

Выделение актиномицетов редких родов — продуцентов антибиотиков из почв с применением сока *Aloe arborescens*

*О. Н. СИНЁВА

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Российская Федерация

Isolation of Rare Genera of Actinomycetes — Antibiotic Producers from Soils Using *Aloe Arborescens* Juice

*OLGA N. SINEVA

Gause Institute of New Antibiotics Moscow, Russian Federation

Резюме

В настоящее время актуальной проблемой является поиск новых антибиотиков, в связи с распространением устойчивости патогенных микроорганизмов к существующим антибактериальным препаратам. Актиномицеты являются продуцентами большого количества антибиотиков, применяемых в медицине. Большинство антибиотиков выделено из актиномицетов рода *Streptomyces*, в то же время актиномицеты редких родов могут быть продуцентами новых антибиотиков.

Цель: изучить влияние комплекса биологических веществ сока алоэ на стимуляцию роста актиномицетов редких родов.

Материал и методы. Объекты: образцы дерново-подзолистой почвы и чернозёма. Для выделения актиномицетов использовали стандартный метод посева почвенных суспензий на овсяный агар и среду № 2 Гаузе. Хемотаксономические признаки определяли с помощью методов восходящей тонкослойной хроматографии. Родовую принадлежность культур определяли по определителю Берджи и материалам сравнения состава клеточных стенок актинобактерий. Для изучения геносистематических признаков проводили выделение ДНК, полимеразную цепную реакцию со стандартными праймерами 27f и 1492r, секвенирование по Сенгеру. Антибиотическую активность определяли в отношении тест-микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ИНА 00985 (FDA 209P), *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA), *Staphylococcus aureus* ИНА 00762 (УФ-2), *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Saccharomyces cerevisiae* ИНА 01042.

Результаты. При добавлении сока алоэ из образцов дерново-подзолистой почвы и чернозёма выделено 527 культур актиномицетов, определено их филогенетическое положение. Доминирующими актиномицетами в исследованных образцах почвы являются представители рода *Streptomyces*. На втором месте по количеству выделенных культур — представители рода *Micromonospora*. Выделены также актиномицеты редких родов: *Nonomuraea*, *Streptosporangium*, *Nocardia*, *Actinomadura*, *Actinocorallia*, *Pseudonocardia*, *Amycolatopsis*, *Saccharomonospora*, *Saccharopolyspora*, *Promicromonospora*, *Kribbella*. Установлено, что выделенные культуры обладают антибиотической активностью в отношении тест-микроорганизмов.

Заключение. Для выделения актиномицетов из почвы и выявления их биоразнообразия целесообразно применять сок алоэ, предварительно подвергнув листья биостимуляции.

Ключевые слова: продуценты антибиотиков; актиномицеты; сок алоэ; *Streptomyces*

Для цитирования: Синёва О. Н. Выделение актиномицетов редких родов — продуцентов антибиотиков из почв с применением сока *Aloe arborescens*. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 9–10: 4–11. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-4-11.

Abstract

The search for new antibiotics is an urgent problem due to the spread of resistance to existing antibacterial drugs in pathogenic microorganisms. Actinomycetes are producers of a large number of antibiotics used in medicine. Most antibiotics are isolated from actinomycetes of the *Streptomyces* genus, while rare genera of actinomycetes can be the producers of new antibiotics.

The aim of the study is to investigate the effect of the biological substances complex present in aloe juice on the growth stimulation of rare genera of actinomycetes.

Material and methods. Objects: samples of sod-podzolic soil and chernozem. The standard method of sowing soil suspensions on oat agar and Gause medium No. 2 was used to isolate actinomycetes. Chemotaxonomic properties were determined using the methods of ascending thin-layer chromatography on a cellulose layer. The generic identity of cultures was determined using Bergey's manual and materials comparing the composition of cell walls of actinobacteria. DNA PCR with standard 27f and 1492r primers, as well as Sanger sequencing, were performed to study genosystematic features. Antibiotic activity was determined against the test microorganisms: *Staphylococcus*

© Коллектив авторов, 2021

*Адрес для корреспонденции: ул. Большая Пироговская, д. 11, стр. 1, НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе г. Москва, Российская Федерация, 119021. E-mail: olga.sineva81@yandex

© Team of Authors, 2021

*Correspondence to: 11 bld 1 Bolshaya Pirogovskaya st., Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, 119021 Russian Federation. E-mail: olga.sineva81@yandex

aureus ИНА 00985 (FDA 209P), *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA), *Staphylococcus aureus* ИНА 00762 (УФ-2), *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Saccharomyces cerevisiae* ИНА 01042.

Results. A total of 527 actinomycete cultures were isolated from samples of sod-podzolic soil and chernozem with the addition of aloe juice; their phylogenetic position was determined. The dominant actinomycetes in the studied soil samples are the representatives of the genus *Streptomyces*. Bacteria of the genus *Micromonospora* take the second place by the number of isolated cultures. Rare genera of actinomycetes have also been identified: *Nonomuraea*, *Streptosporangium*, *Nocardia*, *Actinomadura*, *Actinocorallia*, *Pseudonocardia*, *Amycolatopsis*, *Saccharomonospora*, *Saccharopolyspora*, *Promicromonospora*, *Kribbella*. It was determined that the isolated cultures possess antibiotic activity against test microorganisms.

Conclusion. It is advisable to use aloe juice after subjecting the leaves to biostimulation to isolate actinomycetes from the soil and identify their biodiversity.

Keywords: antibiotic producers; actinomycetes; aloe juice; *Streptomyces*

For citation: Sineva O. N. Isolation of rare Genera of actinomycetes — antibiotic producers from soils using *Aloe Arborescens* juice. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66: 9–10: 4–11. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-9-10-4-11.

Введение

Большинство используемых в медицине антимикробных препаратов разработано на основе природных метаболитов бактерий и грибов. Актиномицеты, грамположительные мицелиальные бактерии порядка *Actinomycetales* являются продуцентами таких классов антибиотиков, как макролиды, антрациклины, полиэфирные антибиотики, циклополилактоны, аминокликозиды, стрептотрицины, актиномицины, хиноксалиновые пептиды, гликопептиды и др. Для поиска актиномицетов — продуцентов биологически активных соединений разрабатываются методы селективной изоляции [1]. В качестве селективных агентов для выделения культур актиномицетов из природных источников широко используют антибиотики, антифунгальные препараты или их комбинации [2–4], применяют обработку сухим жаром [5, 6], химическими веществами [6], используют вещества растительного или животного происхождения [7, 8], также применяют комплексные методы [9–11].

В нашем исследовании для выделения актиномицетов был использован сок Алоэ древовидного (*Aloe arborescens*) — вид растений рода Алоэ семейства Асфоделовые. Сок алоэ содержит биологически активные вещества: алоэ-эмодин (гидроксиантрахинон, который обладает антибактериальным, противогрибковым, противовирусным действием) [12–15], аминокислоты, стероиды, производные антрацена, эфирные масла, органические кислоты, аллантоин, полисахариды, флавоноиды, микроэлементы, сок богат ферментами, витаминами, содержит бета-каротин и др. [13, 16].

Материал и методы

Объектами исследования были образцы дерново-подзолистого почва (образец № 1, отобранный в г. Москве) и чернозёма (образец № 2, отобранный в Оренбургской области). Образцы почвы были отобраны в летний период из верхних горизонтов почвы (горизонт А).

Для выделения и дифференцированного подсчёта колоний актиномицетов использовали стандартный метод посева почвенных суспензий на плотные питательные среды — овся-

ный агар и органический агар № 2 Гаузе [17, 18]. Для приготовления почвенных суспензий использовали сок алоэ, выделенный по методике: срезанные листья алоэ древовидного помещали в тёмное место при температуре +4°C на 10 дней. Листья протирали 70% этиловым спиртом, разрезали и отжимали сок. Свежевыжатый сок пропускали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм. Полученный фильтрат добавляли в пробирку с дистиллированной стерильной водой, конечная концентрация сока алоэ составляла 10 и 50%. Посевы инкубировали в термостате при температуре 28°C в течение 14 дней.

Количество актиномицетов в 1 г почвы определяли по числу колоний, выросших на твёрдой питательной среде. Далее колонии выделяли в чистую культуру на среду № 2 Гаузе и овсяный агар и определяли систематическое положение выделенных культур.

Для оценки численности актиномицетов в почве и обработки данных, полученных при хранении актиномицетов, использовали методы математической статистики, достоверность принимали равной 0,95 [19]. Статистическую обработку данных проводили в программе Excel 2010 (Microsoft Inc., 2011).

Изучение фенотипических признаков: культуры, выращенные на овсяном агаре, просматривали в микроскоп OLIMPUS BX-41, культуральные признаки определяли по окраске воздушного и субстратного мицелия.

Хемотаксономические признаки (наличие изомеров диаминопимелиновой кислоты (ДАПК) и анализ дифференцирующих сахаров в гидролизатах клеток определяли с помощью методов восходящей тонкослойной хроматографии в целлюлозном слое [20].

Используя полученные данные о составе клеточных стенок, определяли родовую принадлежность культур по определителю Берджи [21] и материалам сравнения состава клеточных стенок у актинобактерий [22].

Для изучения геносистематических признаков проводили сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК.

Выделение ДНК и полимеразную цепную реакцию проводили согласно методике Н. А. Манучаровой [23], используя набор для выделения Power Soil DNA Isolation Kit (MO BIO, США). Для проведения полимеразной цепной реакции использовали праймеры: 27f (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') и 1492r (5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3') фирмы «СИНТОЛ» (Россия). Амплификацию проводили на автоматическом амплификаторе 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems, США). Для ПЦР-амплификации использовали набор реагентов фирмы «Thermo Fisher Scientific» (США).

Очистку амплифицированной ДНК от праймеров и других компонентов ПЦР-реакции проводили методом прямого переосаждения ДНК в мягких условиях (<http://www.genomecentre.ru/info.html>). Для определения нуклеотидной последовательности использовали праймеры: 27f, 1492r, 341f — gcd

(5'-ССТACGGGAGGCAGCAG — 3'), 785f (5'-GGMTTAGA-TACCTGGTAGTCC-3'), фирмы «СИНТОЛ» (Россия). Реакция секвенирования проводили на автоматическом амплификаторе 2720 Thermal Cycler (Applied Biosystems, США). Секвенирование проводили на автоматическом капиллярном секвенаторе 3500 Genetic Analyser (Applied Biosystems, США) с использованием реагентов BigDye Terminator v3 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США), в соответствии с рекомендациями производителя.

Идентификацию актиномицетов осуществляли методом сравнения нуклеотидной последовательности ПЦР-фрагментов генов 16S рРНК с последовательностями, представленными в базе данных GenBank NCBI по протоколу nBLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) и Ribosomal Database Project (<http://rdp.cme.msu.edu>). Дендрограммы были построены с помощью алгоритма «neighbor-joining» в программе MEGA 6.

Выделенные из почвы культуры были проверены на антибиотическую активность (методом перпендикулярных штрихов и методом агаровых лунок) в отношении тест-организмов: *Staphylococcus aureus* ИНА 00985 (FDA 209P), *S. aureus* ИНА 00761 (MRSA), *S. aureus* ИНА 00762 (УФ-2), *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Saccharomyces cerevisiae* ИНА 01042.

Состав жидких питательных сред: среда А4: соя — 10,0 г/л, глюкоза — 10,0 г/л, NaCl — 5,0 г/л, CaCO₃ — 2,5 г/л, дистиллированная вода; pH=7,2–7,4; среда «сах»: сахара — 20,0 г/л, соя — 10,0 г/л, KNO₃ — 2,0 г/л, NaCl — 3,0 г/л, CaCO₃ — 3,0 г/л, дистиллированная вода; pH=7,0.

Результаты и обсуждение

Исследование влияния сока алоэ на выделение актиномицетов из почвенных образцов показало, что сок алоэ, добавленный в почвенные суспензии в концентрациях 10 и 50%, способствует увеличению количества выделенных актиномицетов. Данная закономерность установлена для обоих типов почв (рис. 1, 2).

Идентификация на основании морфологических и хемотаксономических признаков выделенных актиномицетов позволила оценить соотношение количества выделенных актиномицетов

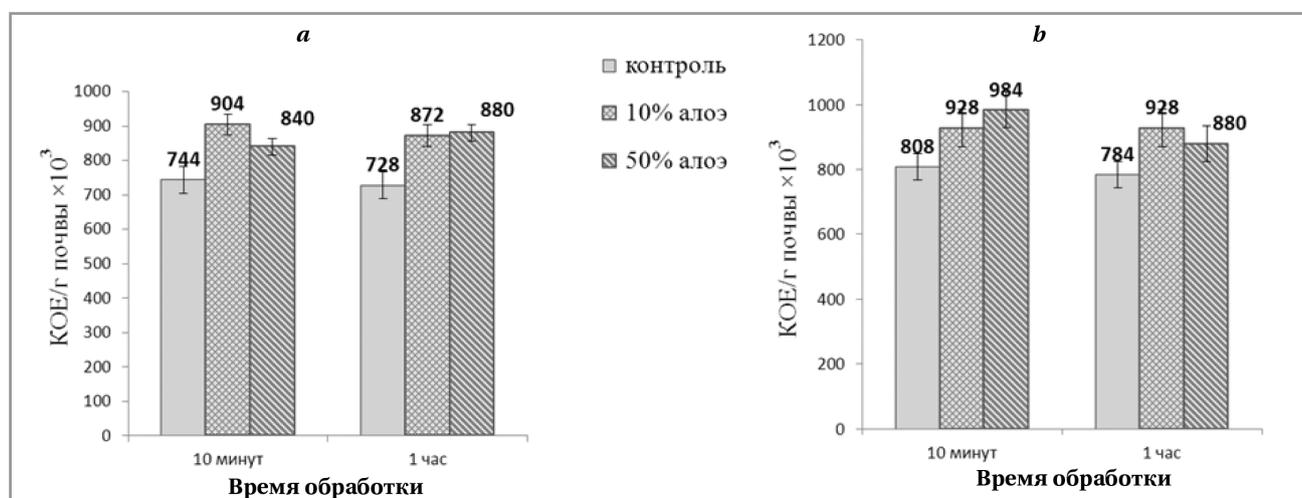


Рис. 1. Количество актиномицетов, выделенных из образца чернозёма: а — овсяная среда; б — среда № 2 Гаузе.
Fig. 1. The number of actinomycetes isolated from a sample of chernozem: а — oat medium, б — Gauze medium No. 2.

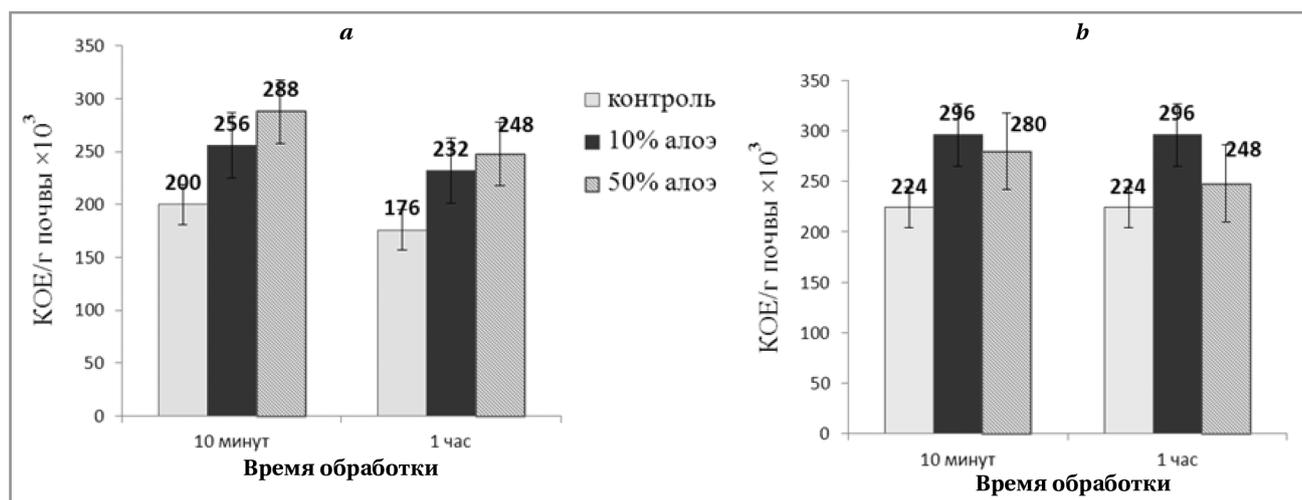


Рис. 2. Количество актиномицетов, выделенных из образца дерново-подзолистой почвы: а — овсяная среда; б — среда № 2 Гаузе.
Fig. 2. The number of actinomycetes isolated from a sample of sod-podzolic soil: а — oat medium; б — Gauze medium No. 2.

широко распространённого рода *Streptomyces* и актиномицетов редких родов. Для образца чернозёма было отмечено высокое содержание актиномицетов редких родов: 21–24% — в контроле и 22–29% — в опытных вариантах с добавлением сока алоэ при культивировании на среде № 2 Гаузе, 14–16% — в контроле и 18–19% — в опытных вариантах при культивировании на овсяной среде. Самый большой процент культур актиномицетов редких родов (29%) был выявлен при добавлении 50% сока алоэ, выдерживании суспензии 10 мин и посеве на среду № 2 Гаузе. Доля выделенных актиномицетов редких родов в дерново-подзолистой почве была меньше: 8–10% — в контроле и 11–18% — в опытных вариантах при культивировании на среде № 2 Гаузе, 16–17% — в контроле и

16–24% — в опытных вариантах при культивировании на овсяной среде. Таким образом, использование сока алоэ помогло увеличить долю выделенных актиномицетов редких родов из образца дерново-подзолистой почвы.

В большинстве вариантов при добавлении сока алоэ наблюдалось пропорциональное увеличение количества выделенных колоний актиномицетов редких родов и колоний актиномицетов, распространённого рода *Streptomyces*, т. е. были созданы условия для активного роста представителей обеих групп актиномицетов, но в некоторых вариантах удалось увеличить долю выделенных актиномицетов редких родов.

Всего в ходе работы в чистую культуру было выделено 527 штаммов актиномицетов. Предварительная идентификация выделенных культур актиномицетов показала, что 426 штаммов актиномицетов относятся к роду *Streptomyces*, 44 штамма — к распространённому роду *Micromonospora*, 57 штаммов — к другим редким родам: *Nonomuraea*, *Streptosporangium*, *Nocardia*, *Actinomadura*, *Actinocorallia*, *Pseudonocardia*, *Amycolatopsis*, *Saccharomonospora*, *Saccharopolyspora*, *Promicromonospora*, *Kribbella*.

На втором месте по количеству выделенных колоний в обоих типах почв были актиномицеты рода *Micromonospora*, из образца дерново-подзолистой почвы была выделена 21 культура, из образца чернозёма 23 культуры микромоноспор.

Филогенетический анализ был проведён для 6 культур — *Micromonospora* sp. OS/1, *Micromonospora* sp. OS/2, *Micromonospora* sp. OS/3, *Micromonospora* sp. OS/4, *Micromonospora* sp. OS/5, *Micromonospora* sp. OS/6, проявляющих способность к синтезу антибиотиков. Культуры под номерами OS/1, OS/2, OS/3 были выделены из образца дерново-подзолистой почвы, культуры под номерами OS/4, OS/5, OS/6 — из образца чернозёма. Филогенетическое дерево для данных культур приведено на рис. 3.

В обоих типах почв присутствовали актиномицеты

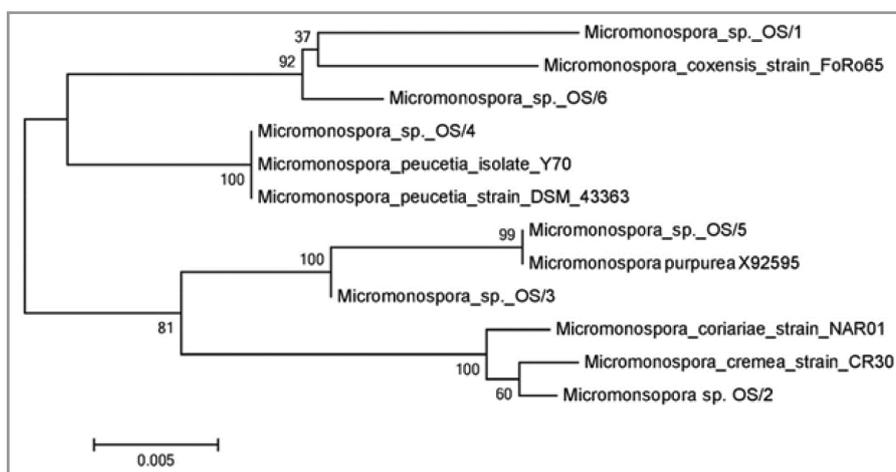


Рис. 3. Филогенетическое дерево культур рода *Micromonospora*.
Fig. 3. Phylogenetic tree of cultures of the *Micromonospora* genus.

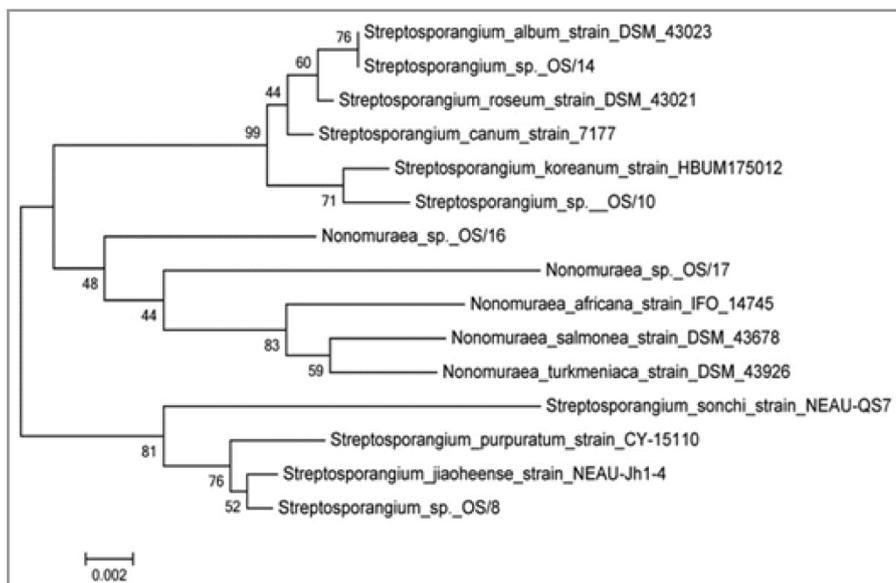


Рис. 4. Филогенетическое дерево культур родов *Streptosporangium* и *Nonomuraea*.
Fig. 4. Phylogenetic tree of cultures of the *Streptosporangium* and *Nonomuraea* genera.

семейства *Streptosporangiaceae*. Из образца чернозёма было выделено 6 культур актиномицетов рода *Streptosporangium* и 3 культуры рода *Nonomuraea*; из дерново-подзолистой почвы 3 культуры рода *Streptosporangium* и 2 культуры рода *Nonomuraea*. Для 5 культур семейства *Streptosporangiaceae* было установлено филогенетическое положение (рис. 4).

В экспериментах было выделено 13 культур — представителей рода *Nocardia* (OS21-OS33). Все изоляты формировали хорошо развитый субстратный мицелий, некоторые культуры формировали воздушный мицелий. Представители данного рода присутствовали как в дерново-подзолистой почве, так и в чернозёме. Для 8 культур был проведён филогенетический анализ (рис. 5).

В проведённых опытах были выделены представители семейства *Thermomonosporaceae*: 8 культур, отнесённых к роду *Actinomadura* (штаммы OS/34, OS/35, OS/36, OS/37) были выделены из образца дерново-подзолистой почвы, OS/38, OS/39, OS/40, OS/41 — из образца чернозёма) и одна культура под номером OS/42, была отнесена к роду *Actinocorallia* (выделена из чернозёма). Филогенетическое положение выделенных культур родов *Actinomadura* и *Actinocorallia* представлено на рис. 6.

Среди выделенных культур к семейству *Pseudonocardiaceae* было отнесено 11 культур актиномицетов. Из образца дерново-подзолистой почвы было выделено 4 культуры рода *Pseudonocardia* OS/43-OS/46 и одна культура OS/47 была выделена из образца чернозёма. Филогенетическое положение выделенных культур актиномицетов рода *Pseudonocardia* представлено на рис. 7.

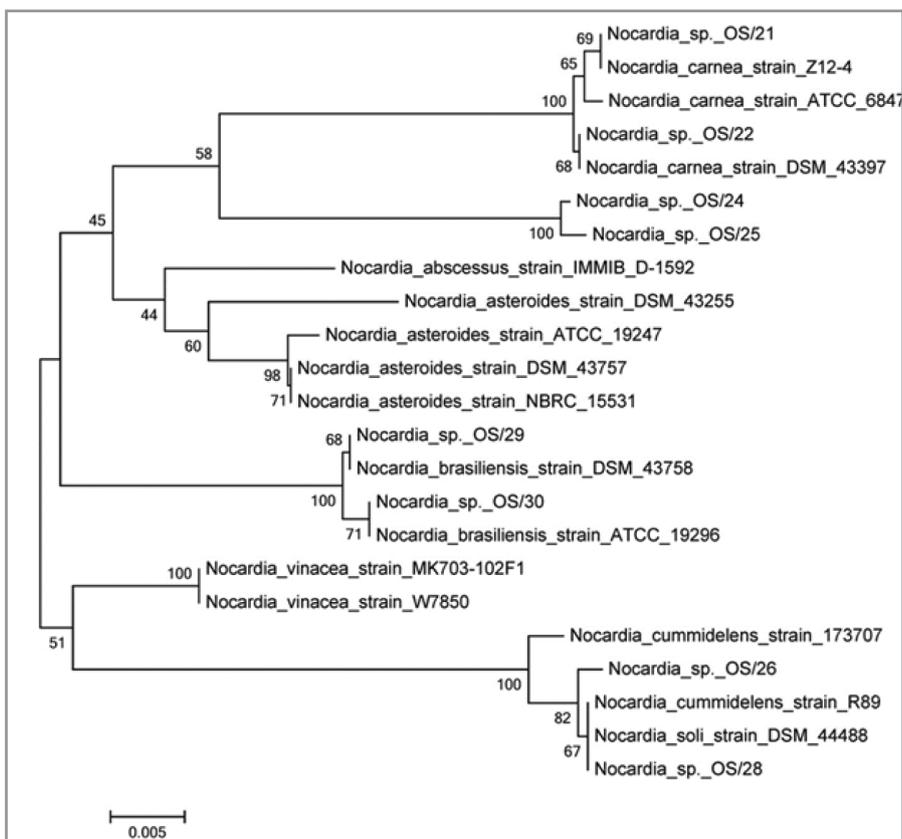


Рис. 5. Филогенетическое дерево культур рода *Nocardia*.
Fig. 5. Phylogenetic tree of cultures of the *Nocardia* genus.

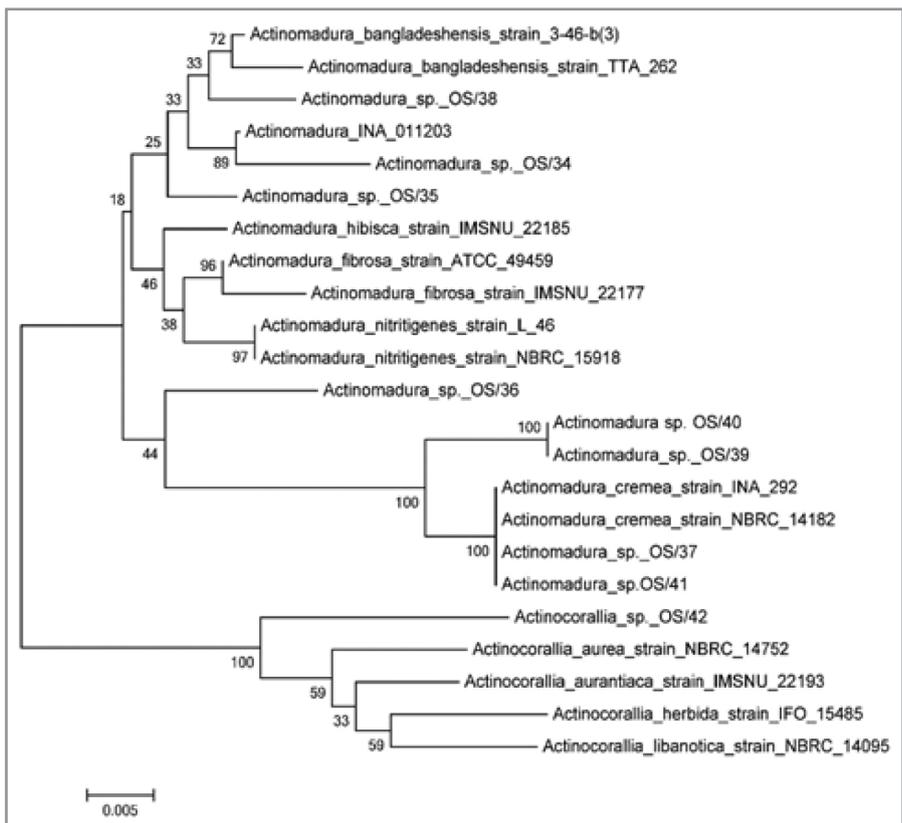


Рис. 6. Филогенетическое дерево культур семейства *Thermomonosporaceae*.
Fig. 6. Phylogenetic tree of cultures of the *Thermomonosporaceae* family.

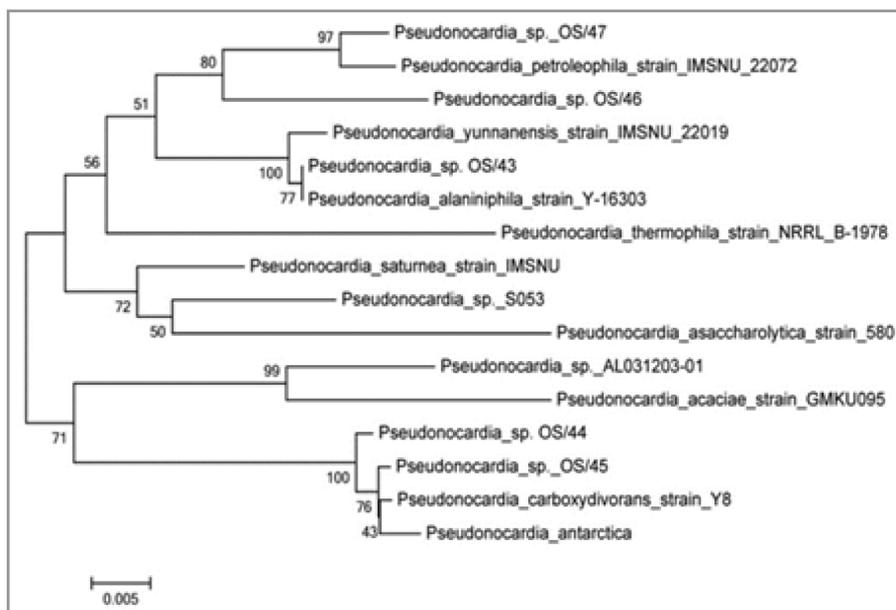


Рис. 7. Филогенетическое дерево культур актиномицетов рода *Pseudonocardia*.

Fig. 7. Phylogenetic tree of actinomycete cultures of the *Pseudonocardia* genus.

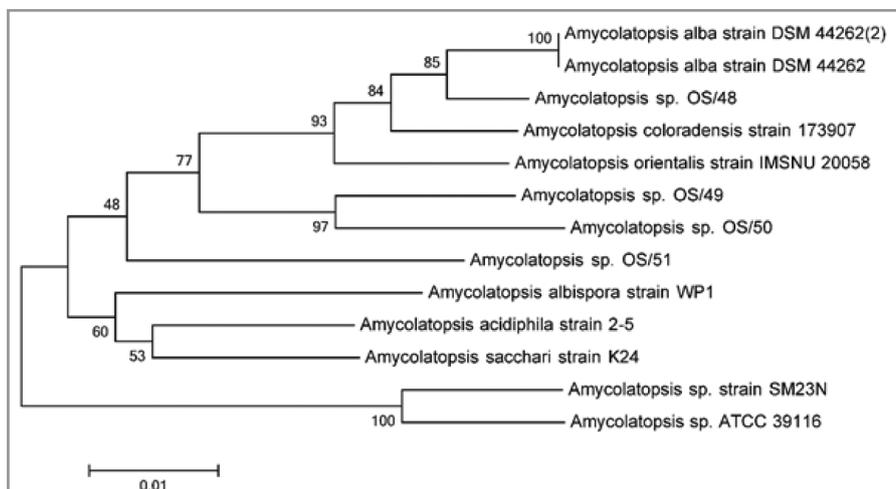


Рис. 8. Филогенетическое дерево культур актиномицетов рода *Amycolatopsis*.

Fig. 8. Phylogenetic tree of actinomycete cultures of the *Amycolatopsis* genus.

К роду *Amycolatopsis* было отнесено 4 культуры под номерами OS/48-OS/51, все культуры были выделены из образца дерново-подзолистой почвы. Филогенетическое положение культур рода *Amycolatopsis* представлено на рис. 8.

Из образца чернозёма были выделены культуры: *Saccharopolyspora* sp. OS/56, *Saccharomonospora* sp. OS/57, *Promicromonospora* sp. OS/54 и *Promicromonospora* sp. OS/55, *Kribbella* sp. OS/52. Из дерново-подзолистой почвы — *Promicromonospora* sp. OS/53.

Результаты первичного определения антибиотической активности показали, что 369 штам-

мов актиномицетов активны в отношении грамположительных тест-организмов, 79 штаммов актиномицетов активны в отношении грамотрицательных бактерий, 52 штамма актиномицетов проявляли активность в отношении дрожжей. Большинство активных культур принадлежало к роду *Streptomyces*.

Антибиотическая активность культур актиномицетов редких родов представлена в табл. 1, 2. Изученные культуры не обладали антибиотической активностью в отношении грамотрицательных тест-организмов. Четыре культуры; *Nocardia* OS/28, *Saccharopolyspora* OS/56 *Saccharomonospora* OS/57 и *Promicromonospora* sp. OS/53 были активны в отношении *Saccharomyces cerevisiae*. Выявлена антибиотическая активность у штаммов *Nonotiraea* sp. OS/16, *Nonotiraea* sp. OS/17 (см. табл. 2).

В экспериментах было показано стимулирующее действие сока алоэ на рост актиномицетов, так же было отмечено снижение количества посторонней микробиоты (немицелиальных бактерий и грибов).

Известно, что сок алоэ содержит биологически активные вещества — биогенные стимуляторы, которые представляют собой сложный комплекс веществ (органические кислоты, аминокислоты, гуминовые соединения, фосфолипиды, витамины, мик-

роэлементы и др.) [24]. Действие данных веществ стимулировало прорастание спор актиномицетов. Угнетение роста бактериальных и грибных колоний на чашках Петри можно объяснить присутствием в соке алоэ эмолина, обладающего антибактериальным и антифунгальным действием.

Выявленные отличия между образцами почв в количестве выделенных актиномицетов (из образца чернозёма было выделено в 3,5 раза больше колоний актиномицетов, чем из образца дерново-подзолистой почвы) согласуются с данными литературы — актиномицеты являются гетеротрофами, в чернозёмах, богатых гумусом,

Таблица 1. Антибиотическая активность культур актиномицетов редких родов
Table 1. Antibiotic activity of cultures of rare genera actinomycetes

Штаммы актиномицетов	Антибиотическая активность в отношении тест-микроорганизмов (зоны подавления, мм)				
	<i>S.aureus</i> ИНА 00985	<i>S.aureus</i> ИНА 00761 (MRSA)	<i>S.aureus</i> ИНА 00761 (УФ-2)	<i>M.luteus</i> ATCC 9341	<i>B.subtilis</i> ATCC 6633
Культуры рода <i>Micromonospora</i>					
OS/1	H/a	H/a	H/a	9,3±0,4	H/a
OS/2	10,5±1	10,2±0,5	10±1,2	19,8±0,3	10,2±0,2
OS/3	H/a	H/a	5±0,2	25,5±0,4	15,5±0,6
OS/4	10,2±0,2	10,2±0,7	9,7±0,6	10,5±0,5	H/a
OS/5	H/a	H/a	3,1±0,4	20,3±0,4	10,3±0,4
OS/6	10,3±0,4	H/a	10,5±0,5	20,3±0,4	5,6±0,6
Культуры рода <i>Streptosporangium</i>					
OS-10	H/a	H/a	H/a	22,2±0,8	H/a
OS-14	H/a	H/a	H/a	23,8±0,5	H/a
Культуры рода <i>Nocardia</i>					
OS/21	H/a	H/a	H/a	15,2±0,5	H/a
OS/29	11,1±0,5	H/a	H/a	17,2±0,5	H/a
OS/30	H/a	H/a	H/a	10,8±0,4	H/a
OS/32	13,9±0,6	H/a	H/a	14,5±0,5	11,1±0,5
OS/33	H/a	H/a	H/a	9,8±0,2	H/a
Культуры рода <i>Actinomadura</i>					
OS/34	H/a	H/a	H/a	5,3±0,3	5,5±0,3
OS/35	H/a	H/a	H/a	5,6±0,3	H/a
OS/36	10,9±0,5	10,5±0,3	15±0,5	5,5±0,3	5,6±0,3
OS/37	9,9±0,4	10,5±0,3	10,2±0,2	10,8±0,4	H/a
OS/39	5,5±0,3	H/a	5,6±0,3	5,5±0,3	H/a
OS/40	H/a	H/a	H/a	5,3±0,3	H/a
OS/41	5,6±0,4	5,9±0,5	5,8±0,5	H/a	H/a
Культуры рода <i>Pseudonocardia</i>					
OS/44	2,3±0,3	H/a	10,2±0,5	10,2±0,7	H/a
OS/45	10,3±0,4	H/a	2,5±0,3	3,5±0,4	H/a
Культура рода <i>Saccharomonospora</i>					
OS/57	5,6±0,3	H/a	10,5±0,5	H/a	H/a
Культура рода <i>Kribbella</i>					
OS/52	10,3±0,3	7,3±0,3	14,6±0,3	10,5±0,5	7±0,5

Примечание. Здесь и в табл. 2: H/a — антибиотическая активность не обнаружена.

Note. Here and table 2: H/a — no antibiotic activity detected.

Таблица 2. Антибиотическая активность культур рода *Nonomuraea* на 5–7 сутки роста. Среда А4.
Table 2. Antibiotic activity of cultures of the *Nonomuraea* genus on the 5–7th day of growth. A4 medium.

Штаммы рода <i>Nonomuraea</i>	Антибиотическая активность в отношении тест-микроорганизмов (зоны подавления, мм)				
	<i>S.aureus</i> ИНА 00985	<i>S.aureus</i> ИНА 00761 (MRSA)	<i>S.aureus</i> ИНА 00761 (УФ-2)	<i>M.luteus</i> ATCC 9341	<i>B.subtilis</i> ATCC 6633
OS-16	H/a	H/a	H/a	11,4±0,3	H/a
OS-17	11,5±0,3	11,4±0,4	19,4±0,3	13,3±0,3	11,1±0,4

присутствует большое количество и разнообразие актиномицетов [25]. Почвы Москвы — это почвы с низким содержанием гумуса и высоким содержанием тяжёлых металлов, что оказывает влияние на численность актиномицетов, в то же время, в данном образце почвы было обнаружено большое родовое разнообразие актиномицетов, сравнимое с образцом чернозёма.

Большинство выделенных актиномицетов обладало антибиотической активностью в отношении тест-организмов. В настоящее время большинство антибиотиков выделено из рода *Streptomyces*, но актиномицеты редких родов являются продуцентами уникальных антибиотиков, таких как рифамицин (*Amycolatopsis mediterranei*), эритромицин (*Saccharopolyspora*

erythraea), тейкопланин (*Actinoplanes teichomyceticus*), ванкомицин (*Amycolatopsis orientalis*), гентамицин (*Micromonospora purpurea*) и др. [14, 26, 27]. В нашей работе обнаружена антибиотическая активность у культур актиномицетов редких родов (*Micromonospora*, *Streptosporangium*, *Nocardia*, *Actinomadura*, *Pseudonocardia*, *Saccharomonospora*, *Saccharopolyspora*, *Kribbella*, *Nonomuraea*), которые могут быть потенциальными продуцентами новых биологически активных веществ. Стоит отметить, что культуры *Micromonospora* OS/2, *Micromonospora* OS/4, *Actinomadura* OS/36, *Actinomadura* OS/37, *Actinomadura* OS/41, *Kribbella* OS/52, *Nonomuraea* OS/17 проявляли активность в отношении метициллинорезистентного стафилококка.

Заключение

Для выделения актиномицетов редких родов из почвы и выявления их биоразнообразия целесообразно применять сок алоэ, предварительно подвергнув листья биостимуляции. Согласно про-

ведённым исследованиям, выделенные актиномицеты редких родов проявляют антибиотическую активность в отношении тест-организмов, т. е. могут быть потенциальными продуцентами новых антибиотиков.

Литература/References

- Berdy J. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. *The Journal of Antibiotics*. 2012; 65 (8): 385–395. doi: 10.1038/ja.2012.27.
- Терехова Л.П., Галатенко О.А., Алферова И.В., Преображенская Т.П. Использование селективных сред для выделения актиномицетов. Преображенская Т.П. ред., В: Поиск продуцентов антибиотиков среди актиномицетов редких родов. Гылым (Алма-Ата). 1990. [Terekhova L.P., Galatenko O.A., Alferova I.V., Preobrazhenskaya T.P. Ispol'zovanie selektivnykh sred dlya vydeleniya aktinomitsvetov. In: Preobrazhenskaya T.P. editor, Poisk produtsentov antibiotikov sredi aktinomitsvetov redkikh rodov. Gylim (Alma-Ata). 1990. (in Russians)]
- Otoguro M., Hayakawa M., Yamazaki T., Jimura Y. An integrated method for the enrichment and selective isolation of Actinocineospora spp. In soil and plant litter *J Appl Microbiol*. 2001; 91 (1): 118–130. doi: 10.1046/j.1365-2672.2001.01372.x.
- Benhadj M., Gacemi-Kirane D., Manasria T., Guebla K., Ahmane Z. Screening of rare actinomycetes isolated from natural wetland ecosystem (Fetzara Lake, northeastern Algeria) for hydrolytic enzymes and antimicrobial activities. *Journal of King Saud University — Science*. 2018; 31 (4). doi:10.1016/j.jksus.2018.03.008.
- Jiang Y., Li Q., Chen X., Jiang C. Isolation and cultivation methods of Actinobacteria. In D. Dhanasekaran (ed.). *Actinobacteria — basics and biotechnological applications*. Rijeka: InTech; 2016; 39–57. doi: 10.5772/61457.
- Singh V., Haque S., Singh H., Verma J., Vibha K., Singh R., Jawed A., Tripathi C.K.M. Isolation, screening, and identification of novel isolates of actinomycetes from India for antimicrobial applications. *Front Microbiol*. 2016; 7: 1921. doi: 10.3389/fmicb.2016.01921.
- Мачавариани Н.Г., Терехова Л.П. Новый метод выделения актиномицетов из почвы. В: Сборник научных докладов. Актуальные вопросы в современной науке. 2013. Варшава. Июнь 28–30. С. 9–12. [Machavariani N.G., Terekhova L.P. Novyi metod vydeleniya aktinomitsvetov iz pochvy. In: Sbornik nauchnykh dokladov. Aktual'nye voprosy v sovremennoi nauke. 2013. June 28–30. Varshava. S. 9–12. (in Russians).]
- Куликова Н.Г. Разработка селективных методов выделения актинобактерий — потенциальных продуцентов антибиотиков из разных экологических систем: автореф. ... Дис. ... канд. биол. наук. М.: 2017. Доступно по: https://www.gause-inst.ru/sites/default/files/2019-01/Autoref_Kulikova.pdf Ссылка активна на 26.07.2021 [Kulikova N.G. Razrabotka selektivnykh metodov vydeleniya aktinobakterii — potentsial'nykh produtsentov antibiotikov iz raznykh ehkologicheskikh sistem: avtoref ... Diss. kand. biol. nauk. — Moscow: 2017. Dostupno po: https://www.gause-inst.ru/sites/default/files/2019-01/Autoref_Kulikova.pdf Ssylka aktivna na 26.07.2021. (in Russians)]
- Waiihaka P.N., Mwaaura F.B., Wagacha J.M., Gathuru E.M. Methods of isolation actinomycetes from the soils of Menengai crater in Kenya. *Greener Journal of Microbiology and Antimicrobials*. 2017; 8 (3): 008–017. doi: 10.15580/GJMA.2017.2.041817051.
- Subramani R., Sipkema D. Marine rare actinomycetes: a promising source of structurally diverse and unique novel natural products. *Mar Drugs*. 2019; 17 (5): 249. doi: 10.3390/md17050249.
- Qiu D., Ruan J., Huang Y. Selective isolation and rapid identification of members of the genus *Micromonospora*. *App Environ Microbiol*. 2008; 74 (17): 5593–5597. doi: 10.1128/AEM.00303-08.
- Stanley M.C., Ijeanyi O.E., Eziokwu O.G. Antimicrobial effects of Aloe vera on some human pathogens. *Int J Curr Microbiol App Sci*. 2014; 3 (3): 1022–1028.
- Olennikov D.N., Ibragimov T.A., Chelombit'ko V.A., Nazarova A.V., Rokhin A.V., Zilfkarov I. N. Chemical composition of Aloe arborescens and its change by biostimulation. *Chemistry of Natural Compounds*. 2009; 45 (4): 478–482. doi: 10.1007/s10600-009-9405-z.
- Nidiry E. S. J., Ganeshan G., Loksha A.N. Antifungal activity of some extractives and constituents of Aloe vera. *Res J Med Plants*. 2011; 5 (2): 196–200. doi: 10.3923/rjmp.2011.196.200.
- Meier N., Meier B., Peter S., Wolfram E. In-Silico UHPLC method optimization for aglycones in the herbal laxatives Aloe barbadensis Mill., *Cassia angustifolia* Vahl Pods, *Rhamnus frangula* L. Bark, *Rhamnus purshianus* DC. Bark, and *Rheum palmatum* L. Roots. *Molecules*. 2017; 22 (11), 1838. doi: 10.3390/molecules22111838.
- Olennikov D.N., Zilfkarov I.N., Penzina T.A. Use of microcolumn HPLC for analysis of aloenin in Aloe arborescens raw material and related drugs. *Pharmaceu Chem J*. 47 (9): 494–497. doi: 10.1007/s11094-013-0988-0.
- Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.Л., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. М.: Наука; 1983. [Gauze G.F., Preobrazhenskaya T.P., Sveshnikova M.L., Terekhova L.P., Maksimova T.S. Opredelitel' aktinomitsvetov. Moscow: Nauka; 1983. (in Russian)]
- McCarty A.J., Williams S.T. Methods for studying the ecology of actinomycetes. *Methods in Microbiology*. 1990; 29: 583–563.
- Платонов А.Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы. М.: Издательство РАМН; 2000. [Platonov A.E. Statisticheskii analiz v meditsine i biologii: zadachi, terminologiya, logika, komp'yuternye metody. Moscow: Izdatel'stvo RAMN; 2000. (in Russians)]
- Lechevalier H.A., Lechivalier M.P., Gerber N.N. Chemical composition as a criterion in the classification of actinomycetes. *Adv Appl Microbiol*. 1971; 14: 47–72.
- Беркли Р., Бок Э., Бун Д., Бреннер Д., Васильева Л.В., Видель Ф. и др. Определитель бактерий Берджи. 9 издание. Т. 2. Пер. с англ. Хоулт Дж., Криг Н., Снит П., Стейли Дж., Уильямс С. ред. Мир, М.; 1997. [Berkley R.C.W., Bock E., Boone D. R., Brenner D.J., Vasil'eva L.V., Widdel F et al. Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed. V. 2. Holt J. G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J.T., Williams S.T., editors. Mir, Moscow; 1997.
- Yamaguchi T. Comparison of the cell-wall composition of morphologically distinct actinomycetes. *J Bacteriol*. 1965; 89: 444–453.
- Манучарова Н.А. Молекулярно-биологические методы в почвоведении и экологии: учебное пособие. М.: Университетская книга; 2014. [Manucharova N.A. Molekulyarno-biologicheskiye metody v pochvovedenii i ekologii: uchebnoye posobiye. Moscow: Universitetskaya kniga; 2014. (in Russian)]
- Соколов С.Я. Фитотерапия и фитотермакология: руководство для врачей. М.: Медицинское информационное агентство. 2000. [Sokolov S.Ya. Fitoterapiya i fitofarmakologiya: rukovodstvo dlya vrachei. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo. 2000. (in Russians)]
- Добровольская Т.Г., Зязгинцев Д.Г., Чернов И.Ю., Головченко А.В., Зенова Г.М., Лысак Л.В., Манучарова Н.А., Марфенина О.Е., Полянская Л.М., Степанов А.Л., Умаров М.М. Роль микроорганизмов в экологических функциях почв. Почвоведение. 2015; 9: 1087–1096. doi: 10.1134/S1064229315090033. [Dobrovolskaya T.G., Zuyagintsev D.G., Chernov I. Yu., Golovchenko A. V., Zenova G. M., Lysak L. V., Manucharova N. A., Marfenina O. E., Polyanskaya L. M., Stepanov A. L., Umarov M. M. The role of microorganisms in the ecological functions of soils. *Eurasian soil science*. 2015; 9: 959–967. doi: 10.1134/S1064229315090033. (in Russians).]
- Berdy J. Bioactive Microbial Metabolites. *J Antibiot*. 2005; 58 (1): 1–26. doi: 10.1038/ja.2005.1.
- Ding T., Yang L.-J., Zhang W.-D., Shen Y.-H. The secondary metabolites of rare actinomycetes: chemistry and bioactivity. *RSC Advances*. 2019 (9): 21694–21988. doi: 10.1039/C9RA03579F

Информация об авторе

Синёва Ольга Николаевна — к. б. н., научный сотрудник отдела микробиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе» Москва, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-0063-4922. eLIBRARY SPIN-код: 4862-2509.

About the author

Olga N. Sineva — Ph. D. in biology, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-0063-4922. eLIBRARY SPIN-код: 4862-2509.