 с.
9. Сопрунова О.Б., Сопрунова В.Е., Байрамбеков Ш.Б. и др. Изучение влияния биопрепарата на основе *Bacillus atrophaeus* на урожайность картофеля // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. — 2020. — Т. 8. — № . 4. — С. 86–95. — DOI 10.14529/food200411.
10. Сунгурцева И.Ю., Любунь Е.В., Муратова А.Ю. и др. Исследование динамики биоаккумуляции кадмия (II) ризобактерией *Bacillus* sp. 14 // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. — 2015. — Т. 15. — № . 4. — С. 74–77. — DOI 10.18500/1816–9775–2015–15–4–74–77.
11. Abd-Elhalem B.T., El-Sawy M., Gamal R.F. et al. Production of amylases from *Bacillus amyloliquefaciens* under submerged fermentation using some agro-industrial by-products // Annals of Agricultural Sciences. — 2015. — Т. 60. — № . 2. — С. 193–202. — DOI 10.1016/j.aos.2015.06.001.
12. Coutte F., Leclère V., Béchet M. et al. Effect of pps disruption and constitutive expression of *srfA* on surfactin productivity, spreading and antagonistic properties of *Bacillus subtilis* 168 derivatives // Journal of applied microbiology. — 2010. — Т. 109. — № . 2. — С. 480–491. — DOI 10.1111/j.1365–2672.2010.04683.x.
13. Gorovtsov A.V., Vasilchenko N.G., Prazdnova E.V. et al. The influence of soil type and preceding crop on the suppression of fusarium by indigenous spore-forming bacteria // Periodico Tche Quimica. — 2019. — Т. 16. — № . 33. — С. 225–240.
14. Govindasamy V., Senthilkumar M., Magheshwaran V. et al. *Bacillus* and *Paenibacillus* spp.: potential PGPR for sustainable agriculture // Plant growth and health promoting bacteria. — Springer, Berlin, Heidelberg, 2010. — С. 333–364. — DOI 10.1007/978–3–642–13612–2\_15.
15. Gupta S., Pandey S. ACC deaminase producing bacteria with multifarious plant growth promoting traits alleviates salinity stress in French bean (*Phaseolus vulgaris*) plants // Frontiers in Microbiology. — 2019. — Т. 10. — С. 1506. — DOI 10.3389/fmicb.2019.01506.
16. Hussain A., Ahmad M., Nafees M. et al. Plant-growth-promoting *Bacillus* and *Paenibacillus* species improve the nutritional status of *Triticum aestivum* L // PLoS One. — 2020. — Т. 15. — № . 12. — С. e0241130. — DOI 10.1371/journal.pone.0241130.

17. Kumar P.N., Swapna T.H., Khan M.Y. et al. Statistical optimization of antifungal iturin A production from *Bacillus amyloliquefaciens* RHNK22 using agro-industrial wastes //Saudi journal of biological sciences. — 2017. — Т. 24. — № 7. — С. 1722–1740. — DOI 10.1016/j.sjbs.2015.09.014.
18. Mahaffee W.F., Kloepper J.W. Temporal changes in the bacterial communities of soil, rhizosphere, and endorhiza associated with field-grown cucumber (*Cucumis sativus* L.) //Microbial Ecology. — 1997. — Т. 34. — № 3. — С. 210–223. — DOI 10.1007/s002489900050.
19. Mei L., Liang Y., Zhang L. et al. Induced systemic resistance and growth promotion in tomato by an indole-3-acetic acid-producing strain of *Paenibacillus polymyxa* //Annals of applied biology. — 2014. — Т. 165. — № 2. — С. 270–279. — DOI 10.1111/aab.12135.
20. Palazzini J.M., Ramirez M.L., Torres A.M. et al. Potential biocontrol agents for *Fusarium* head blight and deoxynivalenol production in wheat //Crop Protection. — 2007. — Т. 26. — № 11. — С. 1702–1710. — DOI 10.1016/j.cropro.2007.03.004.
21. Prakash J., Arora N.K. Phosphate-solubilizing *Bacillus* sp. enhances growth, phosphorus uptake and oil yield of *Mentha arvensis* L //3 Biotech. — 2019. — Т. 9. — № 4. — С. 1–9. — DOI 10.1007/s13205-019-1660-5.
22. Radhakrishnan R., Lee I.J. Gibberellins producing *Bacillus methylotrophicus* KE2 supports plant growth and enhances nutritional metabolites and food values of lettuce //Plant Physiology and Biochemistry. — 2016. — Т. 109. — С. 181–189. — DOI 10.1016/j.plaphy.2016.09.018.
23. Raza W., Yang X., Wu H. et al. Evaluation of metal ions (Zn<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup> and Mg<sup>2+</sup>) effect on the production of fusaricidin-type antifungal compounds by *Paenibacillus polymyxa* SQR-21 //Bioresource technology. — 2010a. — Т. 101. — № 23. — С. 9264–9271. — DOI 10.1016/j.biortech.2010.07.052.
24. Raza W., Yuan J., Wu Y.C. et al. Biocontrol traits of two *Paenibacillus polymyxa* strains SQR-21 and WR-2 in response to fusaric acid, a phytotoxin produced by *Fusarium* species //Plant Pathology. — 2015. — Т. 64. — № 5. — С. 1041–1052. — DOI 10.1111/ppa.12354.
25. Seldin L., Rosado A.S., da Cruz D.W. et al. Comparison of *Paenibacillus azotofixans* strains isolated from rhizoplane, rhizosphere, and non-root-associated soil from maize planted in two different Brazilian soils //Applied and Environmental Microbiology. — 1998. — Т. 64. — № 10. — С. 3860–3868. — DOI 10.1128/AEM.64.10.3860-3868.1998.
26. Selvakumar G., Bindu G.H., Bhatt R.M. et al. Osmotolerant cytokinin producing microbes enhance tomato growth in deficit irrigation conditions //Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences. — 2018. — Т. 88. — № 2. — С. 459–465. — DOI 10.1007/s40011-016-0766-3.
27. Shin D.J., Yoo S.J., Hong J.K. et al. Effect of *Bacillus aryabhattai* H26-2 and *B. siamensis* H30-3 on growth promotion and alleviation of heat and drought stresses in Chinese cabbage //The plant pathology journal. — 2019. — Т. 35. — № 2. — С. 178. — DOI 10.5423/PPJ.NT.08.2018.0159.
28. Sun D.L., Jiang X., Wu Q.L. et al. Intragenomic heterogeneity of 16S rRNA genes causes overestimation of prokaryotic diversity //Applied and environmental microbiology. — 2013. — Т. 79. — № 19. — С. 5962–5969. — DOI 10.1128/AEM.01282-13.
29. Süßmuth R.D., Mainz A. Nonribosomal peptide synthesis — principles and prospects //Angewandte Chemie International Edition. — 2017. — Т. 56. — № 14. — С. 3770–3821. — DOI 10.1002/anie.201609079.
30. Yasin M., Munir I., Faisal M. Can *Bacillus* spp. enhance K<sup>+</sup> uptake in crop species //Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture. — Springer, New Delhi, 2016. — С. 163–170. — DOI 10.1007/978-81-322-2776-2\_12.
31. Zihalirwa Kulimushi P., Argüelles Arias A., Franzil L. et al. Stimulation of fengycin-type antifungal lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* in the presence of the maize fungal pathogen *Rhizomucor variabilis* //Frontiers in microbiology. — 2017. — Т. 8. — С. 850. — DOI 10.3389/fmicb.2017.00850.

© Васильченко Никита Геннадьевич ( nvasilchenko@sfedu.ru ).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»