

Антимикробная активность микроорганизмов, выделенных из почвы тропической пустыни Синайского полуострова

А. Л. КАНДЫБА, Е. В. ХРАМЦОВА, Б. Ф. ВАСИЛЬЕВА, Ю. В. БОЙКОВА,
А. А. ГЛУХОВА, Т. А. ЕФИМЕНКО, *О. В. ЕФРЕМЕНКОВА

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе», Москва, Россия

Резюме

Актуальность. Распространение патогенных антибиотикорезистентных микроорганизмов зачастую приводит к неэффективности антимикробной терапии. Одним из решений этой проблемы является поиск новых активных природных антибиотиков. **Цель.** Изыскание в природной среде продуцентов, проявляющих антибиотическую активность в отношении резистентных тест-микроорганизмов, в том числе из группы ESKAPE. Объектом исследования были бактерии, выделенные из мало исследованной среды — почвы тропической пустыни, а именно почвы Синайского полуострова. **Методы.** Суспензии почвы высевали на универсальную полноценную агаровую среду №2 Гаузе, пригодную для роста многих бактерий и грибов. Выделенные микроорганизмы идентифицировали по морфологическим признакам и по анализу генов рибосомальной РНК. Глубинное культивирование осуществляли в питательных средах разного состава в условиях аэрирования. Для оценки антимикробной активности использовали тест-штаммы грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также грибы. **Результаты.** Выделено 38 культур микроорганизмов: 9 штаммов грибов, 5 штаммов стрептомицетов, 2 штамма *Bacillus subtilis* и 22 штамма представителей других таксономических групп бактерий. 5 штаммов стрептомицетов и 2 штамма *B. subtilis* проявляют антибиотическую активность, в частности к резистентным патогенам группы ESKAPE, а именно метициллинорезистентному *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, а также к *Mycobacterium smegmatis* — предварительного теста при поиске противотуберкулезных средств. **Заключение.** Поиск продуцентов антибиотиков из выделенной почвы пустыни был продуктивным, поскольку четверть выделенных штаммов бактерий проявляет антимикробную активность, в том числе в отношении тест-штаммов с множественной лекарственной устойчивостью. Разработаны условия биосинтеза для последующего выделения и химического изучения. Наиболее перспективными признаны штаммы *Streptomyces rochei* ИНА 01452 и ИНА 01509, а также *Streptomyces* sp. ИНА 01523.

Ключевые слова: микроорганизмы тропической пустыни; Синайский полуостров; *Streptomyces rochei*; *Bacillus subtilis*; ESKAPE; MRSA; антибиотическая активность; антибиотикорезистентность

Для цитирования: Кандыба А. Л., Храмцова Е. В., Васильева Б. Ф., Бойкова Ю. В., Глухова А. А., Ефименко Т. А., Ефременкова О. В. Антимикробная активность микроорганизмов, выделенных из почвы тропической пустыни Синайского полуострова. *Антибиотики и химиотер.* 2024; 69 (7–8): 9–16. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-7-8-9-16>. EDN: MBICFI.

Antimicrobial Activity of Microorganisms Isolated from the Soil of the Tropical Desert of the Sinai Peninsula

ANASTASIA L. KANDYBA, EKATERINA V. KHRAMTSOVA, BYAZILIA F. VASILYEVA,
JULIA V. BOYKOVA, ALLA A. GLUKHOVA,
TATIANA A. EFIMENKO, *OLGA V. EFREMENKOVA

Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia

Abstract

Background. The spread of pathogenic antibiotic-resistant microorganisms often leads to the inefficiency of antimicrobial therapy. One of the solutions to this problem is the search for new active natural antibiotics. **The aim of the study.** The search for producers that show antibiotic activity in relation to resistant test microorganisms, including those from the ESKAPE group, in the natural environment. The object of the study was bacteria isolated from a poorly studied environment — the soil of the tropical desert, namely the soil of the Sinai Peninsula. **Methods.** Soil suspensions were sown on universal sterling agar environment No. 2 Gause, suitable for the growth of many bacteria and fungi. The isolated microorganisms were identified by morphological characteristics and by the analysis of ribosomal RNA genes. Deep cultivation was carried out in

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: ovefr@yandex.ru



EDN: MBICFI

*Correspondence to:
E-mail: ovefr@yandex.ru



nutrient media of various compositions under aeration conditions. Test strains of gram-positive and gram-negative bacteria, as well as fungi, were used to evaluate antimicrobial activity. **Results.** 38 cultures of microorganisms were isolated: 9 strains of fungi, 5 strains of streptomycetes, 2 strains of *Bacillus subtilis*, and 22 strains of representatives of other taxonomic groups of bacteria. 5 strains of streptomycetes and 2 strains of *B. subtilis* exhibit antibiotic activity, in particular against resistant pathogens of the ESKAPE group, namely methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, as well as *Mycobacterium smegmatis* — a preliminary test in the search for anti-tuberculosis drugs. **Conclusion.** The search for antibiotic producers from the isolated desert soil was productive, due to the fact that a quarter of the isolated bacterial strains exhibited antimicrobial activity, even against multidrug-resistant test strains. Bio-synthesis conditions have been developed for subsequent isolation and chemical study. The most promising strains are *Streptomyces rochei* INA 01452 and INA 01509, as well as *Streptomyces sp.* INA 01523.

Keywords: tropical desert microorganisms; Sinai Peninsula; *Streptomyces rochei*; *Bacillus subtilis*; ESKAPE; MRSA; antibiotic activity; antibiotic resistance

For citation: Kandyba A. L., Khramtsova E. V., Vasilyeva B. F., Boykova Ju. V., Glukhova A. A., Efimenko T. A., Efremenkova O. V. Antimicrobial activity of microorganisms isolated from the soil of the tropical desert of the Sinai Peninsula. *Antibiotiki i Khimioterapy*. 2024; 69 (7–8): 9–16. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2024-69-7-8-9-16>. EDN: MBICFI.

Введение

В настоящее время распространение патогенных антибиотикорезистентных микроорганизмов считается одной из наиболее актуальных проблем медицины. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ситуация усугубляется год от года. Согласно Глобальной системе надзора за устойчивостью к противомикробным препаратам и их применением, ВОЗ сообщает, что к 2050 г. смертность от инфекционных заболеваний будет примерно такой же, как в настоящее время от сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [1–3]. Известно, что актиномицеты наряду с грибами являются основными продуцентами антибиотиков [4, 5]. Поскольку антибиотики относятся ко вторичным метаболитам, то есть их биосинтез не является жизненно необходимым для образующего их вида, наблюдается разнообразие штаммов по признаку антибиотикообразования в рамках одного вида, зависящее от среды обитания. Соответственно, изыскание в природной среде продуцентов новых активных антибиотиков целесообразно проводить в местах, микрофлора которых недостаточно исследована в этом направлении. Поэтому особое внимание в настоящее время уделяется симбионтам высших организмов, водным видам, а также обитателям экстремальных природных зон [6–8].

Streptomyces представляет собой самый большой род в типе Actinobacteria. Несмотря на проводившиеся ранее обширные исследования стрептомицетов, успешно продолжается описание новых видов этого рода, а также образуемых ими антибиотиков. По данным L. Donald и соавт. [9], с 2015 г. по 2020 г. выделено 135 новых видов *Streptomyces*, из них 108 из наземной среды и 27 из морских источников, описано 279 новых вторичных метаболитов, в том числе 91 антибактериальный антибиотик и 30 антимицотиков.

Поиск продуцентов антибиотиков в экстремальных, в данном случае засушливых, зонах является одним из подходов к поиску новых перспективных продуцентов антибиотиков [10, 11]. Продолжая исследования в этом направлении,

мы изучили микроорганизмы из почвы тропической пустыни Синайского полуострова.

Материал и методы

Объекты исследования. Объектами исследования были микроорганизмы, выделенные из трёх образцов аридной почвы, отобранных в районе восточного побережья Синайского полуострова в районе города Дахаб (Египет). Эта территория характеризуется очень сухим климатом и представляет собой тропическую пустыню, то есть является экстремальной средой. Водную суспензию почвы тщательно перемешивали на шейкере, фильтровали через стерильный ватный фильтр для удаления плотных частиц почвы, делали серию разведений и высевали на агаровую среду №2 Гаузе. Отдельные колонии отсеивали в пробирки на скошенную агаровую среду.

Питательные среды. Основными средами для поверхностного культивирования были следующие (в %):

— среда №1 Гаузе: крахмал растворимый — 2,0, KNO₃ — 0,1, K₂HPO₄ — 0,05, MgSO₄ — 0,05, NaCl — 0,05, FeSO₄ — 0,001, агар — 2,0, вода дистиллированная, pH 7,2–7,4;

— среда №2 Гаузе: глюкоза — 1,0, пептон — 0,5, триптон — 0,3, NaCl — 0,5, агар — 2,0, вода водопроводная, pH 7,2–7,4;

Глубинное культивирование проводили в восьми жидких питательных средах, разработанных в ФГБНУ «НИИНА» для актинобактерий — продуцентов антибиотиков (в %):

— среда СТР: глюкоза — 1,0, пептон — 0,5, триптон — 0,3, NaCl — 0,5, вода водопроводная, pH 7,2–7,4;

— среда А4: глюкоза — 1, соевая мука — 1, NaCl — 0,5, мел — 0,25, вода водопроводная, pH 6,8;

— среда 6613: крахмал — 2, кукурузный экстракт — 0,3, KNO₃ — 0,4, NaCl — 0,5, мел — 0,5, вода водопроводная, pH 7,0–7,2;

— среда сахарозная: сахароза — 2, соевая мука — 1, NaCl — 0,3, мел — 0,3, вода водопроводная, pH 6,8–7,0;

— среда 2663: глицерин — 3, соевая мука — 1,5, NaCl — 0,3, мел — 0,3, вода водопроводная, pH 7,0;

— среда 330: сахароза — 2,1, крахмал — 0,85, гороховая мука — 1,5, NaCl — 0,5, NaNO₃ — 0,5, мел — 0,5, вода водопроводная, pH 7,0;

— среда 5539: глицерин — 2, соевая мука — 0,5, (NH₄)₂SO₄ — 0,15, NaCl — 0,3, мел — 0,3, вода водопроводная, pH 6,8;

— среда АМ: сахароза — 4, K₂HPO₄ — 0,1, Na₂SO₄ — 0,1, NaCl — 0,1, (NH₄)₂SO₄ — 0,2, дрожжевой экстракт сухой — 0,25, FeSO₄×7H₂O — 0,0001, MnCl₂×4H₂O — 0,0001, NaI — 0,00005, мел — 0,2, вода дистиллированная, pH 6,5–6,7.

Условия глубинного культивирования. Все исследуемые штаммы культивировали в глубинных условиях в колбах Эрленмейера объемом 750 мл со 150 мл среды на роторной качалке со скоростью 220 об/мин при 28°C. Актиномицеты и грибы выращивали в два этапа. На первом этапе колбы со

средой СТР засеивали с агаровой среды и культивировали 4 сут. На втором этапе по 5 мл полученной культуральной жидкости актиномицетов переносили в качестве посевного материала в колбы с семью различными средами и инкубировали в течение 4 и 6 сут. Грибы инкубировали только на среде СТР в течение 4 нед., активность культуральной жидкости определяли раз в неделю. Бактерии других таксономических групп выращивали в один этап на среде СТР, засев осуществляли петлёй с агаровой среды; длительность инкубирования составляла 2, 4 и 6 сут.

Тест-штаммы. В качестве тест-штаммов для определения антибиотической активности были использованы грамположительные бактерии: метициллинорезистентный *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), метициллиночувствительный *S. aureus* FDA 209P (methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*, MSSA), *Micrococcus luteus* NCTC 8340, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *B. pumilus* NCTC 8241, *B. mycoides* 537, *Leuconostoc mesenteroides* ВКПМ В-4177, обладающий природной устойчивостью к гликопептидным антибиотикам группы ванкомицина (vancomycin-resistant *Leuconostoc mesenteroides*, VRLM), *Mycobacterium smegmatis* ВКПМ Ас 1339, *M. smegmatis* mc² 155, граммотрицательные бактерии: *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* К-12, *E. coli* ИНА 01355 и *E. coli* ИНА 01356; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), и грибы: *Aspergillus niger* ИНА 00760, *Saccharomyces cerevisiae* RIA 259. Тестовые штаммы выращивали в течение 1 сут при температуре 37°C, (исключение составляли микобактерии, которых выращивали 2 сут), а также *L. mesenteroides*, *S. cerevisiae* и *Aspergillus niger*, которые выращивали при 28°C.

Определение антибиотической активности. Антибиотическую активность в культуральной жидкости определяли методом диффузии в агар в чашках Петри с агаризованной средой № 2 Гаузе, инокулированной тест-микроорганизмами. В лунки вносили культуральную жидкость и после инкубирования по диаметрам зон отсутствия роста судили об антибиотической активности исследуемого образца. Результаты показаны как средние значения не менее трёх повторов (табл. 1).

Видовая идентификация бактерий. Видовую идентификацию на основании анализ гена 16S рРНК проводили следующим образом. Выделение ДНК исследуемого штамма проводили с помощью набора для выделения геномной ДНК из клеток, тканей и крови (Biolabmix, Россия). Для амплификации гена 16S рРНК использовали набор реагентов BioMaster HS-Taq ПЦР-Спец PCR Master Mix (Biolabmix, Россия) и универсальные бактериальные праймеры 27f (aga gtt tga tcc tgg ctacg) и 1492r (tac ggy tac ctt gtt acg act t). ПЦР проводили на амплификаторе Thermal Cycler 2720 (Applied Biosystems, США) по программе: (1) 94°C — 5 мин; (2) 30 циклов с чередующимися температурными интервалами 94°C — 1 мин, 51°C — 1 мин, 72°C — 2 мин; (3) 72°C — 7 мин. Анализ продуктов ПЦР осуществляли методом электрофореза в 1% агарозном геле (с использованием трис-бонатного буфера ТВЕ) при напряжённости электрического поля 5 В/см. Очистку продуктов ПЦР проводили путём переосаждения ДНК в мягких условиях с использованием 0,125 М ацетата аммония в 70% этаноле. Нуклеотидные последовательности определяли методом Сэнгера на автоматическом генетическом анализаторе 3500 (Applied Biosystems, США) с использованием универсальных бактериальных праймеров 27f, 341f (cct acg gga ggc agc ag), 519r (gta tta ccg cgg ctg ctg), 785f (ggm tta gat acc tgg tag tcc), 907r (ccg tca att cct ttg agt tt), 1392r (acg ggc ggt gtc trc) и 1492r. Для выравнивания, сборки полных нуклеотидных последовательностей и построения филогенетического дерева использовали программу Mega X [12], нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК типовых штаммов получены из базы данных GenBank (<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>>).

Для видовой идентификации актиномицетов также оценивали морфологические признаки, а именно наличие воздушного мицелия и строение спораносцев. Важными пока-

зателями также были пигментации субстратного мицелия, воздушного мицелия и экзопигмента при росте на средах ISP [13, 14]. Образцы микроскопировали с помощью светового микроскопа МИКМЕД-6 («ЛОМО», Россия). Просмотр препаратов осуществляли при увеличении от 60 до 1500 раз.

Закладка штаммов на длительное хранение. Штаммы–продуценты антимикробных веществ депонированы в коллекцию Института по изыскания новых антибиотиков. Культуры лиофилизированы и хранятся при –18°C.

Результаты

Из расщепов суспензий почвы примерно из 3000 колоний для дальнейшего исследования было отобрано 38 штаммов бактерий, актиномицетов и грибов, отличающихся друг от друга по морфологическим признакам (размерам и форме колоний, окраске мицелия и наличию экзопигмента). Среди них было выделено 9 штаммов грибов и 5 штаммов актиномицетов из рода *Streptomyces*; преобладающими микроорганизмами были бактерии других таксономических групп. Среди 38 штаммов антибиотическая активность была обнаружена у 5 стрептомицетов и 2 бацилл (см. табл. 1); описанным выше методом не обнаружена антимикробная активность у грибных изолятов.

Из табл. 1 следует, что 6 из 7 штаммов обладают широким спектром антимикробной активности, то есть активны как в отношении грамположительных, так и граммотрицательных бактерий. Кроме того, у четырёх штаммов также есть антимикотическая активность. Видовая идентификация данных 7 штаммов показана в табл. 2.

Особый интерес представляет антимикробная активность в отношении резистентных тест-штаммов. Например, *S. heliomycini* ИНА 01513 проявляет избирательную активность только в отношении одного тест-штамма из 16, а именно *L. mesenteroides* ВКПМ В-4177. Этот тест-штамм обладает высоким уровнем устойчивости к гликопептидным антибиотикам группы ванкомицина, поэтому образуемое штаммом ИНА 01513 соединение (или соединения) потенциально может быть активным в отношении форм патогенов, устойчивых к антибиотикам группы ванкомицина. Штамм *S. aureus* ИНА 00761 (MRSA) обладает МЛУ, активность против него проявляют пять штаммов (см. табл. 1). *Mycobacterium smegmatis* является безопасным быстрорастущим модельным объектом для поиска противотуберкулезной активности; антимикобактериальную активность проявили три штамма стрептомицетов (*S. rochei* ИНА 01509, *S. rochei* ИНА 01452 и *Streptomyces* sp. ИНА 01523). Штаммы *S. rochei* ИНА 01452 и *S. rochei* ИНА 01509 активны против граммотрицательных бактерий — помимо различных тест-штаммов кишечной палочки (*E. coli*), отмечена активность в отношении штамма с МЛУ *P. aeruginosa* ATCC 27853. Для дальнейшего исследования был выбран штамм *S. rochei* ИНА 01452,

Таблица 1. Зоны задержки роста тест-организмов под действием культуральной жидкости исследуемых штаммов бактерий
 Table 1. Zones of growth inhibition of test organisms under the influence of the culture liquid of the studied bacterial strains

Штаммы бактерий	Зоны задержки роста тест-штаммов (мм)															
	грамположительные бактерии															
	грамотрицательные бактерии															
Наиболее благоприятные среды для проявления антимикробной активности (сутки роста)	Bacillus subtilis ATCC 6633	B. mycoides 537	B. pumilus NCTC 8241	S. aureus FDA 209P (MSSA)	S. aureus HNA 00761 (MRSA)	Micrococcus luteus NCTC 8340	Leuconostoc mesenteroides ВКПМ В-4177	Mycobacterium smegmatis ВКПМ Ас 1339	M. smegmatis тс² 155	E. coli ATCC 25922	E. coli К-12	E. coli HNA 01355	E. coli HNA 01356	P. aeruginosa ATCC 27853	Aspergillus niger HNA 00760	Saccharomyces cerevisiae RIA 259
Стрептомицеты																
Streptomyces rochei HNA 01452	330 (4)	25	20	25	20	40	22	48	40	26	28	22	30	20	40	28
S. rochei HNA 01509	330 (4)	15	26	25	28	31	21	0	44	25	26	24	30	15	30	26
Streptomyces sp. HNA 01511	330 (6)	14*	20	19	16	19	14	0	0	0	0	17	16	0	0	0
S. heliomycini HNA 01513	AM (6)	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Streptomyces sp. HNA 01523	сах (6)	22*	0	0	32	28	12	0	15	13	0	21	15	0	0	0
Бактерии других таксонов																
Bacillus subtilis HNA 01454	СТР (2)	0	0	0	16	14	0	0	0	0	0	17	0	0	0	20*
B. subtilis HNA 01510	СТР (2)	0	0	0	14	0	0	0	0	12	18	17	0	0	0	19*
Примечание. * — В популяциях тест-штаммов присутствуют варианты, устойчивые к веществам анализируемых культуральных жидкостей.																
Note. * — Test strain populations contain variants resistant to the substances in the analyzed culture liquids																

Примечание. * — В популяциях тест-штаммов присутствуют варианты, устойчивые к веществам анализируемых культуральных жидкостей.
 Note. * — Test strain populations contain variants resistant to the substances in the analyzed culture liquids

Таблица 2. Определение по анализу гена 16S рРНК видовой принадлежности штаммов, проявляющих анти-микробную активность

Table 2. Determination of the species affiliation of strains exhibiting antimicrobial activity by 16S rRNA gene analysis

Вид, штамм	Длина прочтения ДНК, н. о.	Совпадение, %	ID GenBank
Стрептомицеты			
<i>Streptomyces rochei</i> ИНА 01452	1313	100,0	PP702115
<i>S. rochei</i> ИНА 01509	1256	100,0	PP702116
<i>Streptomyces</i> sp. ИНА 01511	1341	98,94	PP905755
<i>S. heliomycini</i> ИНА 01513	1441	99,31	PP905756
<i>Streptomyces</i> sp. ИНА 01523	713	99,02	PP905757
Бактерии других таксонов			
<i>Bacillus subtilis</i> ИНА 01454	1279	99,77	PP905758
<i>B. subtilis</i> ИНА 01510	844	100,0	PP905759

проявляющий все типы отмеченной выше антимикробной активности (табл. 1, рис. 1). Последовательность гена 16S рРНК штаммов ИНА 01452 и ИНА 01509 имеют 100% совпадение с последовательностями гена 16S рРНК типовых штаммов *Streptomyces rochei*, *S. plicatus*, *S. enissocaesilis*, *S. vinaceusdrappus* и *Nocardiopsis synnemasporegenes*, депонированных в GenBank (табл. 2, рис. 2). По морфологическим признакам штаммы ИНА 01452 и ИНА 01509 соответствуют виду *S. rochei*: спиральные спораносцы; на синтетической (№ 1 Гаузе), органической (№ 2 Гаузе) и овсяной (ISP3) средах воздушный мицелий серый, субстратный мицелий бесцветный или по мере старения культуры розоватый; растворимый пигмент отсутствует. Это описание не соответствует виду *S. plicatus* по строению спораносцев, а *S. enissocaesilis* — по пигмен-

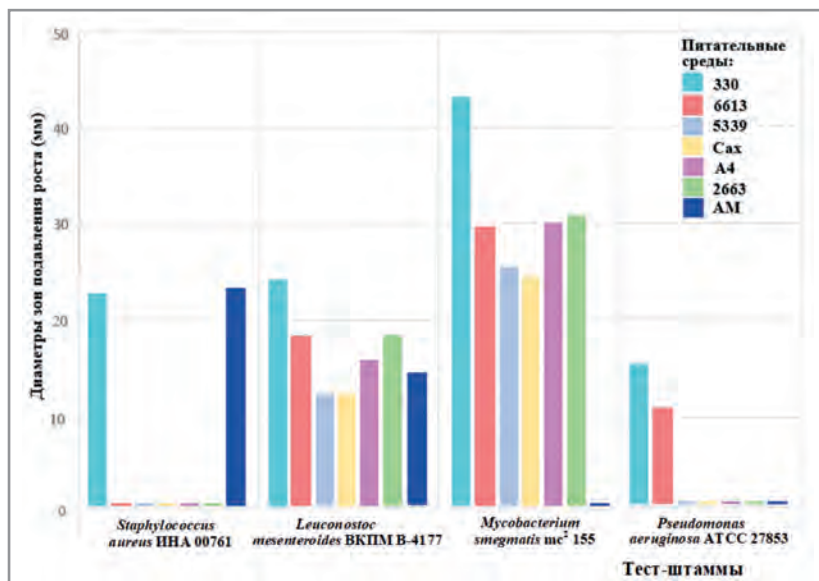


Рис. 1. Антимикробная активность культуральной жидкости штамма *Streptomyces rochei* ИНА 01452, полученная на различных питательных средах на 4-й день ферментации, в отношении антибиотико-резистентных тест-штаммов.

Fig. 1. Antimicrobial activity of the culture liquid of the *Streptomyces rochei* INA 01452 strain, obtained on various nutrient media on the fourth day of fermentation, in relation to antibiotic-resistant test strains.

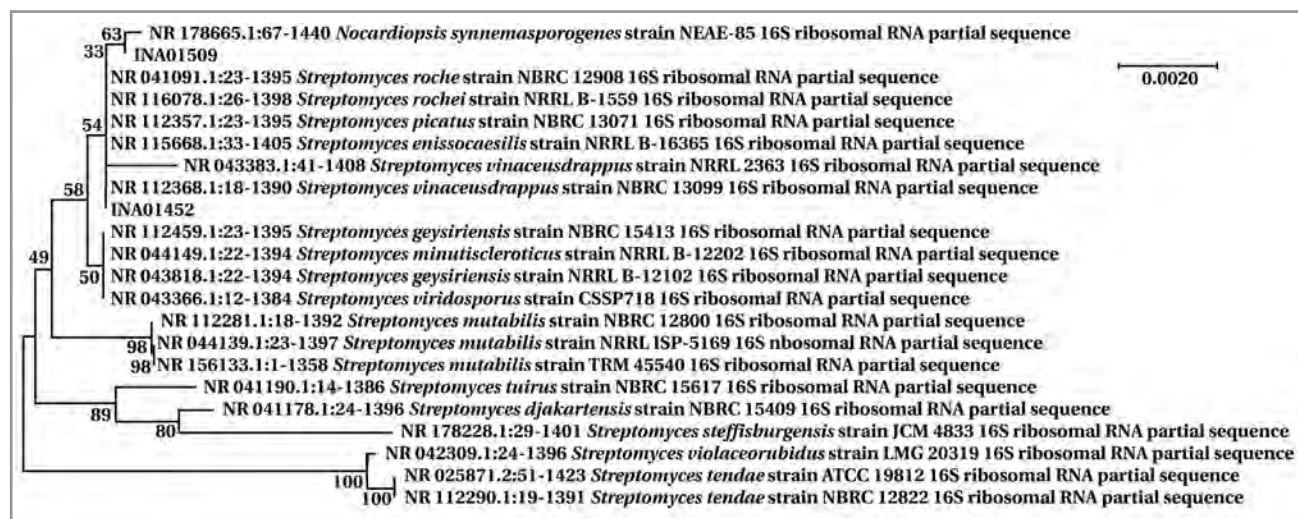


Рис. 2. Филогенетическое древо, включающее штаммы ИНА 01452 и ИНА 01509.

Fig. 2. Phylogenetic tree including strains INA 01452 and INA 01509.

тации. Наиболее близок вид *S. vinaceusdrappus*, также относящийся к серии *Achromogenes*, но в отличие от *S. rochei* на указанных средах имеет серо-коричневый воздушный мицелий и жёлтый субстратный мицелий [14]. *N. synnemasperogenes* отличается ветвящимися спороносами, не характерными для стрептомицетов.

Спектр проявляемой антимикробной активности позволяет предположить, что в зависимости от питательной среды штамм *S. rochei* ИНА 01452 образует несколько антимикробных веществ (см. рис. 1). Активность в отношении *L. mesenteroides* ВКПМ В-4177 проявляется на всех семи культуральных средах. На среде 330 в культуральной жидкости образуются вещества, активные в отношении всех четырёх тест-штаммов. Активность против *M. smegmatis* mc² 155 выявлена на шести средах из семи, исключение составляет среда АМ. На среде АМ активность проявляется только в отношении *S. aureus* ИНА 00761 и *L. mesenteroides* ВКПМ В-4177. Таким образом, штамм *S. rochei* ИНА 01509 представляет интерес для химического изучения антимикробных веществ, преодолевающих антибиотикорезистентность бактерий.

Обсуждение

Анализ выделенных потенциальных продуцентов показал, что среди бактериальных штаммов всех таксонов, в совокупности составляющих 29 штаммов, 7 проявляют антимикробную активность, что составляет около 25% и является существенной величиной. По таксономической принадлежности продуценты относятся к двум основным группам продуцентов антибиотиков — представителям рода *Bacillus*, а именно *B. subtilis*, и актиномицетам рода *Streptomyces*.

Представители вида *B. subtilis* встречаются повсеместно и отличаются большим разнообразием образуемых антибиотиков, но большинство относится к пептидам и производным жирных кислот [15, 16] Выделенные нами штаммы также отличаются по спектру антимикробной активности (см. табл. 1), что свидетельствует о разной природе активных веществ. Среди выделенных стрептомицетов есть представитель вида *S. heliomycini*, известного в качестве продуцента резистомицина (гелиомицина) [17]. К первым открытым антибиотикам также относится боррелидин, образуемый *S. rochei* и рядом других стрептомицетов [18]. Позднее штаммы *S. rochei*, проявляющие антимикробную активность, были выделены из морской воды Бенгальского залива у юго-восточного побережья Индии, плоскогорья Декан на западном побережье Индии, из ризосферы сосны *Pinus brutia* на Крите и описаны образуемые ими антибиотики [18–21].

Этим антибиотикам свойственна антибактериальная активность в отношении ряда грампо-

ложительных и грамотрицательных бактерий с множественной лекарственной устойчивостью, патогенных и фитопатогенных грибов. Нами впервые описана активность *S. rochei* ИНА 01452 и ИНА 01509 в отношении *M. smegmatis*, используемого в качестве тест-объекта при поиске противотуберкулёзных средств (см. табл. 1). Нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК штамма ИНА 01523 на 99,02% совпадает с последовательностями типовых штаммов *S. swartbergensis* HMC13 и *S. marokkonensis* LMG 23016.

Вид *S. swartbergensis* описан относительно недавно (в 2018 г.), и антибиотики у этого вида в настоящее время не идентифицированы, но отмечена активность в отношении *M. aurum* и *S. aureus* [22]. Вид *S. marokkonensis* описан в 2009 г. как новый продуцент пентаенполиенового макролида изочайнина, который подавляет рост патогенных дрожжей и фитопатогенных грибов [23]. Кроме того, был исследован геном штамма *S. marokkonensis* M10, выделенного из морских организмов [24]. Анализ потенциальных кластеров генов, связанных с вторичными метаболитами, привёл к идентификации не менее 3 поликетидсинтаз (PKS), 6 нерибосомальных пептидсинтаз (NRPS), 1 гибридного NRPS-PKS, 2 лантибиотических и 5 кластеров генов биосинтеза терпенов. Авторами было обнаружено, что один кластер генов PKS имеет высокое нуклеотидное сходство с кластером генов кандицидина/FR008, что указывает на способность *S. marokkonensis* продуцировать полиеновые макролиды. В ходе исследования были выделены два соединения семейства полиенов PF1 и PF2. Полиеновые антибиотики являются антимикотиками природного происхождения, среди которых наиболее известными являются амфотерицин В, нистатин и кандицидин.

Нами отмечена активность *Streptomyces* sp. ИНА 01523 в отношении метициллинорезистентного стафилококка, микобактерий и двух штаммов кишечной палочки, а также отсутствие противогрибковой активности (см. табл. 1), что делает целесообразным уточнение видовой принадлежности штамма и изучение образуемых им антимикробных соединений.

Поскольку антибиотики относятся к вторичным метаболитам, возможны штаммовые различия в рамках вида, выработанные в ходе эволюции. Особенно это относится к широко встречаемым видам, таким как *B. subtilis* и *S. rochei*.

Заключение

Поиск продуцентов антибиотиков из почвы экстремальной зоны, а именно пустыни Синайского полуострова, является целесообразным, поскольку четверть выделенных бактерий проявляет антимикробную активность. Среди них

наиболее перспективными потенциальными продуцентами являются штаммы *S. rochei* ИНА 01452, ИНА 01509 и *Streptomyces* sp. ИНА 01523. Выделение и очистку антимикробных веществ целесообразно проводить с биоконтролем в отношении *M. smegmatis* (штаммы mc² 155 и ВКПМ Ас 1339) и *S. aureus* ИНА 00761 (MRSA), соответственно.

Дополнительная информация

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № АААА-А18-118011650006-5).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов. Кандыба А. Л. — выделение микроорганизмов, анализ литературы, написание статьи; Храмова Е. В. — видовая идентификация; Васильева Б. Ф. — определение антимикробного спектра культуральных жидкостей; Бойкова Ю. В. — проведение ферментаций; Глухова А. А. — закладка на длительное хранение и паспортизация штаммов; Ефименко Т. А. — ге-

нетический анализ продуцентов антимикробных веществ, написание статьи; Ефременкова О. В. — постановка задачи, разработка схемы исследования, анализ данных, написание статьи.

Additional information

Acknowledgments. The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (theme No. АААА-А18-118011650006-5).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Participation of the authors. Kandyba A. L. — microorganisms isolation, analysis of literature, writing an article; Khramtsova E. V. — species identification; Vasilieva B. F. — determination of the antimicrobial spectrum of cultural fluids; Boykova Yu. V. — biosynthesis; Glukhova A. A. — long-term storage and certification of strains; Efimenko T. A. — genetic analysis of the producers of antimicrobial substances, writing an article; Efremenkova O. V. — setting the problem, developing a research scheme, data analysis, writing an article.

Литература/References

- O'Neill J. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations. Review on Antimicrobial Resistance. Wellcome Trust and HM Government. 2016. https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf;
- WHO. Global antimicrobial resistance surveillance system (GLASS) report: early implementation 2020. Geneva: World Health Organization; 25 May 2020.
- WHO Regional Office for Europe/European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022–2020 data. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2022.
- Bérdy J. Bioactive Microbial Metabolites. J Antibiot. 2005; 58 (1): 1–26. doi: 10.1038/ja.2005.1.
- Bérdy J. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. J Antibiot. 2012; 65 (8): 385–395. doi: 10.1038/ja.2012.27.
- Xie F, Pathom-aree W. Actinobacteria from desert: diversity and biotechnological applications. Front Microbiol. 2021; 12: Article 765531. doi: 10.3389/fmicb.2021.765531.
- Kamjam M., Sivalingam P., Deng Z., Hong K. Deep sea actinomycetes and their secondary metabolites. Front Microbiol. 2017; 8: 760. doi: 10.3389/fmicb.2017.00760.
- van der Meij A., Worsley S.E., Hutchings M.I., van Wezel G.P. Chemical ecology of antibiotic production by actinomycetes. FEMS Microbiology Reviews. 2017; 41 (3): 392–416. doi: 10.1093/femsre/fux005.
- Donald L., Pipite A., Taufa T., Owen J.G., Keyzers R.A., Subramani R. Streptomyces: still the biggest producer of new natural secondary metabolites, a current perspective. Microbiol Res. 2022; 13 (3): 418–465. doi: 10.3390/microbiolres13030031.
- Hozzein W.N., Ali M.I.A., Ahmed M.S. Antimicrobial activities of some alkaliphilic and alkaline-resistant microorganisms isolated from Wadi Araba, the eastern desert of Egypt. Life Sci J. 2013; 10 (4): 1823–1828.
- Kumar S., Solanki D.S., Parihar K., Tak A. Actinomycetes isolates of arid zone of Indian Thar Desert and efficacy of their bioactive compounds against human pathogenic bacteria. Biol Futur. 2021; 72: 431–440.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGAX: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. Mol Biol Evol. 2018; 35 (6): 1547–1549. doi: 10.1093/molbev/msy096.
- Shirling E.B., Gottlieb D. Methods for characterization of Streptomyces species. Int J Syst Bacteriol. 1966; 16 (3): 313–340. doi:0.1099/00207713-16-3-313.
- Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова Т.П., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. М.: Наука; 1983.
- [Gauze G.F., Preobrazhenskaya T.P., Sveshnikova T.P., Terekhova L.P., Maksimova T.S. Opredelitel' aktinomitsetov. Moscow: Nauka; 1983. (in Russian)]
- Caulier S., Nannan C., Gillis A., Licciardi E., Bragard C., Mahillon J. Overview of the Antimicrobial compounds produced by members of the Bacillus subtilis group. Front Microbiol. 2019; (10): article 302. doi: 10.3389/fmicb.2019.00302.
- Stein T. Bacillus subtilis antibiotics: structures, syntheses and specific functions. Mol Microbiol. 2005; 56 (4): 845–857. doi: 10.1111/j.1365-2958.2005.04587.x.
- Brockmann H., Schmidt-Kastner G. Resistomycin, ein neues antibiotikum aus actinomyceten. Naturwissenschaften 1951; 38: 479–480. (in German). doi: 10.1007/BF00622090.
- Berger J., Jampolsky L.M., Goldberg M.W. Borrelidin, a new antibiotic with anti-borrelia activity and penicillin enhancement properties. Arch Biochem. 1949; 22 (3): 476–478.
- Reddy N.G., Ramakrishna D.P.N., Rajagopal S.V. Optimization of culture conditions of Streptomyces rochei (MTCC 10109) for the production of antimicrobial metabolites. Egyptian Journal of Biology, 2011; 13: 21–29. doi:10.4314/ejb.v13i1.4.
- Pazhanimurugan R., Radhakrishnan M., Shanmugasundaram T., Gopikrishnan V., Balagurunathan R. Terpenoid bioactive compound from Streptomyces rochei (M32): taxonomy, fermentation and biological activities. World J Microbiol Biotechnol. 2016; 32 (10): 161. doi: 10.1007/s11274-016-2121-5.
- Kanini G.S., Katsifas E.A., Savvides A.L., Karagouni A.D. Streptomyces rochei ACTA1551, an indigenous Greek isolate studied as a potential biocontrol agent against Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici. Biomed Res Int. 2013; 2013: 387230. doi: 10.1155/2013/387230.
- le Roes-Hill M., Prins A., Meyers P.R. Streptomyces swartbergensis sp. nov., a novel tyrosinase and antibiotic producing actinobacterium. Antonie van Leeuwenhoek. 2018; 111: 589–600. doi: 10.1007/s10482-017-0979-3.
- Bouizgarne B., Lanoot B., Loqman S., Spröer C., Klenk H.P., Swings J., Ouhdouch Y. Streptomyces marokkonensis sp. nov., isolated from rhizosphere soil of Argania spinosa L. Int J Syst Evol Microbiol. 2009; 59 (Pt 11): 2857–2863. doi: 10.1099/ijs.0.011387-0.
- Chen L., Lai Y.M., Yang Y.L., Zhao X. Genome mining reveals the biosynthetic potential of the marine-derived strain Streptomyces marokkonensis M10. Synth Syst Biotechnol. 2016; 1 (1): 56–65. doi: 10.1016/j.synbio.2016.02.005.

Поступила / Received 16.06.2024
Принята в печать / Accepted 15.07.2024

Информация об авторах

Кандыба Анастасия Леонидовна — инженер, сектор поиска природных соединений, преодолевающих устойчивость бактерий, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия

Храмцова Екатерина Вадимовна — инженер, сектор поиска природных соединений, преодолевающих устойчивость бактерий, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия

Васильева Бязиля Фейзулловна — научный сотрудник, сектор поиска природных соединений, преодолевающих устойчивость бактерий, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-9077-1965

Бойкова Юлия Вадимовна — научный сотрудник, сектор поиска природных соединений, преодолевающих устойчивость бактерий, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-1128-7460

Глухова Алла Алексеевна — научный сотрудник, сектор поиска природных соединений, преодолевающих устойчивость бактерий, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-0561-4709

Ефименко Татьяна Александровна — к. б. н., старший научный сотрудник, сектор поиска природных соединений, преодолевающих устойчивость бактерий, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-9632-6854

Ефременкова Ольга Владимировна — к. б. н., зав. сектором, сектор поиска природных соединений, преодолевающих устойчивость бактерий, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-3131-1031

About the authors

Anastasia L. Kandyba — engineer, Sector for Searching for Natural Compounds that Overcome Bacterial Resistance, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia

Ekaterina V. Khramtsova — engineer, Sector for Searching for Natural Compounds that Overcome Bacterial Resistance, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia

Byazilia F. Vasilieva — Research Fellow, Sector for Searching for Natural Compounds that Overcome Bacterial Resistance, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-9077-1965

Julia V. Boykova — Research Fellow, Sector for Searching for Natural Compounds that Overcome Bacterial Resistance, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-1128-7460

Alla A. Glukhova — Researcher, Sector for Searching for Natural Compounds that Overcome Bacterial Resistance, Gause Institute of New Antibiotics Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-0561-4709

Tatiana A. Efimenko — Ph. D. in Biology, Senior Researcher, Sector for Searching for Natural Compounds that Overcome Bacterial Resistance, Gause Institute of New Antibiotics Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-9632-6854

Olga V. Efremenkova — Ph. D. in Biology, Head of Sector, Sector for Searching for Natural Compounds that Overcome Bacterial Resistance, Gause Institute of New Antibiotics Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-3131-1031