

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ
MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY

Науковий журнал
Виходить 3 рази на рік
Засновано у липні 2006 року

№ 1(54)
2022

Одеса
ОНУ
2022

Засновник
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Свідоцтво про державну реєстрацію: серія КВ № 19409 від 17.08.2012 р.

ГОЛОВНИЙ РЕДАКТОР
В. О. Іваниця (Одеса, Україна)
ЗАСТУПНИК ГОЛОВНОГО РЕДАКТОРА
Т. О. Філіпова (Одеса, Україна)
ВІДПОВІДАЛЬНИЙ СЕКРЕТАР
Т. В. Бурлака (Одеса, Україна)

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ
А. Анадон (Мадрид, Іспанія), Л. Д. Варбанець (Київ, Україна), А. І. Вінніков (Дніпро, Україна),
Б. М. Галкін (Одеса, Україна), Г. О. Іутинська (Київ, Україна), Л. В. Капрельянц (Одеса, Україна),
І. К. Курдиш (Київ, Україна), І. П. Метеліцина (Одеса, Україна), Ф. Моцці (Тукуман, Аргентина),
І. І. Панчук (Чернівці, Україна), М. В. Патика (Київ, Україна), В. С. Підгорський (Київ, Україна),
Л. М. Сківка (Київ, Україна), Л. Ф. Суходуб (Суми, Україна), Ф. І. Товкач (Київ, Україна),
Н. Чанішвілі (Тбілісі, Грузія).

Науковий редактор випуску В. О. Іваниця

Прийняті до друку статті обов'язково рецензуються
Затверджено до друку Вченою радою
Одеського національного університету імені І. І. Мечникова

Відповідно до наказу МОН України № 1301 від 15.10.2019 р.
входить до Переліку наукових фахових видань України (категорія «Б»).

Видання реферується та індексується в наукометричних базах даних: «Україніка наукова», Index Copernicus Journals Master list, Наукова періодика України (Національна бібліотека України імені В. І. Вернадського), Ulrich's periodicals, Електронний архів-репозитарій Одеського національного університету імені І. І. Мечникова, Наукова періодика України (journal.uran.ua), Google Академія, Base-search, Citefactor, Advanced, Sciences Index. Research Bib, Наукова електронна бібліотека e-LIBRARY, IBI Factor

Завідувач редакцією Н. Г. Юргелайтіс
Редактори: Т. В. Іваниця, І. В. Райко
Адреса редакції:
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна. Тел.: +38 (048) 723-28-39,
e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua
<http://mbt.onu.edu.ua>

© Одеський національний університет
імені І. І. Мечникова, 2022

Establisher
by Odesa National Mechnykov University.
Registration of state certification: KB № 19409. Date of issue 17.08.2012.

EDITOR-IN-CHIEF

V. O. Ivanytsia (Odesa, Ukraine)

CO-EDITOR-IN-CHIEF

T. O. Filipova (Odesa, Ukraine)

EXECUTIVE SECRETARY

T. V. Burlaka (Odesa, Ukraine)

EDITORIAL BOARD MEMBERS

A. Anadon (Madrid, Espana), N. Chanishvili (Tbilisi, Geordgia), B. M. Galkin (Odesa, Ukraine),
G. O. Iutynska (Kyiv, Ukraine), L. V. Kapreliants (Odesa, Ukraine), I. K. Kurdish (Kyiv, Ukraine),
I. P. Metelitsyna (Odesa, Ukraine), F. Mozzi (Tucuman, Argentina), I. I. Panchuk (Chernivtsi, Ukraine),
M. V. Patyka (Kyiv, Ukraine), V. S. Pidgorskyi (Kyiv, Ukraine), L. M. Skivka (Kyiv, Ukraine),
L. F. Sukhodub (Sumy, Ukraine) F. I. Tovkach (Kyiv, Ukraine), L. D. Varbanets (Kyiv, Ukraine),
A. I. Vinnikov (Dnipropetrovsk, Ukraine),

Scientific editor V. O. Ivanytsia

Accepted for publishing articles are reviewed

Approved for publishing by Academic Council
of Odesa National Mechnykov University

**According to the order of the Ministry of Education and Science of Ukraine № 1301 from
15.10.2019 it is included in the List of scientific professional editions of Ukraine
(category "B").**

**The edition is referenced and indexed in the scientific metric databases: «Ukrainika
scientific», Index Copernicus Journals Master List, Scientific Periodicals in National
Library of Ukraine Vernadsky, Ulrich's periodicals, Scientific Periodicals of Ukraine
(journal.uran.ua), Institutional Repository at Odesa I. I. Mechnykov National University,
Google Scholar, Base-search, Citefactor, Advanced, Sciences Research Bib, e-LIBRARY,
IBI Factor**

Publishing editor N. G. Yurgelaitis

Editors: T. V. Ivanytsia, I. V. Raiko

A d d r e s s:

Odesa National Mechnykov University,

Dvoryanska str., 2, Odesa, 65082, Ukraine Tel.: +38 (048) 723-28-39,

e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua

<http://mbt.onu.edu.ua>

© Odesa National Mechnykov
University, 2022

ЗМІСТ

ОГЛЯДОВІ ПРАЦІ

Б.М. Галкін, М.О. Фіногенова, А.С. Семенець, М.Б. Галкін, Т.О. Філіпова БІОСУРФАКТАНТИ МОРСЬКИХ МІКРООРГАНІЗМІВ: II. ПОТЕНЦІЙНІ МОЖЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ В МЕДИЦИНІ	6
---	---

Д.С. Смальчук, І.В. Страшнова, Т.В. Іваниця ФАГИ БАКТЕРІЙ РОДУ <i>BACILLUS</i> , ІЗОЛЬОВАНИХ З ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА	21
--	----

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ПРАЦІ

І.В. Страшнова, Г.В. Ямборко, Н.Ю. Васильєва АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ ПРОБІОТИЧНИХ ШТАМІВ ЛАКТОБАЦИЛ ЗА СУМІСНОГО КУЛЬТИВУВАННЯ	45
---	----

С.Л. Голембіовська, Л.В. Поліщук, О.І. Бамбура БІОЦИДНА ДІЯ МЕТАБОЛІТІВ ШТАМІВ <i>STREPTOMYCES</i> <i>GLOBISPORUS</i> 3-1 ТА <i>STREPTOMYCES CYANOGENUS</i> S136	58
---	----

ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ	68
---	----

АЛФАВІТНИЙ ПОКАЖЧИК СТАТЕЙ, ОПУБЛІКОВАНИХ У ЖУРНАЛІ «МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ» У 2021 РОЦІ	73
--	----

CONTENTS

OBSERVATION AND THEORETICAL ARTICLES

B.N. Galkin, M.O. Finogenova, A.S. Semenets, M.B. Galkin, T.O. Filipova BIOSURFACTANTS FROM MARINE MICROORGANISMS: II. POTENTIAL APPLICATIONS IN MEDICINE	6
--	---

D.S. Smalchuk, I.V. Strashnova, T.V. Ivanytsia PHAGES OF BACTERIA OF THE GENUS BACILLUS ISOLATED FROM THE AQUATIC ENVIRONMENT	21
--	----

EXPERIMENTAL WORKS

I.V. Strashnova, G.V. Yamborko, N.Yu. Vasylieva ANTAGONISTIC ACTIVITY OF LACTOBACILLI PROBIOTIC STRAINS IN CO-CULTIVATION	45
--	----

S.L. Golembiovska, L.V. Polishchuk, O.I. Bambura THE BIOCIDIC ACTION OF METABOLITES OF <i>STREPTOMYCES GLOBISPORUS</i> 3-1 AND <i>STREPTOMYCES CYANOGENUS</i> S136 STRAINS	58
---	----

INSTRUCTIONS FOR THE AUTHORS	68
------------------------------------	----

ALPHABET INDEX OF PAPER PUBLISHED IN JOURNAL “MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY” IN 2021 YEAR	75
---	----

ОГЛЯДОВІ ПРАЦІ

DOI: [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2022.1\(54\).252478](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2022.1(54).252478)

УДК 579.26(0.17.8)

**Б.М. Галкін, М.О. Фіногорова, А.С. Семенець,
М.Б. Галкін, Т.О. Філіпова**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
тел.: +380482635761, e-mail: bgalkin@ukr.net

БІОСУРФАКТАНТИ МОРСЬКИХ МІКРООРГАНІЗМІВ: II. ПОТЕНЦІЙНІ МОЖЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ В МЕДИЦИНІ

Морські мікроорганізми мають унікальні метаболічні та фізіологічні особливості і є важливим джерелом нових біомолекул, зокрема, таких як біосурфактанти. Деякі з поверхнево-активних сполук, синтезованих морськими мікроорганізмами, виявляють антимікробну, антиадгезивну та антибіоплівкову активність щодо широкого спектру патогенних мікроорганізмів, які резистентні до антибіотиків та протимікробних препаратів. Біоповітряно-активні речовини (Біо-ПАР) виявляють протипухлинну активність, що можна розглядати як альтернативу традиційній терапії. У цьому огляді розглядаються найважливіші біосурфактанти, що виробляються морськими мікроорганізмами, які можуть застосовуватися у медицині, як альтернативи існуючим препаратам.

Ключові слова: біосурфактанти, морські мікроорганізми, антимікробна, антиадгезивна, антибіоплівкова, протиракова активності

Актуальною проблемою лікування інфекційних хвороб є стрімке зростання числа полірезистентних штамів патогенних мікроорганізмів, які нечутливі до більшості сучасних антибіотиків. Крім того, за останні десятиліття відкриття нових протимікробних препаратів значно сповільнилося. Так, з 1962 року у медичну практику впроваджено лише два нових класи антибіотиків, тоді як у період між 1940 і 1962 роками – 20 класів. Це пов'язано з труднощами ідентифікації нових ефективних сполук та великими витратами коштів на впровадження у лікарську практику. Тому існує нагальний попит на нові антимікробні препарати та антибіотики. Авторами [14, 32] показано, що деякі біосурфактанти виявляють антимікробну активність щодо різних патогенних мікроорганізмів. Крім того, ці сполуки виявляють антиадгезивну та антибіоплівкову активності, що робить їх корисними для уповільнення колонізації та руйнування попередньо сформованих патогенами біоплівок. Мікроорганізми, які синтезують такі Біо-ПАР, були виділені з наземних зразків, забруднених вуглеводнями ділянок доквілля, та з морського середовища [13, 16].

© Б.М. Галкін, М.О. Фіногорова, А.С. Семенець, М.Б. Галкін, Т.О. Філіпова, 2022



Біо-ПАР як потенційні антимікробні, антиадгезивні та антибіоплівкові засоби

В численних дослідженнях були описані біосурфактанти, що синтезуються морськими мікроорганізмами і виявляють антимікробну, антиадгезивну та антибіоплівкову дію [7, 11, 12, 21, 22, 26, 33]. Деякі з цих біосурфактантів ефективні проти широкого спектру патогенних мікроорганізмів, включаючи грампозитивні, грамнегативні бактерії, а також дріжджі *Candida albicans*. Важливо, що вони є також ефективними проти клінічних ізолятів патогенних мікроорганізмів. Тому вони можуть бути альтернативою існуючим препаратам для лікування інфекцій, спричинених патогенними мікроорганізмами. Більшість морських мікроорганізмів, які синтезують Біо-ПАР, відноситься до актиноміцетів. Вони є симбіонтами морських макроорганізмів, таких, наприклад, як губки, молюски та інші морські безхребетні. Сполуки, які виробляють мікросимбіонти відіграють вирішальну роль у захисті від хижаків, збудників інфекцій та біоплівкоутворювальних мікроорганізмів [11, 12, 16, 20].

У більшості досліджень Біо-ПАР були структурно охарактеризовані лише частково, а їх активність вивчалася з використанням неочищених екстрактів, але є роботи, в яких з екстрактів були виділені та охарактеризовані окремі хімічні сполуки. Так, з грубого екстракту культури морського актиноміцету *Nocardiosis dassonvillei* MAD08 за допомогою зворотної високоефективної рідинної хроматографії були виділені 11 різних антимікробних речовин. З них тільки одна мала і антибактеріальну, і сурфактантну активність та була охарактеризована, як ліпопептид. На відміну від інших ліпопептидів, таких як сурфактин, ця Біо-ПАР не мала гемолітичної активності [33]. Детальний хімічний аналіз показав, що біосурфактант, який синтезується штамом *Bacillus circulans* DMS-2, був сумішшю різних ізоформ фенгіцину (в т.ч. С15-, С16- та С17-фенгіцинів). Чотири різні поверхнево-активні фракції були очищені за допомогою високоефективної рідинної хроматографії і лише одна з них, що містить С16-фенгіцин мала антимікробну активність [7].

Крім того, деякі Біо-ПАР, виділені з морських мікроорганізмів, за антибіотичною активністю не поступалися відомим антибіотикам, або були ефективнішими за них. Для порівняння визначали мінімальну інгібувальну концентрацію (МІК) та мінімальну бактерицидну концентрацію (МБК). МІК та МБК активної фракції ліпопептиду *N. dassonvillei* MAD08 щодо *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris* та *Enterobacter cloacae* становили 10 та 60 мкг/мл, відповідно. В свою чергу, ці показники для пеніциліну та стрептоміцину знаходилися у межах від 40 до 900 мкг/мл. Також ця фракція ліпопептиду була активною проти *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* та *Staphylococcus aureus*, стійких до пеніциліну та стрептоміцину: її МІК та МБК становили 60–800 мкг/мл проти 200–1000 мкг/мл відомих антибіотиків [33]. Біо-ПАР з *N. dassonvillei* MAD08, була також більш ефективною проти *E. coli* та *Staphylococcus epidermidis*, ніж левоміцетин [26].

Ліпопептид феллутамід В з *Penicillium fellutanum* виявився потужним інгібітором росту *Mycobacterium tuberculosis* [24,34].



Біо-ПАР гліколіпідної природи з *Streptomyces sp.* МАВ36 мала інгібувальну активність щодо *Aspergillus niger* та *C. albicans*. Встановлено, що її дія подібна ністатину [37]. Біосурфактант, синтезований *S. marcescens*, виявляв більш високий інгібувальний ефект проти *C. albicans* та *Pseudomonas aeruginosa* порівняно із звичайними протимікробними засобами флуконазолом та стрептоміцином [33].

Деякі з цих Біо-ПАР мали значну антиадгезивну та антибіоплівкову активність. Гліколіпід з тропічної морської бактерії *S. marcescens* у концентрації 50 мкг/мл пригнічував адгезію *C. albicans* на 76%, *P. aeruginosa* РА01 на 75% та *B. pumilus* на 89%. Попередньо сформовані цими тест-мікроорганізмами біоплівки були зруйновані з ефективністю 55%, 62% і 55%, відповідно [11]. Біо-ПАР гліколіпідної природи, синтезована морською актинобактерією *Brevibacterium casei* MSA19 і частково очищений за допомогою тонкошарової хроматографії, руйнував попередньо сформовані біоплівки *E. coli*, *P. aeruginosa* та *Vibrio spp.* в концентрації 30 мкг/мл [6].

Основною перешкодою широкому застосуванню є низька продуктивність біосинтезу біосурфактантів. Оптимізація живильних середовищ та умов вирощування може суттєво збільшити синтез цих сполук [21]. Крім того, склад живильного середовища може змінити структуру та активність Біо-ПАР. Антимікробна активність біосурфактантів з *B. circulans*, залежала від використаного джерела вуглецю внаслідок продукування різних ізоформ. Біо-ПАР отримана з використанням культуральних середовищ, що містять гліцерин, крохмаль або сахарозу, виявляла вищу антимікробну активність у порівнянні з тією, що виробляється у середовищі, яке містить глюкозу [12]. Однак у випадку морських мікроорганізмів, які пристосовані до умов морського середовища, їх вирощування в лабораторних або в промислових масштабах може бути складним. Однією з альтернатив є отримання цих Біо-ПАР у гетерологічних господарів. В синтезі ліпопептиду у *Bacillus licheniformis* NIOT-AMKV06, беруть участь три гени, *sfp*, *sfpO* та *srfA*. Завдяки їх клонуванню та експресії в *E. coli* виробництво Біо-ПАР було збільшено з 3 г/л до 11,7 г/л [8, 22].

Найбільш широко використовуваними Біо-ПАР є рамноліпіди, основним продуцентом яких є штами умовно-патогенної бактерії *P. aeruginosa*. Але знайдені і непатогенні штами бактерій, які синтезують рамноліпіди. Так, штам *Streptomyces sp.* ISP2-49E, виділений із зразків морських донних відкладень затоки Галвестон (Техас), синтезує дирамноліпід: L-рамнозил-L-рамнозил- β -гідроксидеканоїл- β -гідроксидеканоат (Rha-Rha-C10-C10) [46]. Рамноліпіди, які були виділені з цього штаму мають широкий спектр антимікробної та антиадгезивної активності [46]. Отже, використання альтернативних непатогенних продуцентів Біо-ПАР може сприяти розробці безпечних біотехнологічних регламентів та зростанню ефективності їх виробництва [13, 27, 32, 42].

Приклади антимікробної, антиадгезивної та антибіоплівкової активності синтезованих морськими мікроорганізмами Біо-ПАР, наведені у таблиці.

Таким чином, антагоністична активність, що проявляється біосурфактантами морських мікроорганізмів робить їх кандидатами на використання як альтернатив традиційним антибіотикам.



Таблиця
Table

Антимікробна, антиадгезивна та антибіоплівкова активності біосурфактантів морських мікроорганізмів
Antimicrobial, antiadhesive and antibiofilm activity of marine microorganisms biosurfactants

Мікроорганізми	Тип Біо-ПАР (структура)	Активність	Посилання
1 <i>Brevibacterium casei</i> MSA19 (з морської губки <i>Dendrilla nigra</i>)	2 Гліколіпід (невідомо)	3 Антимікробна активність проти <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , haemolytic <i>Streptococcus</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> та <i>Vibrio vulnificus</i>	4 [21]
<i>Serratia marcescens</i> (з морського коралу <i>Symphyllia</i> sp.)	Гліколіпід (глюкоза + пальмітинова кислота)	Антимікробна, антиадгезивна та антибіоплівкова активності проти <i>P. aeruginosa</i>	[11]
<i>Streptomyces</i> sp. B3 (виділений з донного відкладення)	Гліколіпід (невідомо)	Антимікробна активність проти <i>C. albicans</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> and <i>Staphylococcus aureus</i>	[19]
<i>Streptomyces</i> sp. МАВ36 (виділений з донного відкладення)	Гліколіпід (невідомо)	Антимікробна активність проти <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Shigella boydii</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>C. albicans</i> ,	[26]
<i>Bacillus circulans</i> (зі зразка морської води)	Ліпепептид (невідомо)	Антимікробна активність проти <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>E. coli</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Serratia marcescens</i> та стійких до різних препаратів <i>E. coli</i> ^a , <i>K. pneumoniae</i> ^b та <i>S. aureus</i> ^c Антиадгезивна та антибіоплівкова активність проти <i>C. freundii</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> та <i>S. marcescens</i>	[7]

Продовження таблиці

1	2	3	4
<i>Bacillus circulans</i> DMS-2 (морської зразки)	Ліпопептид (суміш трьох різних фенгіцинів: β-гідрокси жирна кислота з 15, 16 або 17 атомами вуглецю +циклічний декапептид)	Антимікробна активність щодо <i>C. freundii</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. vulgaris</i> та <i>S. marcescens</i>	[7]
<i>Bacillus licheniformis</i> NIOT-AMKV06 (з морської губки <i>Acanthella sp.</i>)	Ліпопептид (невідомо)	Антимікробна активність проти, <i>Shigella flexineri</i> <i>E. faecalis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Vibrio cholera</i> , <i>M. luteus</i> , <i>P. mirabilis</i>	[22]
<i>Brevibacterium aureum</i> MSA13 (з морської губки <i>Dendrilla nigra</i>)	Ліпопептид (Бревіфактин: метиловий ефір октадеканової кислоти + про-лей-глі-глі)	Антимікробна активність щодо <i>C. albicans</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>M. luteus</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> та <i>Streptococcus haemolytic</i>	[21]
<i>Nocardiosis alba</i> MSA10 (з морської губки <i>Fasciospongia cavernosa</i>)	Ліпопептид (невідомо)	Антимікробна активність щодо, <i>S. aureus</i> та <i>S. epidermidis</i> <i>C. albicans</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>M. luteus</i> ,	[12]
<i>Nocardiosis dassonvillei</i> MAD08 (з морської губки <i>Dendrilla nigra</i>)	Не ідентифікований	Антимікробна активність щодо <i>S. aureus</i> , <i>M. luteus</i> та стійких до кількох препаратів <i>E. coli</i> ^d , <i>K. pneumoniae</i> ^d , <i>P. mirabilis</i> ^d , <i>P. aeruginosa</i> ^d , <i>S. typhi</i> ^d , <i>S. epidermidis</i> ^d , та <i>V. cholera</i> ^d	[33]

Примітка: ^a бактерії стійки до ципрофлоксацину, офлоксацину, левофлоксацину, стрептоміцину, пеніциліну, цефтазидину, норфлоксацину та офлоксацину; ^b бактерії стійки до цефтріаксону, ципрофлоксацину, офлоксацину, норфлоксацину, норфлоксацину, піперациліну, тазобактаму, стрептоміцину та пеніциліну; ^c бактерії стійки до метициліну та стрептоміцину; ^d бактерії стійки до левоміцетину, стрептоміцину, оксигетрацикліну, ампіциліну та еритроміцину.



Біо-ПАР з морських мікроорганізмів як альтернативні протипухлинні засоби

Злоякісні онкологічні захворювання є небезпечними та ведуть доволі часто до летальних результатів [35]. Враховуючи його непередбачуваний характер, рак є основною проблемою для здоров'я людини. Протягом багатьох років було застосовано різні медичні технології до лікування онкохворих. Це пошук нових біомаркерів, створення препаратів для хіміо- та імунотерапії та ін. Традиційна хіміотерапія раку в основному базується на застосуванні сильно цитотоксичних препаратів, які неспецифічно націлені на будь-які клітини, що швидко діляться, тому загальний прогноз для більшості пацієнтів залишається незадовільним, а лікування неспецифічним, неселективним та токсичним. У цьому сенсі пошук та розробка нових, протиракових препаратів з вибірковою дією має великі перспективи. В даний час численні протипухлинні препарати, що застосовуються в клінічній практиці, є природними продуктами або їх похідними [3, 35]. З цієї причини, ймовірно, що систематичне дослідження природних джерел, зокрема, таких як морська мікробіота, призведе до появи нових біологічно активних речовин з протираковою активністю. Мікробний синтез протиракових препаратів є вигідним порівняно з їх вилученням із природних джерел, а можливість використання генно-інженерних мікроорганізмів може дати велику кількість необхідного продукту [17].

Біо-ПАР, зокрема ліпопептиди та гліколіпіди, можуть використовуватися як потенційні протиракові засоби, що перешкоджають процесам прогресування раку [27]. Ці сполуки досліджувалися на етапах міжклітинного молекулярного розпізнавання, серед яких, зокрема, передача сигналу, диференціація клітин та імунна відповідь клітин [14]. Крім того, ці сполуки мають низьку токсичність, високу ефективність та легко розкладаються, що є важливими характеристиками будь-якого протиракового агента. Основними механізмами дії цих сполук є затримка клітинного циклу, інгібування тирозинкіназ і ключових сигнальних шляхів, таких як Akt та JAK/STAT, зменшення ангиогенезу, активізація природних Т-кілерів (NKT) та індукція апоптозу через рецептори смерті в ракових клітинах. Крім того, ймовірним механізмом протипухлинної активності Біо-ПАР є їх здатність порушувати клітинні мембрани, що призводить до послідовності подій, які включають підвищення проникності мембран, лізис та витік метаболітів [32].

Ліпопептиди, особливо сурфактин, був активним на різних клітинних лініях раку [10, 18]. Механізм дії сурфактину пов'язаний з гідрофобною природою жирних кислот ліпідної частини молекули, які взаємодіють з ацильним ланцюгом фосfolіпідів мембран [36]. Одночасно його пептидна частина взаємодіє з полярними головками мембранних ліпідів пухлинних клітин. Сурфактин таким чином проникає в мембрану ракових клітин [36]. В залежності від моделей ракових клітин (молочної залози, товстої кишки, лейкемії, печінки, меланоми) сурфактин може мати різні механізми протиракової активності. Це інгібування матриксних металопротеїназ, що беруть участь у процесах інвазії та метастазування [25], зупинка клітинного циклу на стадії G2/M [29] та описані вище механізми дії гліколіпідів. Цей циклічний ліпопептид



складається з семи амінокислот, а ліпідний фрагмент містить 13–15 атомів вуглецю, продукується кількома штамми бацил, отриманих з різних джерел, включаючи морське середовище [18]. Морська бактерія *B. circulans* DMS-2 продукує ліпопептиди, а саме ізоформи сурфактину та фенгіцину, які мають високу та селективну антипроліферативну активність щодо клітинних ліній раку товстої кишки людини НСТ-15 (IC_{50} 80 мкг/мл) та НТ-29 (IC_{50} 120 мкг/мл) [10]. Крім того, різні штами *Bacillus* виробляють ітурини (бациломіцини, ітурини та мікосубтиліни). Ці ліпопептиди є амфифільними молекулами, що містять циклічний пептидний ланцюг, кон'югований з β -аміно жирною кислотою, яка містить 13–17 атомів вуглецю. Встановлено, що ітурин А, вироблений морським штамом *Bacillus megaterium*, суттєво блокує проліферацію та інгібує мережу передачі сигналів Akt, що веде до індукції апоптозу в клітинах раку молочної залози ліній MDA-MB-231 та MCF-7. Перш за все це пов'язано з блокуванням сигнальних молекул проліферації, що призводить до апоптозу ракових клітин. Також було виявлено, що ітурин А пригнічує ріст пухлини на моделі ксенотрансплантату раку молочної залози [4]. Інші Біо-ПАР, що синтезуються морськими мікроорганізмами, серед класу ітуринів, це халобацилін [9] та міксирини [43]. Халобацилін з *Bacillus sp.*, виділеного з морських донних відкладень поблизу басейну Гуаймас (Мексика), є цитотоксичним щодо клітинної лінії раку товстої кишки людини НСТ-116 (IC_{50} 0,98 мкг/мл) [9]. Міксирини (А, В і С), виділені з морських бацил, є циклічними октапептидами, що містять суміш L- та D-амінокислот з β -аміноалкановою кислотою. Подібним чином ці ліпопептиди були цитотоксичними щодо клітин раку товстої кишки. Найбільш активним був міксирин А [43]. Також існують різні структурні аналоги цих речовин, що синтезуються іншими мікроорганізмами: сомоцистинамід А [40], феллутаміди [34], ракіцидин [31, 41] та апратоксин [5]. З ціанобактерії *Lyngbya majuscula* був отриманий ліпопептид сомоцистинамід А. Цей біосурфактант виявляв високу цитотоксичність проти лейкозу, раку легенів, молочної залози та клітин простати зі значеннями IC_{50} від 0,97 мкМ до 1,3 мкМ залежно від клітинної моделі раку. Він вважається плюрипотентним інгібітором ангиогенезу та проліферації пухлинних клітин [40]. Феллутаміди А і В – це ліпопептиди, виділені з гриба *Penicillium fellutanum*. Було виявлено, що ці Біо-ПАР є цитотоксичними щодо клітин мишачого лейкозу P388, L1210 та клітин епідермоїдної карциноми людини KB [34]. Феллутаміди С і F, виділені з гриба *Aspergillus versicolor*, виявляли цитотоксичні ефекти проти раку шкіри SK-MEL-2, раку товстої кишки НСТ-15, раку легенів A549 та раку яєчників SK-OV-3, зі значеннями IC_{50} від 3,1 до 33,1 мкМ для феллутаміду С та від 0,2 до 3,1 мкМ для феллутаміду F [23]. Ракіцидини – це протиракові ліпопептиди, що синтезуються морською бактерією *Micromonospora* [31, 41]. Серед цих ліпопептидів ракіцидин А виявляє високу цитотоксичність до клітинних ліній раку [41]. Також повідомляється, що ракіцидин В активний проти клітин плоскоклітинного раку стравоходу (EC109), клітин раку легенів (A549 і 95D), ракових клітин шлунка (SGC7901), ракових клітин шийки матки (HeLa) та клітин гепатоцелюлярної карциноми (HepG2) [41]. Це похідне ракіцидину індукувало апоптоз шляхом активації каспази-3, -7 та -9 та блокувало сигнальні шляхи JNK/p38. Похідні ракіцидину С і D, що містять короткі лі-



підні ланцюги, не були цитотоксичними, проте похідне D перешкоджало інвазивності агресивних клітин раку молочної залози [31].

Апратоксини – це нова група циклічних ліпопептидів, виділених із морських ціанобактерій, які виявляють значну цитотоксичність щодо низки ракових клітин. Також було показано, що гліколіпіди беруть участь у зупинці росту та апоптозі кількох видів ракових клітин [5].

Морське середовище є перспективним джерелом нових біоактивних сполук. Біо-ПАР морського походження, хоча і менш досліджені, ніж їх наземні аналоги, мають деякі властивості, які роблять їх корисними для використання у медичній практиці, як альтернативи існуючим препаратам. Однак складність виділення та вирощування цих морських мікроорганізмів означає, що більша частина морського мікробного світу залишається невивченою [38].

В даному огляді увага була приділена двом найважливішим напрямкам застосування біосурфактантів у медицині: антимікробна та протипухлинна терапія. Однак можливості використання Біо-ПАР не обмежуються лише цими двома галузями біомедицини. Є окремі повідомлення про їх ефективність як протизапальних та антивірусних засобів [39, 47]. Доведена можливість їх застосування у дерматології, фармацевтиці, косметології [1, 30]. Завдяки властивостям морської мікробіоти саме її представники є перспективними продуцентами біосурфактантів. Особливої уваги заслуговують мікроорганізми асоційовані з морськими макроорганізмами та ті їх види, що є пробіотичними для людини.

**B.N. Galkin, M.O. Finogenova, A.S. Semenets,
M.B. Galkin, T.O. Filipova**

Odessa National University named after I. I. Mechnikov,
st. Dvoryanskaya, 2, Odessa, 65082, Ukraine

BIOSURFACTANTS FROM MARINE MICROORGANISMS: II. POTENTIAL APPLICATIONS IN MEDICINE

Summary

Marine microorganisms have unique metabolic and physiological characteristics and are an important source of new biomolecules such as biosurfactants. Many surfactants are synthesized by marine microorganisms and exhibit antimicrobial, antiadhesive and antibiofilm activity against a wide range of pathogenic microorganisms resistant to antibiotics and antimicrobial drugs. Biosurfactants exhibit anticancer activity and can be considered as an alternative to traditional therapy for cancer. This review examines the most important biosurfactants produced by marine microorganisms that can be used in medicine as alternatives to existing drugs.

Key words: biosurfactants, marine microorganisms, antimicrobial, antiadhesive, antibiofilm, anticancer activity



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Adu S.A., Naughton P.J., Marchant R., Banat I.M.* Microbial Biosurfactants in cosmetic and personal skincare pharmaceutical formulations // *Pharmaceutics*. – 2020. – V. 12(11):e1099.
2. *Benincasa M., Abalos A., Oliveira I., Manresa A.* Chemical structure, surface properties and biological activities of biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* LBI from soapstock // *Antonie Van Leeuwenhoek*. – 2004. – V. 85. – P. 1–8.
3. *Bolhassani A.* Cancer chemoprevention by natural carotenoids as an efficient strategy // *Anticancer Agents Med. Chem.* – 2015. – V. 15(8). – P. 1026–1031.
4. *Cao X.H., Wang A.H., Jiao R.Z. et al.* Surfactin induces apoptosis and G(2)/M arrest in human breast cancer MCF-7 cells through cell cycle factor regulation // *Cell Biochem. Biophys.* – 2009. – V. 55(3). – P. 163–171.
5. *Chen Q.Y., Liu Y., Luesch H.* Systematic chemical mutagenesis identifies a potent novel apratoxin A/E hybrid with improved *in vivo* antitumor activity // *ACS Med. Chem. Lett.* – 2011. – V. 2(11). – P. 861–865.
6. *Das P., Mukherjee S., Sen R.* Antiadhesive action of a marine microbial surfactant // *Colloids Surf. B Biointerfaces*. – 2009. – V. 71(2). – P. 183–186.
7. *Das P., Mukherjee S., Sen R.* Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine *Bacillus circulans* // *J. Appl. Microbiol.* – 2008. – V. 104(6). – P. 1675–1684.
8. *Das P., Mukherjee S., Sen R.* Substrate dependent production of extracellular biosurfactant by a marine bacterium // *Bioresour. Technol.* – 2009. – V. 100(2). – P. 1015–1019.
9. *Dey G., Bharti R., Dhanarajan G. et al.* Marine lipopeptide Iturin A inhibits Akt mediated GSK3 β and FoxO3 α signaling and triggers apoptosis in breast cancer // *Sci. Rep.* – 2015. – V. 5: e10316.
10. *Dey G., Bharti R., Sen R., Mandal M.* Microbial amphiphiles: A class of promising new-generation anticancer agents // *Drug. Discov.* – 2015. – V. 20(1). – P. 136–146.
11. *Dusane D. H., Pawar V. S., Nancharaiyah Y.V. et al.* Anti-biofilm potential of a glycolipid surfactant produced by a tropical marine strain of *Serratia marcescens* // *Biofouling*. – 2011. – V. 27(6). – P. 645–654.
12. *Gandhimathi R., Kiran G. S., Hema T. A. et al.* Production and characterization of lipopeptide biosurfactant by a sponge-associated marine actinomycetes *Nocardiopsis alba* MSA10 // *Bioprocess Biosyst. Eng.* – 2009. – V. 32(6). – P. 825–835.
13. *Gudiña E. J., Teixeira J. A., Rodrigues L. R.* Biosurfactants produced by marine microorganisms with therapeutic applications // *Mar. Drugs*. – 2016. – V. 14(2). – P. 1–15.
14. *Gudiña E. J., Rangarajan V., Sen R., Rodrigues L. R.* Potential therapeutic applications of biosurfactants // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2013. – V. 34(12). – P. 667–675.
15. *Haba E., Pinazo A., Jauregui O. et al.* Physicochemical characterization and antimicrobial properties of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCBIM 40044 // *Biotechnol. Bioeng.* – 2003. – V. 81(3). – P. 316–322.



16. Jackson S. A., Borchert E., O'Gara F., Dobson A.D.W. Metagenomics for the discovery of novel biosurfactants of environmental interest from marine ecosystems // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2015. – V. 33(1). – P. 176–182.
17. Janakiram N. B., Mohammed A., Rao C.V. Sea cucumbers metabolites as potent anti-cancer agents // *Mar. Drugs.* – 2015. – V. 13(5). – P. 2909–2923.
18. Janek T., Krasowska A., Radwanska A., Lukaszewicz M. Lipopeptide biosurfactant pseudofactin II induced apoptosis of melanoma A375 cells by specific interaction with the plasma membrane // *PLoS ONE.* – 2013. – V. 8. – e57991.
19. Khopade A., Ren B., Liu X.Y. et al. Production and characterization of biosurfactant from marine *Streptomyces* species B3 // *J. Colloid Interface Sci.* – 2012. – V. 367(1). – P. 311–318.
20. Kiran G. S., Hema T. A., Gandhimathi R. et al. Optimization and production of a biosurfactant from the sponge-associated marine fungus *Aspergillus ustus* MSF3 // *Colloids Surf. Biointerfaces.* – 2009. – V. 73(2). – P. 250–256.
21. Kiran G. S., Sabarathnam B., Selvin J. Biofilm disruption potential of a glycolipid biosurfactant from marine *Brevibacterium casei* // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* – 2010. – V. 59(3). – P. 432–438.
22. Lawrance A., Balakrishnan M., Joseph T.C. et al. Functional and molecular characterization of a lipopeptide surfactant from the marine sponge-associated eubacteria *Bacillus licheniformis* NIOT-AMKV06 of Andaman and Nicobar Islands, India // *Mar. Pollut. Bull.* – 2014. – V. 82(1-2). – P. 76–85.
23. Lee Y.M., Dang H.T., Hong J. et al. A cytotoxic lipopeptide from the sponge-derived fungus *Aspergillus versicolor* // *Bull. Korean Chem. Soc.* – 2010. – V. 31(1). – P. 205–208.
24. Lin G., Li D., Chidawanyika T., Nathan C., Li H. Fellutamide B is a potent inhibitor of the *Mycobacterium tuberculosis* proteasome // *Archives of Biochemistry and Biophysics.* – 2010. – V. 501(2). – P. 214–220.
25. Liu X., Tao X., Zou A. et al. Effect of the microbial lipopeptide on tumor cell lines: Apoptosis induced by disturbing the fatty acid composition of cell membrane // *Protein Cell.* – 2010. – V. 1(6). – P. 584–594.
26. Manivasagan P., Sivasankar P., Venkatesan J. et al. Optimization, production and characterization of glycolipid biosurfactant from the marine actinobacterium, *Streptomyces* sp. MAB36 // *Bioprocess Biosyst. Eng.* – 2014. – V. 37(5). – P. 783–797.
27. Niraula N. P., Kim S. H., Sohng J. K., Kim E. S. Biotechnological doxorubicin production: Pathway and regulation engineering of strains for enhanced production // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2010. – V. 87(4). – P. 1187–1194.
28. Nunnery J.K., Meyers E., Gerwick W.H. Biologically active secondary metabolites from marine cyanobacteria // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2010. – V. 21(8). – P. 787–793.
29. Park S.Y., Kim J. H., Lee Y.J. et al. Surfactin suppresses TPA-induced breast cancer cell invasion through the inhibition of MMP-9 expression // *Int. J. Oncol.* – 2013. – V. 42(1). – P. 287–296.
30. Plaza G.A., Chojniak J., Banat I.M. Biosurfactant mediated biosynthesis of selected metallic nanoparticles // *Int. J. Mol. Sci.* – 2014. – V. 15. – P. 13720–13737.



31. *Poulsen T.B.* A concise route to the macrocyclic core of the rakicidins // *Chem. Commun. (Camb.)*. – 2011. – V. 47(48). – P. 12837–12839.
32. *Rodrigues L. R., Banat I. M., Teixeira J. A., Oliveira R.* Biosurfactants: Potential applications in medicine // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2006. – V. 57(4). – P. 609–618.
33. *Selvin J., Shanmughapriya S., Gandhimathi R. et al.* Optimization and production of novel antimicrobial agents from sponge associated marine actinomycetes *Nocardioopsis dassonvillei* MAD08 // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2009. – V. 83(3). – P. 435–445.
34. *Shigemori H., Wakuri S., Yazawa K. et al.* Fellutamide-A and fellutamide-B, cytotoxic peptides from a marine fish-possessing fungus *Penicillium fellutanum* // *Tetrahedron*. – 1991. – V. 47(40). – P. 8529–8534.
35. *Siegel R.L., Miller K. D., Jemal A.* *Cancer Statistics* // *CA Cancer J. Clin.* – 2015. – V. 65. – P. 5–29.
36. *Sivapathasekaran C., Das P., Mukherjee S. et al.* Marine bacterium derived lipopeptides: Characterization and cytotoxic activity against cancer cell lines // *Int. J. Pept. Res. Ther.* – 2010. – V. 16(1). – P. 215–222.
37. *Sivapathasekaran C., Mukherjee S., Samanta R., Sen R.* High-performance liquid chromatography purification of biosurfactant isoforms produced by a marine bacterium // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2009. – V. 395(3). – P. 845–854.
38. *Stein J. L., Marsh T. L., Wu K. Y. et al.* Characterization of uncultivated prokaryotes: Isolation and analysis of a 40-kilobase-pair genome fragment from a planktonic marine archaeon // *J. Bacteriol.* – 1996. – V. 178(3). – P. 591–599.
39. *Subramaniam M.D., Venkatesan D., Iyer M. et al.* Biosurfactants and anti-inflammatory activity: A potential new approach towards COVID-19 // *Curr. Opin. Environ. Sci. Health.* – 2020. – V. 17. – P. 72–81
40. *Suyama T. L., Gerwick W. H.* Stereospecific total synthesis of somocystinamide A // *Org. Lett.* – 2008. – V. 10(20). – P. 4449–4452.
41. *Takeuchi M.I.* Rakicidin A effectively induces apoptosis in hypoxia adapted Bcr-Abl positive leukemic cells // *Cancer Sci.* – 2011. – V. 102(3). – P. 591–596.
42. *Tavares L.F.D., Silva P.M., Junqueira M. et al.* Characterization of rhamnolipids produced by wild-type and engineered *Burkholderia kururiensis* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2013. – V. 97(5). – P. 1909–1921.
43. *Trischman J.A., Jensen P.R., Fenical W.* Halobacillin-A cytotoxic cyclic acyl-peptide of the iturin class produced by a marine *Bacillus* // *Tetrahedron Lett.* – 1994. – V. 35(31). – P. 5571–5574.
44. *Wilson W.R., Hay M. P.* Targeting hypoxia in cancer therapy // *Nat. Rev. Cancer.* – 2011. – V. 11(6). – P. 393–410.
45. *Xie J. J., Zhou F., Li E. M. et al.* FW523-3, a novel lipopeptide compound, induces apoptosis in cancer cells // *Mol. Med. Rep.* – 2011. – V. 4(4). – P. 759–763.
46. *Yan X., Sims J., Wang B., Hamann M. T.* Marine actinomycete *Streptomyces* sp. ISP2–49E, a new source of rhamnolipid // *Biochem. Syst. Ecol.* – 2014. – V. 55(2). – P. 292–295.



47. Yuan L., Zhang S., Wang Y., Li Y., Wang X., Yang Q. Surfactin inhibits membrane fusion during invasion of epithelial cells by enveloped viruses // J. Virol. – 2018. – 92:e00809-18.
48. Zhang H.L., Hua H.M., Pei Y.H., Yao X.S. Three new cytotoxic cyclic acylpeptides from marine *Bacillus* sp. // Chem. Pharm. Bull. – 2004. – V. 52(8). – P. 1029–1030.

REFERENCES

1. Adu SA, Naughton PJ, Marchant R, Banat IM. Microbial Biosurfactants in cosmetic and personal skincare pharmaceutical formulations. *Pharmaceutics*. 2020;12(11):e1099.
2. Benincasa M, Abalos A, Oliveira I, Manresa A. Chemical structure, surface properties and biological activities of biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* LBI from soapstock. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2004;85:1–8.
3. Bolhassani A. Cancer chemoprevention by natural carotenoids as an efficient strategy. *Anticancer Agents Med Chem*. 2015;15(8):1026–1031.
4. Cao XH, Wang AH, Jiao RZ et al. Surfactin induces apoptosis and G(2)/M arrest in human breast cancer MCF-7 cells through cell cycle factor regulation. *Cell Biochem Biophys*. 2009;55(3):163–171.
5. Chen QY, Liu Y, Luesch H. Systematic chemical mutagenesis identifies a potent novel apratoxin A/E hybrid with improved *in vivo* antitumor activity. *ACS Med Chem Lett*. 2011;2(11):861–865.
6. Das P, Mukherjee S, Sen R. Antiadhesive action of a marine microbial surfactant. *Colloids Surf Biointerfaces*. 2009;71(2):183–186.
7. Das P, Mukherjee S, Sen R. Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine *Bacillus circulans*. *J Appl Microbiol*. 2008;104(6):1675–1684.
8. Das P, Mukherjee S, Sen R. Substrate dependent production of extracellular biosurfactant by a marine bacterium. *Bioresour Technol*. 2009;100(2):1015–1019.
9. Dey G, Bharti R, Dhanarajan G et al. Marine lipopeptide Iturin A inhibits Akt mediated GSK3 β and FoxO3 α signaling and triggers apoptosis in breast cancer. *Sci Rep*. 2015;e5:10316.
10. Dey G, Bharti R, Sen R, Mandal M. Microbial amphiphiles: A class of promising new-generation anticancer agents. *Drug Discov*. 2015;20(1):136–146.
11. Dusane D H, Pawar VS, Nancharaiah YV et al. Anti-biofilm potential of a glycolipid surfactant produced by a tropical marine strain of *Serratia marcescens*. *Biofouling*. 2011;27(6):645–654.
12. Gandhimathi R, Kiran GS, Hema TA et al. Production and characterization of lipopeptide biosurfactant by a sponge-associated marine actinomycetes *Nocardiopsis alba* MSA10. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2009;32(6):825–835.
13. Gudiña EJ, Teixeira JA, Rodrigues LR. Biosurfactants produced by marine microorganisms with therapeutic applications // *Mar Drugs*. 2016;14(2):1-15.



14. Gudiña EJ, Rangarajan V, Rodrigues LR. Potential therapeutic applications of biosurfactants. *Trends Pharmacol Sci.* 2013;34(12):667–675.
15. Haba E, Pinazo A, Jauregui O. et al. Physicochemical characterization and antimicrobial properties of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCBIM 4004. *Biotechnol Bioeng.* 2003;81(3):316–322.
16. Jackson SA, Borchert E, O’Gara F, Dobson ADW. Metagenomics for the discovery of novel biosurfactants of environmental interest from marine ecosystems. *Curr Opin Biotechnol.* 2015;33(1):176–182.
17. Janakiram NB., Mohammed A, Rao CV. Sea cucumbers metabolites as potent anti-cancer agents. *Mar Drugs.* 2015;13(5):2909–2923.
18. Janek T, Krasowska A, Radwanska A, Lukaszewicz M. Lipopeptide biosurfactant pseudofactin II induced apoptosis of melanoma A375 cells by specific interaction with the plasma membrane. *PLoS ONE.* 2013;8:e57991.
19. Khopade A, Ren B, Liu XY et al. Production and characterization of biosurfactant from marine *Streptomyces* species B3 *J Colloid Interface Sci.* 2012;367(1):311–318.
20. Kiran GS, Hema TA, Gandhimathi R et al. Optimization and production of a biosurfactant from the sponge-associated marine fungus *Aspergillus ustus* MSF3. *Colloids Surf Biointerfaces.* 2009;73(2):250–256.
21. Kiran GS, Sabarathnam B, Selvin J. Biofilm disruption potential of a glycolipid biosurfactant from marine *Brevibacterium casei* FEMS Immunol Med Microbiol. 2010;59(3):432–438.
22. Lawrance A, Balakrishnan M, Joseph TC et al. Functional and molecular characterization of a lipopeptide surfactant from the marine sponge-associated eubacteria *Bacillus licheniformis* NIOT-AMKV06 of Andaman and Nicobar Islands, India. *Mar Pollut Bull.* 2014; 82(1-2):76–85.
23. Lee YM, Dang HT, Hong J et al. A cytotoxic lipopeptide from the sponge-derived fungus *Aspergillus versicolor*. *Bull Korean Chem Soc.* 2010;31(1):205–208.
24. Lin G, Li D, Chidawanyika T, Nathan C, Li H. Fellutamide B is a potent inhibitor of the *Mycobacterium tuberculosis* proteasome *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2010;501(2):214–220.
25. Liu X, Tao X, Zou A et al. Effect of the microbial lipopeptide on tumor cell lines: Apoptosis induced by disturbing the fatty acid composition of cell membrane. *Protein Cell.* 2010;1(6):584–594.
26. Manivasagan P, Sivasankar P, Venkatesan J et al. Optimization, production and characterization of glycolipid biosurfactant from the marine actinobacterium, *Streptomyces* sp. MAB36. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2014;37 (5):783–797.
27. Niraula NP, Kim SH, Sohng JK, Kim ES. Biotechnological doxorubicin production: Pathway and regulation engineering of strains for enhanced production. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2010;87(4):1187–1194.
28. Nunnery JK, Meyers E, Gerwick WH. Biologically active secondary metabolites from marine cyanobacteria. *Curr Opin Biotechnol.* 2010;21(8):787–793.



29. Park SY, Kim JH, Lee YJ et al. Surfactin suppresses TPA-induced breast cancer cell invasion through the inhibition of MMP-9 expression. *Int J Oncol.* 2013;42 (1):287–296 .
30. Płaza GA, Chojniak J, Banat IM. Biosurfactant mediated biosynthesis of selected metallic nanoparticles. *Int J Mol Sci.* 2014;15:13720–13737.
31. Poulsen TB. A concise route to the macrocyclic core of the rakicidins. *Chem Commun (Camb.)*. 2011;47(48):12837–12839.
32. Rodrigues LR, Banat IM, Teixeira JA, Oliveira R. Biosurfactants: Potential applications in medicine. *J Antimicrob Chemother.* 2006;57(4):609–618.
33. Selvin J, Shanmughapriya S, Gandhimathi R et al. Optimization and production of novel antimicrobial agents from sponge associated marine actinomycetes *Nocardopsis dassonvillei* MAD08. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2009;83(3):435–445.
34. Shigemori H, Wakuri S, Yazawa K et al. Fellutamide-A and fellutamide-B, cytotoxic peptides from a marine fish-possessing fungus *Penicillium fellutanum*. *Tetrahedron.* 1991;47(40):8529–8534.
35. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics. *CA Cancer J Clin.* 2015;65: 5–29.
36. Sivapathasekaran C, Das P, Mukherjee S. et al. Marine bacterium derived lipopeptides: Characterization and cytotoxic activity against cancer cell lines. *Int J Pept Res Ther.* 2010;16(1):215–222.
37. Sivapathasekaran C, Mukherjee SR, Sen R. High-performance liquid chromatography purification of biosurfactant isoforms produced by a marine bacterium. *Anal Bioanal Chem.* 2009;395(3):845–854.
38. Stein JL, Marsh TL, Wu KY et al. Characterization of uncultivated prokaryotes: Isolation and analysis of a 40-kilobase-pair genome fragment from a planktonic marine archaeon. *J Bacteriol.* 1996;178 (3):591–599.
39. Subramaniam MD, Venkatesan D, Iyer M et al. Biosurfactants and anti-inflammatory activity: A potential new approach towards COVID-19. *Curr Opin Environ Sci Health.* 2020;17:72-81.
40. Suyama TL, Gerwick WH. Stereospecific total synthesis of somocystinamide A. *Org Lett.* 2008;10(20):4449–4452.
41. Takeuchi MI. Rakicidin A. effectively induces apoptosis in hypoxia adapted Bcr-Abl positive leukemic cells. *Cancer Sci.* 2011;102(3):591–596.
42. Tavares LFD, Silva PM, Junqueira M et al. Characterization of rhamnolipids produced by wild-type and engineered *Burkholderia kururiensis* *Appl Microbiol Biotechnol.* 2013;97(5):1909–1921.
43. Trischman JA, Jensen PR, Fenical W. Halobacillin-A cytotoxic cyclic acyl-peptide of the iturin class produced by a marine *Bacillus*. *Tetrahedron Lett.* 1994;35(31):5571–5574.
44. Wilson WR, Hay MP. Targeting hypoxia in cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* 2011;11(6):393–410.
45. Xie JJ, Zhou F, Li EM et al. FW523-3, a novel lipopeptide compound, induces apoptosis in cancer cells. *Mol Med Rep.* 2011;4(4):759–763.
46. Yan X, Sims J, Wang B, Hamann MT. Marine actinomycete *Streptomyces* sp. ISP2–49E, a new source of rhamnolipid. *Biochem Syst Ecol.* 2014;55(2):292–295.



47. Yuan L, Zhang S, Wang Y, Li Y, Wang X, Yang Q. Surfactin inhibits membrane fusion during invasion of epithelial cells by enveloped viruses. *J Virol.* 2018;92:e00809-18.
48. Zhang HL, Hua HM, Pei YH, Yao XS. Three new cytotoxic cyclic acylpeptides from marine *Bacillus* sp. *Chem Pharm Bull.* 2004;52(8):1029–1030.

Стаття надійшла до редакції 19.10.2021 р.



Д.С. Смальчук, І.В. Страшнова, Т.В. Іваниця

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
тел.: +38(048) 746 61 02, e-mail: smalchukdaria@gmail.com

ФАГИ БАКТЕРІЙ РОДУ *VACILLUS*, ІЗОЛЬОВАНИХ З ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА

*Незважаючи на те, що бактерії роду *Bacillus*, ізольовані з ґрунту, досліджуються вже протягом століття, на сьогоднішній день залишаються теми, що не висвітлені достатньо або потребують подальших досліджень. Частіше за все представників роду *Bacillus* ізолюють з ґрунту або харчових продуктів. В останні роки ці бактерії почали ізолювати з різноманітних водних біоценозів екосистем океанів, морів, лиманів, озер, річок. Дослідження таких ізолятів вказує на те, що бактерії майже всіх видів роду *Bacillus* інфіковані бактеріофагами порядку *Caudovirales*, які мають хвостові відростки, систему інтегрази та ексцизиї, необхідні для лізогенного циклу розвитку. Незважаючи на те, що більшість знайдених бактеріофагів належать до порядку *Caudovirales*, вони мають широкий діапазон відмінностей, якими є відношення до температур і рН, вплив на метаболізм та споруляцію хазяїна. В огляді представлено дані сучасної літератури про бактеріофаги, які інфікують бактерії роду *Bacillus*, ізольовані з водних біоценозів, особливості їх будови, хімічного складу, структури геномів та взаємодії з клітиною хазяїна.*

*Ключові слова: бактеріофаги, рід *Bacillus*, водне середовище*

Віруси відіграють важливу роль у регулюванні структури мікробних спільнот, у глобальних біогеохімічних циклах, динаміці популяцій більшості живих організмів і, в першу чергу, це стосується бактерій, архей та протистів [13]. Якщо ми хочемо зрозуміти біологію морських мікроорганізмів, їх вирішальний внесок у функціонування морської екосистеми, розвиток стабільності та продуктивності морських мікробних спільнот, нам слід мати якомога більше інформації про їх віруси. Віруси, ймовірно, є найбільшим резервуаром нових генів у біосфері, вони відіграють основну роль в еволюції мікроорганізмів. Висловлено припущення, що віруси є частиною бактеріального та архейного пан-геномів, які неможливо розглядати окремо без клітин хазяїна з еволюційної точки зору [39]. При вивченні мікробної різноманітності та її екологічної функції в морських екосистемах, вірусну різноманітність та активність також необхідно вирішувати в комплексі. На сьогодні знання про взаємодію вірусів з прокаріотними хазяїнами і вірусну екологію у водному середовищі залишаються вкрай обмеженими.



Бактерії групи *Bacillus* мають потужну метаболічну систему, завдяки чому відіграють важливу роль в мінералізації органічних речовин в морських екосистемах, продукують широкий спектр позаклітинних ферментів та вторинних метаболітів і широко використовуються як пробіотики в медицині і ветеринарії та для отримання широкого спектру біологічно активних речовин. Антимікробні сполуки, що синтезують бактерії цієї групи, вивчаються як біологічно активні речовини призначені для контролю фітопатогенів, подовження терміну зберігання продуктів харчування та клінічного застосування. Представники, які мають морське походження, є ефективним джерелом для виділення природних сполук з новими структурними характеристиками та унікальними біологічними властивостями. Морські споротвірні бактерії синтезують різноманітні за структурою, специфічністю та біологічною активністю екзометаболіти: ліпопептиди, поліпептиди, макролактони, полікетиди, ліпоаміни, ізокумарини тощо [1].

Результати вивчення різноманітності, особливостей, характеристик геному, способу життя і лізогенних стратегій для бактеріофагів, що інфікують представників роду *Bacillus* [16], вказують на їх широке розповсюдження, різноманітність і, отже, значний науковий і практичний інтерес.

Згідно з інформацією, наведеною на сайті Міжнародного комітету з таксономії вірусів (ICTV), фаги, що заражають бактерій роду *Bacillus*, наразі є одними з найчисленніших таксономічно класифікованих бактеріофагів порядку *Caudovirales*. Вони включають багато родів родин *Myoviridae*, *Siphoviridae*, *Podoviridae* і *Herelleviridae*, а також представлені значною кількістю таксономічно не класифікованих фагів, що зберігаються в загальнодоступних базах даних.

На сьогодні маловивченими залишаються питання наявності та особливостей бактеріофагів у представників роду *Bacillus*, які були виділені з водного середовища. Це викликає значний інтерес, зважаючи на важливу роль цих бактерій у водних біоценозах і перспективи застосування їх в біотехнології, що спонукає до детального вивчення цієї теми.

В даній статті проведено аналіз даних сучасної літератури про виявлені за два останні десятиліття бактеріофаги, які інфікують бактерії роду *Bacillus*, ізольовані з водних біоценозів, особливості їх будови, хімічного складу, структури геномів та взаємодії з клітиною хазяїна (таблиця).

З води озера Горещьке (озеро в західній частині Польщі) було отримано ізоляти бактерій *B. pumilus*, що несуть в своєму геномі профаг. Дослідження цього профагу призвело до виявлення бактеріофагу phiAGATE. Процес адсорбції цього фагу дуже швидкий, а тривалість латентного періоду становить 35 хв. Бактеріофаг здатний інфікувати лише бактерії *B. pumilus*, які широко представлені в біоценозі озера Горещьке [7].

Віріони фагу phiAGATE мають типову бінарну симетрію, характерну для порядку *Caudovirales*. Він має ікосаедричну головку, діаметром 91,16 нм. Довжина хвостового відростка становить 165,41 нм, проте деякі віріони мають змінену морфологію хвоста, що, на думку авторів, явно вказує на можливість його скорочення [7].



Таблиця

Фаги бактерій роду *Bacillus*, ізольованих з водного середовища

Table

Phages of bacteria of the genus *Bacillus* isolated from the aquatic environment

Бактеріофаг	Бактерія хазяїн	Джерело виділення	Джерело літератури
phiAGATE	<i>B. pumilus</i>	Озеро Горецьке (Польща)	<i>Barylski J., et al.</i> 2014
KLEB30-3S	<i>B. cereus</i>	Карстове озеро (Литва)	<i>Abedon T., Yin J.</i> 2009
Mgbh1	<i>B. halodurans</i>	Лужне озеро Шала (Ефіопія)	<i>Zyl J., et al.</i> 2016
Shbh1	<i>B. pseudofirmus</i>	Лужне озеро Шала (Ефіопія)	<i>Zyl J., et al.</i> 2016
DK1, DK2, DK3	<i>B. cereus</i>	Річка Гуанчжоу (Китай)	<i>Kong L., et al.</i> 2019
Bubs, OmniDeoPrimus, Phireball, ALPS, Zainny, PPIsBest, AaronPhadgers, KamFam, Beyonphe, YungSlug	<i>B. cereus</i> group	Річка Джеймс (США)	<i>Kostyk N., et al.</i> 2021
DLc1	<i>B. cereus</i>	Стічні води, Гуанчжоу (Китай)	<i>Li C., Yuan X., Li N.</i> 2020
Goe2, Goe3	<i>B. subtilis</i>	Стічні води, Геттінген (Німеччина)	<i>Willms M., et al.</i> 2017
Goe4	<i>B. thuringiensis</i>	Стічні води, Геттінген (Німеччина)	<i>Schilling T., et al.</i> 2018
AP631	<i>B. anthracis</i> , <i>B. cereus</i>	Стічні води (Китай)	<i>Liu X., et al.</i> 2019
BVE2	<i>B. cereus</i> group	Глибоководні відкладення з Індійського океану	<i>Chen Y., et al.</i> 2020
BVW1	<i>Bacillus</i> sp. w13	Гідротермальне джерело Тихого океану	<i>Liu B., et al.</i> 2006
Bc431v3	<i>B. cereus</i> group	Зразки води з водоочисної станції (Канада)	<i>Arabi E., et al.</i> 2013
VMY22	<i>B. cereus</i>	Льодовик (Китай)	<i>Ji X., et al.</i> 2015
φB05-1 φB05-2 φB05-3 φB05-4	<i>B. fusiformis</i>	Проба води Мексиканської затоки	<i>Mobberley J., et al.</i> 2010
P59	<i>B. oceanisediminis</i>	Донні відкладення Південнокитайського моря	<i>Feng Z., et al.</i> 2020



Біоінформатичний аналіз геному *phiAGATE* виявив наявність довгих кінцевих повторів та сегмент довжиною 2669 п.н., який, ймовірно, відповідає довгим кінцевим повторам, що перекриваються. Більш того, ця ділянка фланкована двома тандемними повторами із 7 і 8 нуклеотидів, які можуть бути пов'язані з утворенням фізичних кінців молекули ДНК [7]. Повний геном фагу *phiAGATE* має довжину 148844 п.н. Його унікальна послідовність складається з 147175 п.н. і має вміст G+C 41,0%, аналогічний тому, який спостерігається в геномах бактерій *B. pumilus* (41,3–41,7%) [43]. Детальний аналіз виявив 204 різних кодувальні послідовності (32 на прямому ланцюгу і 172 на зворотному ланцюгу), трьох генів тРНК і послідовність, яка дослідниками ідентифікована як псевдоген *Glu*. Найбільш часто впізнаваним стартовим кодоном є ATG (80,9%), в той час як TTG і GTG становлять 9,8% і 9,3%, відповідно, а стоп-кодонами є TAA (63,7%), TAG – 20,1%, TGA – 16,2%. Виявлені 108 з 204 кодувальних послідовностей аналогічні відомим послідовностям в базах даних, але їх функції були визначені лише для 53 з них [7].

Геном бактеріофагу *phiAGATE* має модульну структуру. Дві групи генів, пов'язаних з реплікацією і рекомбінацією ДНК, разом з кластером генів, що кодують послідовності, пов'язані з біосинтезом нуклеотидів, утворюють модуль реплікації. Гени структурних білків складають модуль морфогенезу, який надалі може бути розділений на частини, які кодують білки голови та білки хвостового відростка. Останні включають, серед іншого, три кодувальні послідовності, які нагадують відомі гени ферментів, що беруть участь у деградації компонентів клітинної стінки: хвостовий лізин 1 (що містить домен пептидази), хвостовий лізин 2 (аналогічний відомим ендо-бета-N-ацетилглюкозамінідазам) і білок, що містить домен, який, ймовірно, є іншою пептидазою.

Кодувальна послідовність для ендолізину (N-ацетилмурамоїл-L-аланінамідата), була виявлена поряд з геном великої субодиниці термінази, а не поруч з геном, відповідальним за синтез холіну. Слід зазначити, що в геномі *phiAGATE* також кодуються два білки, що нагадують відомі полімерази, які розщиплюють екзополімери (полі-γ-глутаматгідролаза і пектинліазоподібний білок) [23]. Розмір геному, діаметр головки та довжина хвостового відростка знаходяться в межах, встановлених для членів підродини *Spounavirinae* (127–157 т.п.н., 75–100 нм і 140–220 нм, відповідно) [25].

Це дозволило авторам віднести бактеріофаг *phiAGATE* до виду-кандидата для підродини *Spounavirinae*, родини *Herelleviridae*. По базах даних бактеріофаг не змогли об'єднати ні з фагом SPO1, ні з Twort, які досліджені краще за інші. Тому його виділили в окремий кластер (названий «група Бастилія») або в філогенетичну гілку разом з бактеріофагами *Bacillus* B4, B5S, Bastille. Модульна організація геному *phiAGATE* схожа на типову для групи Bastille. Незважаючи на низьку схожість послідовностей, синтенія в центральних районах аналізованих геномів очевидна [25].

Помірний бактеріофаг vB_VseS_KLEB30-3S (KLEB30-3S) виявлено у бактерій *B. cereus*, ізольованих з екосистеми гіпсового карстового озера в Литві. Геном KLEB30-3S являє собою лінійну, дволанцюгову ДНК, що складається з 37 134 п.н. Він має 38,3% G+C пар, що відповідає вмісту G+C у



B. cereus. Генوم KLEB30-3S щільно упакований із середнім розміром відкритої рамки зчитування (ORF) 592 п.н. У ньому 58 генів, що кодують білки, і немає генів тРНК. У той час як було виявлено, що більшість генів KLEB30-3S ініціюються з AUG (51 з 58 ORF), 4 ORF ініціюються за допомогою GUG, а 3 за допомогою UUG. Встановлено помітну асиметрію в розподілі генів на двох ланцюгах ДНК фагу. Передбачено, що переважна більшість (56 з 58) ORF для KLEB30-3S транскрибуються з одного і того ж ланцюга ДНК, тоді як тільки дві ORF були виявлені на протилежному ланцюгу.

Геном KLEB30-3S має модульну організацію з генами для упакування ДНК (малі та великі субодиниці термінази), структура/морфогенез (білок морфогенезу головки, головний білок капсиду, білок хвостового відростка і білок хвостового волокна), лізис хазяїна (лізоцим і ендолізін), лізогенія (інтегрази та репресор) і реплікація/рекомбінація ДНК (реплікативна ДНК-геліказа і регулятори транскрипції) згруповані разом. Примітно, що в геномі KLEB30-3S не виявлено факторів вірулентності або детермінант стійкості до антибіотиків [48].

Бактеріофаги Mgbh1 і Shbh1, знайдені у бактерій *B. halodurans* і *B. pseudofirmus*, які були ізольовані з лужного озера Шала, Ефіопія. Фаг Shbh1 здатний інфікувати обидва види, в той час, як Mgbh1 інфікує тільки *B. halodurans*. За морфологією Shbh1 належить до родини *Myoviridae*, тоді як Mgbh1 – до родини *Siphoviridae*. Фаг Shbh1 має діаметр головки 92 нм та довжиною хвостового відростка 226 нм, а бактеріофаг Mgbh1 має діаметр головки 49 нм, а довжина хвостового відростка – 200 нм [57].

Розмір геномів фагів Mgbh1 і Shbh1 варіює від 58,9 до 138,0 т.п.н. Фаго-ві геноми демонструють модульну структуру, добре задокументовану в інших фагів з цих родин. Геноми мають лише 12% і 13% не кодувальних відтинка у Mgbh1 і Shbh1, відповідно. Генوم Shbh1 має довгі кінцеві повтори, обсягом від 26700 п.н. до 30500 п.н. Вміст G+C для Shbh1 трохи нижчий, ніж у геномі хазяїна *B. halodurans* (43,7%) або *B. pseudofirmus* (40,3%). Різниця вмісту G+C для ДНК фага Shbh1 у порівнянні з бактеріальною ДНК *B. halodurans* більша, ніж між фагом Shbh1 і бактерією *B. pseudofirmus* [42]. У разі Mgbh1 вміст G+C дещо вищий, ніж у його хазяїна – *B. halodurans*. Це узгоджується з даними про те, що літичні фаги часто мають вищий, а лізогенні фаги нижчий вміст G+C порівняно з їх хазяїнами [42]. Вирівнювання нуклеотидної послідовності Shbh1 з декількома його найближчими родичами показує деяку консервативність на рівні нуклеотидів. Однак є чотири відтинка, які демонструють слабку або відсутню гомологію зі структурними білками близькоспоріднених фагів: 75678–76596 п.н., 82861–86954 п.н., 91464–95056 п.н., 98815–102490 п.н. Перший з цих відтинків відображає відмінності у довжині хвостового відростка між Shbh1 і його родичами. Останні три відтинка знаходяться в регіоні, що кодує білки хвостових волокон і два інших хвостових білки без певної функції [57].

Велика субодиниця термінази, ідентифікована в Mgbh1, демонструє найбільшу схожість з білками фагів *Bacillus* (phBC6A51) і *Paenibacillus* (Tripp) згідно бази даних BLAST. За результатами пошуку в базі даних NCBI терміназа найтісніше пов'язана з багатьма послідовностями термінази, виявленими в

геномах різних видів *Bacillus*. Це дає підстави вважати, що фаг Mgbh1 близький до лізогенних, а не літичних фагів *Bacillus*, які інфікують цих господарів. Передбачувана велика субодиниця термінази у Shbh1 найближче споріднена з субодиницею бактеріофагів Grass, phiNIT1, vB_ВсеМ-Вс431v3 і кластерам фагів з групи *B. cereus*. Порівняльний аналіз з базою даних показав, що найближчим родичом бактеріофагу Shbh1 може бути бактеріофаг phiAGATE [57].

Для обох фагів ідентифіковані основні капсидні та хвостові білки, а з'єднувальні «голова до хвоста» білки – лише у фага Mgbh1. Аналіз послідовностей фагу Shbh1, показав, що вони кодують білки хвостових волокон, які містять повторювані послідовності білків, подібні до тих, що були ідентифіковані в білках довгих і коротких хвостових волокон (gp34 і gp12) фага T4. Оскільки фаг Shbh1 не надто відрізняється від фагів, що інфікують мезофільні бактерії роду *Bacillus*, його структурні білки можуть дати уявлення про адаптацію білків в цілому або, зокрема, структурних білків фага до високих рН і до сольових середовищ [57].

Бактеріофаги Mgbh1 і Shbh1 кодують тимідилатсинтази. Продемонстровано, що тимідилатсинтази TS1-типу унікальні для групи бактеріофагів Bastille, що інфікують бактерії *Bacillus*, можуть використовуватися як філогенетичний маркер [4]. Фаг Shbh1 позбавлений гомолога дигідрофолатредуктази, який також був ідентифікований як ще один маркерний ген для цієї групи. Він також не кодує метал-залежний гомолог бета-лактамази, що було виявлено в інших членів цієї групи, але кодує два метал-залежних ферменти: металофосфоестеразу і металоендопептидазні мембранні білки. Гомолог фагу Shbh1 SpoIII_E, ще одна відмінна риса цієї групи фагів, що також спостерігається в інших фагів Bastille [57].

Mgbh1 і Shbh1 кодують ДНК-полімерази, які мають 3'-5'-екзонуклеазну активність, однак ДНК-полімераза, ідентифікована у Shbh1, також містить N-кінцевий домен урацил-ДНК-глікозилази, аналогічний тому, що виявлений у ДНК-полімеразі фага SPO1 бактерій роду *Bacillus*. Передбачається, що присутність цього домену у ДНК-полімеразі сприяє процесивності полімерази [22]. Велика субодиниця термінази фагу Mgbh1 найбільш схожа на послідовності, які походять від лізогенних фагів у послідовності геномів бактерій видів роду *Bacillus*. Разом зі спостереженням, що на середовищі утворюються прозорі бляшки, це може свідчити про те, що фаг є літичною версією фага, який найчастіше веде лізогенний спосіб життя. Ідентифікована нуклеотидна послідовність на Mgbh1 довжиною 65 п.н. має повну ідентичність з послідовністю сусідньою з 5S рДНК *B. halodurans*. Це може вказувати на те, що фаг вбудовується в це положення на хромосомі *B. halodurans* при лізогенізації бактерії-хазяїна [57].

З води та мулу річки Гуанчжоу (Китай) виділено та очищено три бактеріофаги, які здатні до інфікування *B. cereus* [26]. Фаги отримали назву DK1, DK2, DK3. Морфологія їх подібна до бактеріофага vB_BthP-Goe4, який належить до родини *Podoviridae* [44]. Розміри геномів DK1, DK2 і DK3 складають 27 180 п.н., 26 357 п.н. та 26 865 п.н., відповідно, з вмістом G+C 30,9%, 30,9% і 31,1%. У геномі знайдено гени рРНК і тРНК. Ці фаги не несуть будь-яких генів вірулентності або генів стійкості до антибіотиків. Кожен фаг мав



передбачуваний ендолізін, який відіграє важливу роль у процесі зараження *B. cereus* [38].

Також повідомлено про послідовність геномів 10 бактеріофагів (Bubs, OmnioDeoPrimus, Phireball, ALPS, Zainny, PPIsBest, AaronPhadgers, KamFam, Beyonphe, YungSlug), що інфікують бактерії групи *B. cereus*, виділених з річки Джеймс (США) [27]. Всі ці фаги визначені як такі, що належать до родини *Myoviridae* за морфологією фагових часток або наявністю генів хвостового відростка. Їх геноми представлені дволанцюговою ДНК, довжиною від 150 033 до 163 540 п.н. з вмістом G+C близько 38%. Розмір кінцевих повторів коливається від 2154 до 2871 п.н. Геноми дев'яти фагів містять від 295 до 304 генів, що кодують білок, а двох фагів – гени тРНК. Функції визначено для 13–19% генів, і майже всі гени мають гомологи в GenBank. Навпаки, геном YungSlug на 10 000 п.н. коротший і містить 227 генів, що кодують білок, 101 з яких має відповідність з бактеріальними генами. Крім того, функція визначена для 36% його білків, а 43 білки мають гомологи в фагах SP-10 і SPO1, що походять від бактерії господаря *B. subtilis* [52].

В зразках стічних вод, зібраних в Гуанчжоу (Китай) було знайдено бактеріофаг vB_ВсеP-DLc1 (DLc1), який визначили як новий член ϕ 29-подібних фагів, що інфікує бактерії *B. cereus* [30]. Бактеріофаг *Bacillus* ϕ 29 і його родичі вважаються одними з найбільш важливих модельних організмів для реплікації ДНК, транскрипції, морфогенезу, досліджень упакування ДНК і застосування нанотехнологій [30]. Фаг DLc1 з унікальним вбудованим кластером генів має найбільший геном серед відомих бактеріофагів, подібних ϕ 29.

Фаги ϕ 29-подібної групи є літичними фагами та несуть невелику лінійну дволанцюгову ДНК з кодованим фагом кінцевим білком, ковалентно пов'язаним з кожним 5'-кінцем, який бере участь в реплікації ДНК, разом з високоточною ДНК-полімеразою [56]. Ділянка короткого інвертованого кінцевого повтору, консервативного на кінцях геному фагів, подібних ϕ 29, з повторенням принаймні двох нуклеотидів на 3'-кінцях, що потрібно для більш точної роботи механізму ініціації реплікації гарантує, що ініціація реплікації відбувається з високою точністю. Наступна унікальна особливість – це молекулярний мотор, який використовується ϕ 29 подібними фагами, для упакування ДНК в капсид [34]. DLc1 може використовувати поверхневі вуглеводні структури клітини-господаря як рецептор та інфікує тільки найбільш споріднені до *B. cereus* види, що вказує на високу специфічність по відношенню до клітин хазяїна [30].

Фаг DLc1 здатний утворювати прозорі бляшки діаметром приблизно 1 мм на чашках Петрі з двошаровим агаром після періоду інкубації від 4 до 12 годин при 37 °C [30]. Частина фага DLc1 має структуру голова-хвіст та містить подовжену головку (64,2±4,6 на 33,1±3,0 нм) і короткий неконтрактильний хвостовий відросток (37,6±3,5 нм на 3,8±0,9 нм). Морфологія DLc1 типова для порядку *Caudovirales* і родини *Podoviridae*, а розміри та структура хвостового відростка дозволяють віднести DLc1 до підродини *Picovirinae* [24].

Бактеріофаг DLc1 має лінійний геном, представлений дволанцюговою ДНК розміром 28 950 п.н. і з вмістом G+C 31,1%. Геном містить інвертовані кінцеві повтори по 5 нуклеотидів. Виявлено 50 ORF, передбачених для коду-



вання білка, серед яких 18 ORF можна віднести до білків з потенційно відомою функцією [30]. ORF 40 і 41 відповідальні за кодування ДНК-транслокази та білка родини релаксації реплікації, відповідно, а продукт ORF 39 містить трансмембранні домени. Ця вставка трьох генів в DLc1 може походити від бактерії, що передбачає участь бактеріофагів в горизонтальному перенесенні генів [19]. За складом і розташуванням білків відзначено високий ступінь подібності з фагом $\phi 29$. Ідентичні патернам експресії типового фага $\phi 29$, ранні гени фага DLc1 розподілені в лівій і правій областях геному, а пізні гени вставлені всередину [19]. Високий ступінь подібності спостерігається також в ДНК-полімеразі та термінальному білку в лівій ранній ділянці, яка відповідають за реплікацію ДНК, а також в білках для морфогенезу та інкапсидизації ДНК, що знаходяться в пізній ділянці [30].

Латентний період бактеріофагу DLc1 становить 31 хвилину. Середній вихід віріонів складає 20 фагових частинок на інфіковану клітину. При інкубації при різних температурах протягом години фаг DLc1 проявляє високий ступінь стабільності в діапазоні температур від 4 до 55 °С, а активність різко знижується з 65 °С і повністю зникає при 75 °С. Фаг демонструє постійну активність у діапазоні значень рН від 5,0 до 11,0 і в присутності NaCl в концентрації до 500 мМ [21]. Крім того, DLc1 може протистояти обробці етанолом в концентраціях до 75%, який часто використовується для дезінфекції.

Відкрито два нових віруси, vB_BsuM-Goe2 (Goe2) та vB_BsuM-Goe3 (Goe3), виділені з неочищених стічних вод муніципальної станції очищення стічних вод в Геттінгені (Німеччина), що інфікують бактерії видів *Bacillus* [50]. Обидва бактеріофаги були морфологічно класифіковані як представники підродини *Spounavirinae*, що належать до родини *Herelleviridae*. Геномне секвенування та аналіз дозволили віднести фаг vB_BsuM-Goe2 до групи вірусів, подібних SPO1, а фаг vB_BsuM-Goe3 – до групи вірусів, подібних Bastille. Константа адсорбції, латентний період і діапазон хазяїв для обох вірусів виявили різні стратегії виживання. Бактеріофаг vB_BsuM-Goe2 покладається на меншу кількість видів хазяїв в порівнянні з бактеріофагом vB_BsuM-Goe3, але ефективно їх інфікує. Обидва віруси найкраще зберігаються в LB-середовищі або ТМК-буфері при 4 °С, тоді як криоконсервація сильно знижує їх життєздатність [50].

Для фага Goe2 характерні ширші бляшки (~ 1,1 мм) ніж для фага Goe3 (~ 0,6 мм). Крім збільшеного розміру бляшки Goe2 часто мають ореол на своїй периферії. Помітні бляшки можна спостерігати тільки на штаммах *B. amyloliquefaciens*, де обидва віруси демонструють розмір і морфологію бляшок, аналогічні бляшкам на культурі *B. subtilis* [50]. Обидві вірусні частки мають морфологію голови та хвоста, типову для представників порядку *Caudovirales*. Крім того, виявлений довгий скоротливий хвостовий відросток, характерний для родини *Herelleviridae*. Додатковими морфологічними особливостями, притаманними обом вірусам, є ізометричний капсид і хвостові волокна, прикріплені під базальною пластинкою на кінці хвостового білка. Всі морфологічні властивості підтверджують віднесення бактеріофагів Goe2 і Goe3 до підродини *Spounavirinae* [25]. Голова інтактного віріона Goe2 становить близько 95 нм в ширину та 103 нм у висоту, а хвостовий відросток –



163 нм в довжину і 18 нм в ширину. Голова інтактного віріона Goe3 становить близько 96 нм в ширину і 98 нм у висоту, а хвіст – 163 нм в довжину і 18 нм в ширину. Волокна хвостового відростка у фагу Goe3 значно довші, ніж у Goe2 [50].

Геноми бактеріофагів Goe2 і Goe3 лінійні та мають довгі кінцеві повтори, які фланкують геном, що підтверджує їх відношення до підродини *Spoonavirinae* [25]. Геном фагу Goe2 складається з 146,11 т.п.н., включаючи довгі кінцеві повтори розміром 13,85 т.п.н. на обох кінцях і вмістом G+C 40,26%. Аналіз геному показує наявність 4 тРНК і 226 генів, що кодують білок, з яких 165 кодують гіпотетичні білки, 4 – пов'язані з виходом із клітини, 31 – з транскрипцією і реплікацією, а 17 – білки морфогенезу [50].

Геном фагу Goe3 складається з 156,43 т.п.н. з довгими кінцевими повторами 4,95 т.п.н. на обох кінцях геному і вмістом G+C 41,93%. Він містить 5 тРНК і 246 генів, з яких 186 кодують білки, 2 – пов'язані з виходом із клітини, 25 – білки транскрипції і реплікації, а 15 – пов'язані з морфогенезом. Один ген кодує фермент полі-гамма-глутаматгідролазу [50], який не пов'язаний безпосередньо з реплікацією вірусу, але корисний для подальшої інфекції хазяїна, оскільки він руйнує матрицю біоплівки, отже, забезпечує кращий доступ до відповідного хазяїна [50].

Пошуки подібності фагу Goe2 на рівні нуклеотидів виявили 96% ідентичність послідовностей з вірусами бактерій групи *Bacillus CampHawk* [41] і SPO1 [49], а геном фагу Goe3 – з вірусами Grass і phiNIT1, які належать до групи вірусів, подібних SPO1, тоді як phiNIT1 належить до групи вірусів, подібних Bastille. Це також підтверджується загальною геномною схожістю фагів Goe2 і Goe3 з їхніми найближчими родинними вірусами. Комплементарні регіони фагів Goe2, CampHawk і SPO1 знаходяться в аналогічних положеннях і виявляють подібне розташування генів і орієнтацію. На відміну від фага Goe2, геном бактеріофагу Goe3 має менші області з високою схожістю зі своїми найближчими родичами і менш схожий на Grass і phiNIT1 [50].

Бактеріофаг vB_{BthP}-Goe4 (Goe4) виділений з неочищених стічних вод з використанням *B. thuringiensis* як бактерії-хазяїна [44]. Бактеріофаг має структуру голова-хвіст, характерну для представників порядку *Caudovirales*. Подовжена головка (висота 70,7±1,9 нм і ширина 50,4±1,5 нм) і короткий неконтрактільний хвостовий відросток (довжина 45,4±2,8 нм і ширина 6,6±0,4 нм) дозволили віднести його до родини вірусів *Podoviridae*, тоді як його розміри та відростки вказують на асоціацію з підродиною *Picovirinae* [44].

Секвенування та анотація геному виявляють лінійну вірусну хромосому розміром 25 722 п.н. з вмістом G+C 30,43%. Геном кодує одну пакувальну РНК і 43 білки, з яких 16 можна віднести до білків з потенційною функцією. Анотовані гени демонструють схожість з генами фагу φ29, що інфікують *B. subtilis*. Пряме порівняння геномів фагів Goe4 і φ29 виявило високий ступінь подібності щодо організації геному і вмісту генів. Приблизно 80% компонентів геному фагу φ29 мають подібність з відповідними компонентами в геномі бактеріофагу Goe4. Найвищі ідентичності зареєстровані для генів, що беруть участь в морфогенезі, і генів, що кодують ДНК-полімеразу та кінцевий

білок, розташовані в ранній області на лівій ділянці геному. Ці гомології дозволяють віднести фаг Goe4 до групи φ29-подібних вірусів [34].

У 1963 році Донг з співавторами виділили фаг, що інфікує *B. anthracis* з неочищених стічних вод і позначили його AP631. Це був перший фаг *B. anthracis*, виділений в Китаї [32]. Оскільки бактеріофаг AP631 може специфічно інфікувати не інкапсульовані бактерії *B. anthracis* і утворювати прозорі бляшки, нині він широко використовується в Китаї для ідентифікації бактерій сибірки. Під електронним мікроскопом AP631 має шестикутну головку діаметром близько 50 нм і довгий нескоротливий хвостовий відросток довжиною близько 180 нм. Таким чином, AP631 можна таксономічно віднести до родини *Siphoviridae* порядку *Caudovirales*. У 2016 році Zhang з колегами виявили, що AP631 може неспецифічно лізувати вісім ізолятів *B. cereus*, що зберігаються в їх лабораторії, з утворенням каламутних бляшок [54].

Геном фагу AP631 має довжину 39 549 п.н. з вмістом G+C 35,01%, як і у його хазяїна *B. anthracis*. Всього 56 ORF ідентифіковані як ймовірні гени, що кодують білок. Як і більшість фагових геномів, геном AP631 щільно упакований: приблизно 89% геномної послідовності кодує генні продукти. З 56 ORF 51 (91%) має високий ступінь подібності послідовностей з передбаченими ORF фагів групи *B. cereus*, таких як фаги *B. anthracis* Wbeta, Gamma і Fah. ORF44 – ORF46 показує подібність послідовностей з генами трьох видів *B. cytotoxicus*, *B. cereus* і *B. anthracis*, відповідно, що, ймовірно, вказує на еволюційну історію колишніх хазяїв фагу AP631 [32].

Геном AP631 колінеарний і демонструє аналогічну касетну організацію як і в інших фагів цього виду. Лівий кінець геному містить гени, пов'язані з упакуванням ДНК, білком фагової голови, білком голова-хвіст і хвостовими білками, а центральна область геному містить гени, пов'язані з лізисом клітини-господаря, контролем лізогенії, реплікації ДНК і генною регуляцією. Встановлено, що ці області майже ідентичні ділянкам геному фагу Fah і демонструють високий ступінь подібності з геномами фагів Gamma і Wbeta. Навпаки, правий кінець геному AP631 сильно відрізняється порівняно з іншими фаговими геномами *B. anthracis*[32].

Новий бактеріофаг BVE2, що заражає бактерії групи *B. cereus*, був виділений з глибоководних відкладень в південно-західній частині Індійського океану [12]. Фаг BVE2 викликає лізис клітини хазяїна протягом 1,5 год після зараження. Однак наявність двох генів, що кодують інтегрази, в геномі BVE2 дає підстави передбачити, що BVE2 також може дотримуватися помірної стратегії. Геномний і філогенетичний аналіз показав, що BVE2 – мозаїчний фаг, який успадкував генетичні особливості від Wbeta-подібних вірусів, профагів *B. cereus* і їх хазяїна. Це дозволяє припустити часті горизонтальні перенесення генів, які відбувалися під час його еволюції [12].

Wbetavirus – це вірусний рід родини *Siphoviridae*, порядок *Caudovirales*, який включає бактеріофаги, гомологічні профагу *B. cereus* Wbeta. Wbeta-подібні віруси мають високий рівень подібності послідовностей і загальний порядок генів з профагами, які часто виявляються у представників групи *B. cereus*, але походження Wbeta-подібних вірусів залишається не з'ясованим [2].



Фаг VBE2 має ікосаедричну головку (діаметр $69,3 \pm 3,1$ нм) і довгий, гнучкий і нескоротливий хвостовий відросток (довжина $186,6 \pm 3,3$ нм). На підставі його морфології VBE2 віднесено до родини *Siphoviridae* із порядку *Caudovirales*. Латентний період фагу VBE2 складає приблизно 1,0–1,5 год, досягаючи плато росту приблизно за 4 години. VBE2 демонструє відносно невеликий вихід віріонів, приблизно 120 частинок. Геном представлений лінійною дволанцюговою ДНК розміром 20 021 п.н. Бактеріофаг VBE2 має вміст G+C 33,8%, що можна порівняти з вмістом Wbeta-подібних вірусів [45]. В геномі VBE2 виявлено 28 генів, що кодують білки довжиною понад 50 амінокислот. З них 27 мають впізнавані гомологи в базі даних, 14 з яких можна присвоїти передбачувану функцію, що відображає той факт, що білки, які кодуються морськими сифовірусами, все ще недостатньо досліджені. Більшість генів VBE2 (85,7%) транскрибуються в одному напрямку. Подібно до більшості фагових геномів кодувальні відтинки в геномі VBE2 щільно упаковані, приблизно 86,6% геному складається з кодувальних відтинків. У геномах дволанцюгових ДНК бактеріофагів функціонально споріднені гени мають тенденцію до кластеризації, утворюючи модулі, які можуть спільно регулюватися і спільно успадковуватися [29].

Для VBE2 ідентифіковано кластер генів в лівому плечі геному, функції якого пов'язані з метаболізмом ДНК, реплікацією ДНК і регуляцією транскрипції для більшості генів в цьому кластері. Навпаки, порядок генів VBE2 в правому плечі є більш випадковим. За винятком кластерного модуля, що відповідає за лізис хазяїна (холін та ендолізін), інші функціонально пов'язані гени в правому плечі розсереджені та включають гени, які, як передбачається, беруть участь в контролі лізогенії, збірці віріонів, регуляції транскрипції, реплікації та допоміжних клітинних процесах. Принаймні три гени кодують регулятори транскрипції, наприклад, мотив спіраль-поворот-спіраль у білків, що дозволяє їм зв'язувати ДНК та регулювати рівень її експерсії. Крім того, в геномі VBE2 ідентифіковані гени, що кодують дві інтегрази – XerC і XerD, що дозволяє припустити, що він також може бути лізогенним [12].

При дослідженні західної та східної частини Тихого океану виділено штамп, який був ідентифікований як *Bacillus sp.* w13 – аеробна паличкоподібна і спороутворювальна термофільна бактерія, яка може рости в діапазоні температур 45–85 °C з оптимумом 65–70 °C [31]. Подальше вивчення привело до виявлення літичного бактеріофага W1 (BVW1), здатного інфікувати штамп *Bacillus sp.* w13. BVW1 має довгий хвостовий відросток (300 нм довжиною і шириною 15 нм) і шестикутну головку (70 нм в діаметрі). Бактеріофаг здатний інфікувати тільки бактерії штаму *Bacillus sp.* w13. Аналізи термостабільності показують, що фаг BVW1 найбільш стабільний при 60 °C, однак, виживання фага різко знижується з підвищенням температури. Геном фагу BVW1 представлений дволанцюговою ДНК розміром в 18 т.п.н. [31].

Бактеріофаг vB_ВсеМ_Vc431v3 (Vc431v3), виділений зі зразків води з водоочисної станції у Канаді, продукує невеликі (1,8 мм) прозорі бляшки з мутними краями на культурі бактерій *B. cereus*. Цей фаг має ікосаедричну головку діаметром $85,4 \pm 3$ нм з видимими окремими капсомерами. Вірус має довгий скорочувальний хвостовий відросток довжиною 180 ± 3 нм і шириною



12±4 нм. Базова пластина має групу виступів і щось на зразок центрального волокна хвостового відростка. У сукупності ці ознаки вказують на те, що цей вірус належить до родини *Myoviridae*. Діапазон кола хазяїв фагу Bc431v3 включає штами *B. cereus*, *B. anthracis*, *B. licheniformis* і *B. weihenstephanensis* з різним ступенем лізису. Фаг Bc431v3 також інфікував *B. thuringiensis*, *B. psychrosaccharolyticus* і *B. megaterium*, але не зміг лізувати штам *B. subtilis* [3].

Геном фагу Bc431v3 має розмір 158 618 п.н. і містить 39% G+C. В кодуванні білків беруть участь 90,7% геному. Всього в геномі ідентифіковано 239 передбачуваних ORF. З них 38 ORF мають ідентифіковані функції, в той час як 76 ORF мають гомологію з білками в базі даних NCBI, але їх функції невідомі. Велика частка ORF належать до білків, унікальних для цього фага. У геномі використовуються три різних стартових кодони – ATG, GTG і TTG та ідентифіковано дві С-5-цитозин-специфічні ДНК-метилтрансферази.

Прогнози на основі послідовностей визначають, що багато генів беруть участь у метаболізмі нуклеотидів і синтезі ДНК. Перші включають тимідилатсинтазу, рибонуклеотидредуктазу, дигідрофолатредуктазу, гомолог екзонуклеаз I та II та білки, які беруть участь в реплікації ДНК, включаючи ДНК-полімерази, ДНК-праймази та дві ДНК-гелікази [3].

У геномі бактеріофагу Bc431v3 ідентифіковано кілька генів, що кодує білки, які беруть безпосередню участь в упакуванні та морфогенезі ДНК. Вкрай незвичним є те, що гени термінази відділяються від генного комплексу капсид-хвіст. Геном Bc431v3 містить 20 генів тРНК для 17 амінокислот. Одна з унікальних особливостей цього вірусу – наявність декількох рідкісних або унікальних генів. Ген 174 прогнозовано кодує ДНК-зв'язувальний білок, пов'язаний з чинником інтеграції бактерій-хазяїв і бере участь у низці хромосомних функцій, включаючи укладання ДНК. Бактеріофаг Bc431v3 також несе кілька генів, безпосередньо пов'язаних з регуляторами споруючії хазяїна [3].

Докладний аналіз показав, що фаг Bc431v3 має майже 36,4% гомології послідовності з фагом *Listeria* A511 та фагом *Enterococcus* ØEF24C, тоді як з фагом SPO1 *Bacillus* він має тільки 24,3% гомології послідовності [3]. У цього вірусу відсутні детермінанти репресора, сайт-специфічної інтегрази, вірулентності та стійкості до антибіотиків, що збільшує його потенційне застосування для біоконтролю членів групи *B. cereus*.

Активний при низьких температурах літичний бактеріофаг, позначений VMY22, що інфікує бактерії *B. cereus*, виділено з льодовика Мінгйон в Китаї [20]. Холодоактивні бактеріофаги здатні інфікувати та розмножуватися при температурах ≤ 4 °С [40]. Фаг VMY22 має ікосаедричну головку (59,2 нм в довжину, 31,9 нм в ширину) і хвостовий відросток (43,2 нм в довжину). Бактеріофаг VMY22 був класифікований як член родини *Podoviridae*. Крива росту показує, що латентний період становить 70 хвилин, із середньою кількістю виходу віріонів в 78 часток фагу на інфіковану клітину.

Бактерії штамів *B. cereus* утворюють прозорі бляшки після інфікування VMY22 при 4–37 °С і демонструють максимальну продукцію фагу при 15–20 °С. Термолабільність найбільш помітна фізична характеристика холо-



до-активного фага VMY22, який може витримувати понад 60 хв при 20 °C з мінімальними втратами та його активність швидко знижується, коли температура перевищує 60 °C. Максимальна стабільність бактеріофагу VMY22 спостерігається при рН 8,0 і залишається стабільною при рН 5,0–9,0 [20].

Бактеріофаг VMY22 нечутливий до хлороформу – він зберігає понад 80% інфекційної активності після впливу 15% хлороформу, але інфекційність VMY22 повністю втрачається за обробки протеазою К або інкубацією з SDS або TritonX-100. Нечутливість до хлороформу передбачає, що капсид VMY22 не містить ліпідів. Бактеріофаг VMY22 має дволанцюгову ДНК [20].

Аналіз послідовності показує, що геном має 18 609 п.н. із загальним вмістом G+C 36,4% і 25 ORF. Послідовність містить 46 потенційних промоторів, 6 термінаторів транскрипції та не містить тРНК. Зроблено висновок, що, по-перше, один з прогнозованих білків, ORF 19, демонструє високу схожість послідовності з білком біосинтезу бактеріоцину з *B. cereus*. Виходячи з цієї інформації, можна припустити, що фаг VMY22 знаходиться на проміжній фазі спільної еволюції з бактеріальним хазяїном [53], а по-друге, сім з гіпотетичних білків, є унікальними для холодонечутливого фага *B. cereus* [20].

З 25 виявлених ORF 10 були ідентифіковані як такі, що кодуєть білки. Решта ORF розділені на п'ять функціональних груп: структурні білки (білок хвостового відростка фага, білок капсиду фага) ферменти та білки реплікації і транскрипції ДНК (ДНК-полімераза, реплікаційний білок, одноланцюгові ДНК-зв'язувальні білки і регулятори транскрипції), ДНК-пакувальні білки (білки морфогенезу і фагові ДНК-пакувальні АТФази), фермент лізису хазяїна (ендолізін) і потенційні білки біосинтезу бактеріоцинів. Також визначено сім нових прогнозованих білків, які не можуть бути зіставлені з будь-якими іншими фагами в базах даних [53].

Дослідження одинадцяти ізолятів *Bacillus*, виділених з поверхневих і підземних вод Мексиканської затоки, засвідчує наявність фагів у бактерій, ідентифікованих як *B. fusiformis* [35].

Бактеріофаг фВ05-1 має одноланцюговий геном довжиною 18 118 п.н. з вмістом G+C 33%. Його геном містить чотири прогнозованих регулятори транскрипції. Шістнадцять ORF (61%) мають високий ступінь схожості з відомими послідовностями [47]. Дванадцять ORF схожі з послідовностями інших бактеріофагів роду *Bacillus* [35]. ORF 1 подібна до інтегрази, а ORF 6 подібна білку реплікації фагу BC6A52 *B. cereus*. ORF 2 подібна ДНК-зв'язувальному домену регуляторів транскрипції у *B. halodurans* C-125. ORF 17 відповідає регулятору транскрипції MerR-типу [9]. Регулятори транскрипції цієї родини були виявлені у бактерій і фагів і відповідальні за реагування на різні стресові стимули, включаючи присутність металів і антибіотиків [47].

ORF 17 відповідальний за синтез хололігліцингідролази та аналогічний гену, виявленому в геномі *B. cereus* [17]. Хололігліцингідролази – це бактеріальні білки, які розкладають солі жовчних кислот в кишківнику ссавців [8]. Оскільки *B. cereus* є умовно-патогенним мікроорганізмом, ці гени можуть служити механізмом виживання бактерії, а присутність їх у профагу морських *Bacillus* може вказувати на горизонтальне перенесення генів, опосередковане трансдукцією. Цікавою особливістю геному фагу фВ05-1 є наявність



чотирьох регуляторів транскрипції. Ці регулятори транскрипції, які включають AbrB і SinR, перенаправляють метаболічну активність клітини на використання доступного джерела живлення, і регулюють експресію генів споруючості на початку стаціонарної фази [46].

SinR специфічно пригнічує транскрипцію генів споруючості. Наявність у профагів регуляторів перехідного стану може забезпечити додатковий рівень контролю споруючості у морських представників *Bacillus* [35]. Різноманітність регуляторів транскрипції в фВ05-1 може вказувати на роль цих білків в регуляції функцій хазяїна і фагу. Пригнічення метаболічно дорогих або марнотратних шляхів може дати лізогенії перевагу під час виживання при голодуванні [47].

У геномі *B. fusiformis* знайдено бактеріофаг фВ05-2 у стані профагу. Він має довжину 17 159 п.н. з вмістом G+C 35,5%. Ця область складається з 24 ORF, 18 з яких мають значну схожість на рівні білка з відомими послідовностями в базах даних [47]. У геномі виявлено два білки, пов'язаних з реплікацією фага – ORF 5 подібний білку реплікації, виявленому у літичного фага *Bacillus* Fah, і ORF 7 подібний білку, що зв'язує одноланцюгову ДНК профагу *Staphylococcus aureus* PVL. Фаг фВ05-2 не індукується мітоміцином С [35].

Ідентифікований бактеріофаг фВ05-3 має довжину 25 898 п.н. Сегмент складається з 43 ORF, 27 (62%) з яких мають схожість з іншими відомими білками [47]. Геном фВ05-3 містить гени, пов'язані з лізогенією і реплікацією фагу, які аналогічні генам інших помірних фагів. ORF 3 кодує репресор, який має схожість з фагами *Geobacillus* і *B. cereus*. ORF 7 подібна до фагових антирепресорних білків з профагу *S. aureus* фPV83 і помірного колифагу P1 [35]. З правого боку геному фВ05-3 знаходяться гени, що експресуються останніми та беруть участь у пакуванні та лізисі. ORF 36 кодує велику субодиницю термінази, яка має схожість з генами фагів *Bacillus* і *Staphylococcus*. ORF 41 і 42 подібні до холіну і лізину. На підставі пошуку схожості з відомими білковими послідовностями не виявлено ні капсидних, ні хвостових генів [35].

Профагоподібна ділянка ДНК фВ05-4 має довжину 17 991 п.н.. Геном містить 24 ORF, 22 з яких мають схожість з іншими білками [47]. Десять ORF для фВ05-4 схожі з генами дефектного фага *Bacillus* PBSX, відомого своїм упакуванням випадкових ділянок ДНК хазяїна [18]. У фВ05-4 не було виявлено ніяких ідентифікованих генів реплікації, капсиду або упакування ДНК [35]. фВ05-4 є ймовірним профагом, який містить кілька ідентифікованих структурних генів [35].

Відсутність будь-яких реплікативних або пакувальних генів у фВ05-4 може означати, що цей сегмент може кодувати дефектний фаг. Дефектні фаги здатні утворювати фагові частки, які мають бактерицидну активність, але не є інфекційними [18]. У разі PBSX випадкові ділянки хромосомного геному господаря розміром 13 т.п.н. упаковуються, але не інфікують інші клітини. Помітною відмінністю між двома фагами є відсутність ідентифікованих терміназних, капсидних і пакувальних білків в фВ05-4 [35].

У PBSX ця група генів, довжина якої становить близько 6000 п.н., розташована між репресором і геном, що відповідає за синтез хвостового відростка [28], але ця ділянка не ідентифікована в фВ05-4. З огляду на відсутність



капсидних білків, фВ05-4 може бути хвостоподібним бактеріоцином. Бактеріоцини зазвичай являють собою білкові частинки, що мають бактерицидну активність проти близькоспоріднених штамів. Деякі високомолекулярні бактеріоцини нагадують хвостові відростки фагів.

Електронні мікрофотографії зазначених вище фагових лізатів показують дві різні морфології фагових часток. Спостерігаються міовірусоподібні частки з діаметром капсиду 138 нм, довжиною хвостового відростка 307 нм і шириною 23 нм, а також виявлені більш дрібні частинки з ікосаедричними капсидами (діаметр 103 нм) та товстими хвостовими відростками (довжина 210 нм і ширина 35 нм). Розміри геномів цих чотирьох профагів варіюють від 17 991 до 25 898 п.н., що набагато менше розмірів типових хвостових фагів [37].

Менші розміри геному фагу зазвичай спостерігаються у літичних фагів, дефектних фагів або залишків фагів [33]. Однак дослідження геномів 113 морських бактеріальних ізолятів показало, що більшість профагових відростків мають розмір менше 30 т.п.н. [37]. Вміст генів, хоча він може бути пов'язаний з розміром, є більш важливим чинником. Геноми фВ05-1, фВ05-3 і фВ05-4 містять інтегрази та білки-репресори, тоді як геном фВ05-2 містить тільки гени реплікації фага, термінази та транспозази. Оскільки фВ05-2 не індукується мітоміцином С, автори зробили припущення про те, що ця область є залишком профагу. Залишки профагів, які можуть містити функціональні гени, часто зустрічаються в бактеріальних геномах і вважаються результатом процесів поступової деградації бактеріофагів [11].

фВ05-1 і фВ05-3 є помірними фагами, здатними до індукції. Окрім наявності модуля лізогенії, геномна архітектура цих двох профагів істотно різниться. Геном фВ05-3 є найбільшим з профагоподібних ділянок і за вмістом найбільш близький до такого у класичного хвостового фага. Гени, що беруть участь в реплікації фагів, збірці фагових частинок і лізису, аналогічні генам, виявленим у помірних фагів. Геном фВ05-1 менший за розміром і не має функціональних модулів, пов'язаних з хвостовими відростками [35].

З бактерій типового штаму *B. oceanisediminis*, виділеного з донних відкладень Південнокитайського моря, отримано бактеріофаг P59 [14], який утворює невеликі (~1 мм), але прозорі бляшки на газоні *B. oceanisediminis*. Частки фага P59 мають типову морфологію представників родини *Myoviridae*, з ікосаедричною головою 85 нм в діаметрі та скорочувальним хвостовим відростком довжиною 200 нм [14]. Фаг P59 має лінійний дволанцюговий геном довжиною 159 363 п.н. з вмістом G+C 42,34%. Всього виявлено 261 ORF з середньою довжиною 535 п.н. Передбачено, що 136 ORF кодують гіпотетичні білки, а 47 ORF кодують білки з відомими функціями. Білки, які кодуються іншими 78 ORF, не мають гомології з іншими відомими фаговими білками, що підтверджує новизну фагу P59. Функціонально анотовані ORF були далі розділені на п'ять груп: структура, реплікація та упакування, лізис, допоміжні метаболічні гени та інші. Слід зазначити, що всі збіги цих 47 ORF були отримані від фагів *Bacillus*, а 23 збіги – від фагів *Bacillus*, які були перекласифіковані в недавно запропоновану родину *Herelleviridae* (раніше відома як підгрупа всередині родини *Myoviridae*) [5]. Крім того, 14 генів, однакових для



членів родини *Herelleviridae* [6], були виявлені в геномі P59. У геномі P59 було ідентифіковано п'ятнадцять генів тРНК [14].

Як і багато інших фагів, P59 містить кілька допоміжних метаболічних генів у своєму геномі, включаючи ті, які зазвичай виявляються в фагах, що кодують тимідилатсинтазу, білок, індукований фосфатним голодуванням, і рибонуклеотидредуктазу. Вважається, що експресія допоміжних метаболічних генів змінює метаболізм господаря під час інфекції та збільшує фагову активність. Наприклад, тимідилатсинтаза є одним з допоміжних метаболічних генів, що беруть участь в синтезі нуклеотидів. Показано, що як синтез тимідину, так і експресія гена тимідилатсинтази, кодованого фагом, збільшуються після фагової інфекції [55]. Синтез білка, індукованого фосфатним голодуванням, посилюється у відповідь на фосфатне голодування в клітинах хазяїна та може брати участь у регуляції метаболізму фосфору в умовах його дефіциту [15].

Рибонуклеотидредуктази – ще один поширений допоміжний продукт, виявлений у фагів, який перетворює рибонуклеотиди в дезоксирибонуклеотиди та, отже, забезпечує будівельні блоки для синтезу ДНК. Хоча фаги сильно залежать від апарату трансляції свого хазяїна, гени тРНК іноді виявляються в їх власних геномах [36]. Гени тРНК в геномах фагів можуть компенсувати відмінності у використанні кодонів або амінокислот між фагом і хазяїном. Гени тРНК також можуть сприяти ефективності трансляції унікальних генів, таких як допоміжні метаболічні гени [51]. Присутність допоміжних метаболічних генів і тРНК в геномі P59 свідчить про адаптацію фага до свого хазяїна і навколишнього середовища [14].

У геномі P59 ановано білок FtsK/SpoIIIЕ, який описано в декількох геномах фагів *Bacillus*, включаючи фаг Grass і Moonbeam. У споруювальних клітинах *Bacillus* SpoIIIЕ переміщує ДНК в проспору під час споруюлції [10], але роль цього білка в циклі фагової інфекції залишається невизначеною. Пошук з використанням повногеномної послідовності P59 у базі даних GenBank показує, що P59 має дуже низьку схожість послідовностей з іншими фаговими геномами. Побудовані філогенетичні дерева показують, що фаг P59 є новим фагом бактерій роду *Bacillus*, що належить до родини *Herelleviridae*, який споріднений з фагами підродини *Bastillevirinae* [14].

Аналіз сучасних даних літератури стосовно бактеріофагів, здатних інфікувати бактерії роду *Bacillus*, ізольованих з водного середовища, свідчить про те, що всі виявлені бактеріофаги належать до порядку *Caudovirales*. Вони мають ікосаедричну головку, хвостовий відросток та геном, що представлений дволанцюговою ДНК. Описані бактеріофаги характеризуються великим діапазоном умов існування та потреб для розмноження. Вони можуть рости при температурах в діапазоні 4–60 °С, значних змінах рН, впливати на метаболізм хазяїна та процеси споруюлції. Подальше виявлення та вивчення фагів у водних мікробних біоценозах дасть розуміння їх ролі у функціонуванні мікробних спільнот, біогеохімічних циклах, біології водних мікроорганізмів, а також визначення перспектив їх використання в біотехнології, в першу чергу для пошуку генів, що відповідають за синтез антибіотичних сполук, та розробки засобів боротьби з такими особливо небезпечними представниками цього роду.



D.S. Smalchuk, I.V. Strashnova, T.V. Ivanytsia

Odesa I.I. Mechnykov National University,
2, Dvoryanska St., Odesa, 65082. Ukraine,
tel.: +38(048) 746 61 02, e-mail: smalchukdaria@gmail.com

PHAGES OF BACTERIA OF THE GENUS BACILLUS ISOLATED FROM THE AQUATIC ENVIRONMENT

Summary

Despite the fact that bacteria of the genus *Bacillus* isolated from the soil have been studied for centuries, there are still topics that are not sufficiently covered or need further research. Most often, members of the genus *Bacillus* are isolated from soil or food. In recent years, these bacteria have begun to isolate from various aquatic biocenoses of ecosystems of oceans, seas, estuaries, lakes, rivers. Studies of such isolates indicate that bacteria of almost all species of the genus *Bacillus* are infected with bacteriophages of the order Caudovirales, which have caudal processes, integrase and excision systems necessary for the lysogenic development cycle. Although most of the bacteriophages found belong to the order Caudovirales, they have a wide range of differences, such as the relationship to temperature and pH, the impact on metabolism and sporulation of the host. The review presents data from the modern literature on bacteriophages that infect bacteria of the genus *Bacillus* isolated from aquatic biocenoses, features of their structure, chemical composition, genome structure and interaction with the host cell.

Key words: bacteriophages, genus *Bacillus*, aquatic environments

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Abedon T., Yin J.* Bacteriophage plaques: theory and analysis // *Methods Mol Biol.* – 2009. – Vol. 501. – P. 161–174.
2. *Adams M.J., Lefkowitz E.J., King A.M.* Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses // *Arch Virol.* 2016. – Vol. 161. – P. 2921–2949.
3. *Arabi E., Griffiths T., She Y.* Genome sequence and analysis of a broad-host range lytic bacteriophage that infects the *Bacillus cereus* group // *Virol. J.* – 2013. – Vol. 10. – P. 48–59.
4. *Asare T., Jeong Y., Ryu S., Klumpp J., Loessner J., Merrill D., Kim P.* Putative type 1 thymidylate synthase and dihydrofolate reductase as signature genes of a novel Bastille-like group of phages in the subfamily *Spounavirinae* // *BMC Genomics.* – 2015. – Vol. 16. – P. 582–587.
5. *Barylski E., Dutilh B., Schuller M., Edwards A.* Analysis of *Spounaviruses* as a Case Study for the Overdue Reclassification of Tailed Phages // *Systematic Biology.* – 2020. – Vol. 69. – P. 110–123.
6. *Barylski J., Kropinski M., Alikhan F., Adriaenssens M.* ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Herelleviridae* // *J Gen Virol.* – 2020. – Vol. 101. – P. 362–363.
7. *Barylski J., Nowicki G., Goździcka-Józefiak A.* The Discovery of phiAGATE, A Novel Phage Infecting *Bacillus pumilus*, Leads to New Insights into the Phylogeny of the Subfamily *Spounavirinae* // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9. – P. 1–14.



8. Begley M., Gahan G., Hill C. The interaction between bacteria and bile // FEMS Microbiol Rev. – 2005. – Vol. 29. – P. 625–651.
9. Brown N.L., Stoyanov J.V., Kidd S.P., Hobman J.L. The MerR family of transcriptional regulators // FEMS Microbiol Rev. – 2003. – Vol. 27. – P. 145–163.
10. Burton M., Marquis A., Sullivan L., Rapoport A., Rudner Z. The ATPase SpoIIIE transports DNA across fused septal membranes during sporulation in *Bacillus subtilis* // Cell. – 2007. – Vol. 131. – P. 1301–1312.
11. Casjens S. Prophages and bacterial genomics: what have we learned so far? // Mol Microbiol. – 2003. – Vol. 49. – P. 277–300.
12. Chen Y., Guo X., Wu J., Jin M., Zeng R. A novel deep-sea bacteriophage possesses features of Wbeta-like viruses and prophages // Arch Virol. – 2020. – Vol. 165. – P. 1219–1223.
13. Danovaro R., Dell'Anno A., Corinaldesi C., Magagnini M., Noble R., Tamburini C., Weinbauer M. Major viral impact on the functioning of benthic deep-sea ecosystems // Nature. – 2008. – Vol. 454. – P. 1084–1087.
14. Feng Z., Xinwu L., Liu W., Yong N. Complete genome sequence of a novel *Bacillus* phage, P59, that infects *Bacillus oceanisediminis* // Archives of Virology. – 2020. – Vol. 165. – P. 1–5.
15. Gao B., Huang Y., Ning D. Metabolic Genes within Cyanophage Genomes: Implications for Diversity and Evolution // Genes (Basel). – 2016. – Vol. 7. – P. 80–91.
16. Gillis A., Mahillon J. Phages preying on *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*: past, present and future // Viruses. – 2014. – Vol. 6. – P. 2623–2672.
17. Han S., Xie G., Challacombe F., Altherr R., Bhotika S., Brown N., Bruce D. Pathogenomic sequence analysis of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* isolates closely related to *Bacillus anthracis* // J Bacteriol. – 2006. – Vol. 188. – P. 3382 – 3390.
18. Hemphill E., Whiteley R. Bacteriophages of *Bacillus subtilis* // Bacteriol Rev. – 1975. – Vol. 39. – P. 257–315.
19. Jean N.L., Rutherford T.J., Löwe J. FtsK in motion reveals its mechanism for double-stranded DNA translocation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2020. – Vol. 117. – P. 14202–14208.
20. Ji X., Zhang C., Fang Y., Zhang Q., Lin L., Tang B., Wei Y. Isolation and characterization of glacier VMY22, a novel lytic cold-active bacteriophage of *Bacillus cereus* // Virol Sin. – 2015. – Vol. 30. – P. 52–58.
21. Kampf G. Efficacy of ethanol against viruses in hand disinfection // J Hosp Infect. – 2018. – 98 (4). – P. 331–338.
22. Kazlauskas D., Venclovas C. Computational analysis of DNA replicases in double-stranded DNA viruses: relationship with the genome size // Nucleic Acids Research. – 2011. – Vol. 1. – P. 8291–8305.
23. Kimura K., Itoh Y. Characterization of poly-gamma-glutamate hydrolase encoded by a bacteriophage genome: possible role in phage infection of *Bacillus subtilis* encapsulated with poly-gamma-glutamate // Appl Environ Microbiol. – 2003. – Vol. 69. – P. 2491–2497.



24. King A., Lefkowitz E., Adams M.J., Carstens E.B. *Virus Taxonomy*. 1st ed. – Amsterdam: Elsevier. Press, 2011. – 384 p.
25. Klumpp J., Lavigne R., Loessner J., Ackermann W. The SPO1-related bacteriophages // *Arch Virol*. – 2010. – Vol. 155. – P. 1547–1561.
26. Kong L., Ding Y., Wu Q., Wang J., Zhang J., Li H., Yu S., Yu P., Gao T., Zeng H., Yang M., Liang Y., Wang Z., Xie Z., Wang Q. Genome sequencing and characterization of three *Bacillus cereus*-specific phages DK1, DK2 and DK3 // *Arch Virol*. – 2019. – Vol. 164. – P. 1927–1929.
27. Kostyk N., Chigbu O., Cochran E., Davis J., Essig J., Do L., Farooque N. Complete Genome Sequences of *Bacillus cereus* Group Phages AaronPhadgers, ALPS, Beyonphe, Bubs, KamFam, OmnioDeoPrimus, Phireball, PPIsBest, YungSlug and Zainny // *Microbiol Resour Announc*. – 2021. – Vol. 10. – P. 33.
28. Kunst F., Ogasawara N., Moszer I., Albertini M., Alloni G., Azevedo V., Bertero G., Bessières P., Bolotin A. The complete genome sequence of the gram-positive bacterium *Bacillus subtilis* // *Nature*. – 1997. – Vol. 390. – P. 249–256.
29. Lawrence J.G., Hatfull G.F., Hendrix R.W. Imbroglios of viral taxonomy: genetic exchange and failings of phenetic approaches // *J Bacteriol*. – 2002. – Vol. 184. – P. 4891–4905.
30. Li C., Yuan X., Li N. Isolation and Characterization of *Bacillus cereus* Phage vB_BceP-DLc1 Reveals the Largest Member of the Φ 29-Like Phages // *Microorganisms*. – 2020. – Vol. 8. – P. 1750–1760.
31. Liu B., Wu S., Song Q., Zhang X., Xie L. Two novel bacteriophages of thermophilic bacteria isolated from deep-sea hydrothermal fields // *Curr Microbiol*. – 2006. – Vol. 53. – P. 163–166.
32. Liu X., Wang D., Pan C., Feng E., Fan H., Li M., Zhu L., Tong Y., Wang H. Genome sequence of *Bacillus anthracis* typing phage AP631 // *Arch Virol*. – 2019. – Vol. 164. – P. 917–921.
33. Lucchini S., Desiere F., Brüßow H. Comparative genomics of *Streptococcus thermophilus* phage species supports a modular evolution theory // *J Virol*. – 1999. – Vol. 73. – P. 8647–8656.
34. Meijer J., Horcajadas A., Salas M. Phi29 family of phages // *Microbiol Mol Biol Rev*. – 2001. – Vol. 65. – P. 261–287.
35. Mobberley J., Authement N., Segall M., Edwards A., Slepecky A., Paul H. Lysogeny and sporulation in *Bacillus* isolates from the Gulf of Mexico // *Appl Environ Microbiol*. – 2010. – Vol. 76. – P. 829–842.
36. Morgado S., Vicente C. Global in-silico scenario of tRNA genes and their organization in virus genomes // *Viruses*. – 2019. – Vol. 11. – P. 180–188.
37. Paul H. Prophages in marine bacteria: dangerous molecular time bombs or the key to survival in the seas? // *ISME J*. – 2008. – Vol. 2. – P. 579–589.
38. Porter J., Schuch R., Pelzek J., Buckle M., McGowan S., Wilce C., Rossjohn J., Russell R., Nelson D., Fischetti A., Whisstock C. The 1.6 Å crystal structure of the catalytic domain of PlyB, a bacteriophage lysin active against *Bacillus anthracis* // *J Mol Biol*. – 2007. – Vol. 366. – P. 540–550.



39. Rodriguez-Valera F., Martin-Cuadrado A.B., Rodriguez-Brito B., Pasic L., Thingstad T.F., Rohwer F., Mira R. Explaining microbial population genomics through phage predation // *Nat Rev Microbiol.* – 2009. – Vol. 7. – P. 828–836.
40. Rex A., Etter J., Morris S., Crouse J., McLain R., Johnson A., Stuart T., Deming W., Thies R., Avery R. Global bathymetric patterns of standing stock and body size in the deep-sea benthos // *Marine Ecology Progress Series.* – 2006. – Vol. 317. – P. 1–8.
41. Ritz M.P., Perl A.L., Colquhoun J.M., Chamakura K.R., Kutty G.F. Complete Genome of *Bacillus subtilis* Myophage CampHawk // *Genome Announc.* – 2013. – Vol. 1. – P. 984–997.
42. Rocha E.P., Danchin A. Base composition bias might result from competition for metabolic resources // *Trends Genet.* – 2002. – Vol. 18. – P. 291–294.
43. Sayers W., Barrett T., Benson A., Bolton E., Bryant H., Canese K., Chetvernin V., Church M., Dicuccio M., Federhen S., Feolo M. Database resources of the National Center for Biotechnology Information // *Nucleic Acids Res.* – 2012. – Vol. 40. – P. 13–25.
44. Schilling T., Hoppert M., Hertel R. Genomic Analysis of the Recent Viral Isolate vB_BthP-Goe4 Reveals Increased Diversity of ϕ 29-Like Phages // *Viruses.* – 2018. – Vol. 10. – P. 624–638.
45. Schuch R., Fischetti V.A. Detailed genomic analysis of the Wbeta and gamma phages infecting *Bacillus anthracis*: implications for evolution of environmental fitness and antibiotic resistance // *J Bacteriol.* – 2006. – Vol. 188. – P. 3037–3051.
46. Shafikhani H., Mandic-Mulec I., Strauch A., Smith I., Leighton T. Postexponential regulation of *sin* operon expression in *Bacillus subtilis* // *J Bacteriol.* – 2002. – Vol. 184. – P. 564–571.
47. Siefert J.L., Larios-Sanz M., Nakamura L.K., Slepceky R.A., Paul J.H., Moore E.R., Fox G.E., Jurtshuk P. Phylogeny of marine *Bacillus* isolates from the Gulf of Mexico // *Curr Microbiol.* – 2000. – Vol. 41. – P. 84–88.
48. Šimoliūnienė M., Tumėnas D., Kvederavičiūtė K., Meškys R., Šulčius S., Šimoliūnas E. Complete Genome Sequence of *Bacillus cereus* Bacteriophage vB_BceS_KLEB30-3S // *Microbiol Resour Announc.* – 2020. – Vol. 9. – P. 1–3.
49. Stewart C.R., Casjens S.R., Cresawn S.G. The genome of *Bacillus subtilis* bacteriophage SPO1 // *J Mol Biol.* – 2009. – Vol. 388. – P. 48–70.
50. Willms M., Hoppert M., Hertel R. Characterization of *Bacillus subtilis* Viruses vB_BsuM-Goe2 and vB_BsuM-Goe3 // *Viruses.* – 2017. – Vol. 9. – P. 146.
51. Xu L., Zhang R., Wang N., Cai L., Tong G., Sun Q., Chen F., Jiao Z. Novel phage-host interactions and evolution as revealed by a cyanomyovirus isolated from an estuarine environment // *Environ Microbiol.* – 2018. – Vol. 20. – P. 2974–2989.
52. Yee M., Matsumoto T., Yano K., Matsuoka S., Sadaie Y., Yoshikawa H., Asai K. The genome of *Bacillus subtilis* phage SP10: a comparative analysis with phage SPO1 // *Biosci Biotechnol Biochem.* – 2011. – Vol. 75. – P. 944–952.



53. Yuan Y, Gao M., Wu D., Liu P., Wu Y. Genome Characteristics of a Novel Phage from *Bacillus thuringiensis* Showing High Similarity with Phage from *Bacillus cereus* // PLOS ONE. – 2012. – Vol. 7. – P. 143–147.
54. Zhang H., Liu L., He L. Detection and identification of *Bacillus cereus* susceptible to phage AP631 // Chin J Zoonos. – 2016. – Vol. 32. – P. 507–511.
55. Zhao X., Shen M., Jiang X. Transcriptomic and Metabolomics Profiling of Phage-Host Interactions between Phage PaP1 and *Pseudomonas aeruginosa* // Front Microbiol. – 2017. – Vol. 8. – P. 548–571.
56. Zhonghe X., Yang S., Jeffrey W., Cao Y. Directional mechanical stability of Bacteriophage ϕ 29 motor's 3WJ-pRNA: Extraordinary robustness along portal axis // Science Advances. – 2017. – Vol. 3. – P. 1–8.
57. Zyl J., Nemavhulani S., Cass J., Cowan A., Trindade M. Three novel bacteriophages isolated from the East African Rift Valley soda lakes // Virol J. – 2016. – Vol. 13. – P. 204–228.

REFERENCES

1. Abedon T, Yin J. Bacteriophage plaques: theory and analysis. *Methods Mol Biol.* 2009; 501: 161–174.
2. Adams MJ, Lefkowitz EJ, King AM. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch Virol.* 2016; 161: 2921–2949.
3. Arabi E, Griffiths T, She Y. Genome sequence and analysis of a broad-host range lytic bacteriophage that infects the *Bacillus cereus* group. *Virol. J.* 2013; 10: 48–59.
4. Asare T, Jeong Y, Ryu S, Klumpp J, Loessner J, Merrill D, Kim P. Putative type 1 thymidylate synthase and dihydrofolate reductase as signature genes of a novel Bastille-like group of phages in the subfamily Spounavirinae. *BMC Genomics.* 2015; 16: 582–587.
5. Barylski E, Dutilh B, Schuller M, Edwards A. Analysis of Spounaviruses as a Case Study for the Overdue Reclassification of Tailed Phages. *Systematic Biology.* 2020; 69: 110–123.
6. Barylski J, Kropinski M, Alikhan F, Adriaenssens M. ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: Herelleviridae. *J Gen Virol.* 2020; 101: 362–363.
7. Barylski J, Nowicki G, Goździcka-Józefiak A. The Discovery of phiAGATE, A Novel Phage Infecting *Bacillus pumilus*, Leads to New Insights into the Phylogeny of the Subfamily Spounavirinae. *PLoS One.* 2014; 9: 1–14.
8. Begley M, Gahan G, Hill C. The interaction between bacteria and bile. *FEMS Microbiol Rev.* 2005; 29: 625–651.
9. Brown NL, Stoyanov JV, Kidd SP, Hobman JL. The MerR family of transcriptional regulators. *FEMS Microbiol Rev.* 2003; 27: 145–163.
10. Burton M, Marquis A, Sullivan L, Rapoport A, Rudner Z. The ATPase SpoIIIE transports DNA across fused septal membranes during sporulation in *Bacillus subtilis*. *Cell.* 2007; 131: 1301–1312.
11. Casjens S. Prophages and bacterial genomics: what have we learned so far? *Mol Microbiol.* 2003; 49: 277–300.



12. Chen Y, Guo X, Wu J, Jin M, Zeng R. A novel deep-sea bacteriophage possesses features of Wbeta-like viruses and prophages. *Arch Virol.* 2020; 165: 1219–1223.
13. Danovaro R, Dell'Anno A, Corinaldesi C, Magagnini M, Noble R, Tamburini C, Weinbauer M. Major viral impact on the functioning of benthic deep-sea ecosystems. *Nature.* 2008; 454: 1084–1087.
14. Feng Z, Xinwu L, Liu W, Yong N. Complete genome sequence of a novel Bacillus phage, P59, that infects *Bacillus oceanisediminis*. *Archives of Virology.* 2020; 165: 1–5.
15. Gao B, Huang Y, Ning D. Metabolic Genes within Cyanophage Genomes: Implications for Diversity and Evolution. *Genes (Basel).* 2016; 7: 80–91.
16. Gillis A, Mahillon J. Phages preying on *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*: past, present and future. *Viruses.* 2014; 6: 2623–2672.
17. Han S, Xie G, Challacombe F, Altherr R, Bhotika S, Brown N, Bruce D. Pathogenomic sequence analysis of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* isolates closely related to *Bacillus anthracis*. *J Bacteriol.* 2006; 188: 3382–3390.
18. Hemphill E, Whiteley R. Bacteriophages of *Bacillus subtilis*. *Bacteriol Rev.* 1975; 39: 257–315.
19. Jean NL, Rutherford TJ, Löwe J. FtsK in motion reveals its mechanism for double-stranded DNA translocation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020; 117: 14202–14208.
20. Ji X, Zhang C, Fang Y, Zhang Q, Lin L, Tang B, Wei Y. Isolation and characterization of glacier VMY22, a novel lytic cold-active bacteriophage of *Bacillus cereus*. *Virol Sin.* 2015; 30: 52–58.
21. Kampf G. Efficacy of ethanol against viruses in hand disinfection. *J Hosp Infect.* 2018; 98 (4): 331–338.
22. Kazlauskas D, Venclovas C. Computational analysis of DNA replicases in double-stranded DNA viruses: relationship with the genome size. *Nucleic Acids Research.* 2011; 1: 8291–8305.
23. Kimura K, Itoh Y. Characterization of poly-gamma-glutamate hydrolase encoded by a bacteriophage genome: possible role in phage infection of *Bacillus subtilis* encapsulated with poly-gamma-glutamate. *Appl Environ Microbiol.* 2003; 69: 2491–2497.
24. King A, Lefkowitz E, Adams MJ, Carstens EB. *Virus Taxonomy.* 1st ed. Amsterdam: Elsevier. Press. 2011. 384 p.
25. Klumpp J, Lavigne R, Loessner J, Ackermann W. The SPO1-related bacteriophages. *Arch Virol.* 2010; 155: 1547–1561.
26. Kong L, Ding Y, Wu Q, Wang J, Zhang J, Li H, Yu S, Yu P, Gao T, Zeng H, Yang M, Liang Y, Wang Z, Xie Z, Wang Q. Genome sequencing and characterization of three *Bacillus cereus*-specific phages DK1, DK2 and DK3. *Arch Virol.* 2019; 164: 1927–1929.
27. Kostyk N, Chigbu O, Cochran E, Davis J, Essig J, Do L, Farooque N. Complete Genome Sequences of *Bacillus cereus* Group Phages AaronPhadgers,



- ALPS, Beyonphe, Bubs, KamFam, OmnioDeoPrimus, Phireball, PPIsBest, YungSlug and Zainny. *Microbiol Resour Announc.* 2021; 10: 33.
28. Kunst F, Ogasawara N, Moszer I, Albertini M, Alloni G, Azevedo V, Bertero G, Bessières P, Bolotin A. The complete genome sequence of the gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature.* 1997; 390: 249–256.
 29. Lawrence JG, Hatfull GF, Hendrix RW. Imbroglios of viral taxonomy: genetic exchange and failings of phenetic approaches. *J Bacteriol.* 2002;184: 4891–4905.
 30. Li C, Yuan X, Li N. Isolation and Characterization of *Bacillus cereus* Phage vB_BceP-DLc1 Reveals the Largest Member of the Φ 29-Like Phages. *Microorganisms.* 2020; 8: 1750–1760.
 31. Liu B, Wu S, Song Q, Zhang X, Xie L. Two novel bacteriophages of thermophilic bacteria isolated from deep-sea hydrothermal fields. *Curr Microbiol.* 2006; 53: 163–166.
 32. Liu X, Wang D, Pan C, Feng E, Fan H, Li M, Zhu L, Tong Y, Wang H. Genome sequence of *Bacillus anthracis* typing phage AP631. *Arch Virol.* 2019; 164: 917–921.
 33. Lucchini S, Desiere F, Brüssow H. Comparative genomics of *Streptococcus thermophilus* phage species supports a modular evolution theory. *J Virol.* 1999; 73: 8647–8656.
 34. Meijer J, Horcajadas A, Salas M. Phi29 family of phages. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2001; 65: 261–287.
 35. Mobberley J, Authement N, Segall M, Edwards A, Slepecky A, Paul H. Lyso-geny and sporulation in *Bacillus* isolates from the Gulf of Mexico. *Appl Environ Microbiol.* 2010; 76: 829–842.
 36. Morgado S, Vicente C. Global in-silico scenario of tRNA genes and their organization in virus genomes. *Viruses.* 2019; 11: 180–188.
 37. Paul H. Prophages in marine bacteria: dangerous molecular time bombs or the key to survival in the seas? *ISME J.* 2008; 2: 579–589.
 38. Porter J, Schuch R, Pelzek J, Buckle M, McGowan S, Wilce C, Rossjohn J, Russell R, Nelson D, Fischetti A, Whisstock C. The 1.6 Å crystal structure of the catalytic domain of PlyB, a bacteriophage lysin active against *Bacillus anthracis*. *J Mol Biol.* 2007; 366: 540–550.
 39. Rodriguez-Valera F, Martin-Cuadrado AB, Rodriguez-Brito B, Pasic L, Thingstad TF, Rohwer F, Mira R. Explaining microbial population genomics through phage predation. *Nat Rev Microbiol.* 2009; 7: 828–836.
 40. Rex A, Etter J, Morris S, Crouse J, McLain R, Johnson A, Stuart CT, Deming W, Thies R, Avery R. Global bathymetric patterns of standing stock and body size in the deep-sea benthos. *Marine Ecology Progress Series.* 2006; 317: 1–8.
 41. Ritz MP, Perl AL, Colquhoun JM, Chamakura KR, Kutty Everett GF. Complete Genome of *Bacillus subtilis* Myophage CampHawk. *Genome Announc.* 2013; 1: 984–997.
 42. Rocha EP, Danchin A. Base composition bias might result from competition for metabolic resources. *Trends Genet.* 2002; 18: 291–294.



43. Sayers W, Barrett T, Benson A, Bolton E, Bryant H, Canese K, Chetvernin V, Church M, Dicuccio M, Federhen S, Feolo M. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Res.* 2012; 40: 13–25.
44. Schilling T, Hoppert M, Hertel R. Genomic Analysis of the Recent Viral Isolate vB_BthP-Goe4 Reveals Increased Diversity of ϕ 29-Like Phages. *Viruses.* 2018; 10: 624–638.
45. Schuch R, Fischetti VA. Detailed genomic analysis of the Wbeta and gamma phages infecting *Bacillus anthracis*: implications for evolution of environmental fitness and antibiotic resistance. *J Bacteriol.* 2006; 188: 3037–3051.
46. Shafikhani H, Mandic-Mulec I, Strauch A, Smith I, Leighton T. Postexponential regulation of *sin* operon expression in *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol.* 2002; 184: 564–571.
47. Siefert JL, Larios-Sanz M, Nakamura LK, Slepecky RA, Paul JH, Moore ER, Fox GE, Jurtshuk P. Phylogeny of marine *Bacillus* isolates from the Gulf of Mexico. *Curr Microbiol.* 2000; 41: 84–88.
48. Šimoliūnienė M, Tumėnas D, Kvederavičiūtė K, Meškys R, Šulčius S, Šimoliūnas E. Complete Genome Sequence of *Bacillus cereus* Bacteriophage vB_BceS_KLEB30-3S. *Microbiol Resour Announc.* 2020; 9: 1–3.
49. Stewart CR, Casjens SR, Cresawn SG. The genome of *Bacillus subtilis* bacteriophage SPO1. *J Mol Biol.* 2009; 388: 48–70.
50. Willms M, Hoppert M, Hertel R. Characterization of *Bacillus subtilis* Viruses vB_BsuM-Goe2 and vB_BsuM-Goe3. *Viruses.* 2017; 9: 146.
51. Xu L, Zhang R, Wang N, Cai L, Tong G, Sun Q, Chen F, Jiao Z. Novel phage-host interactions and evolution as revealed by a cyanomyovirus isolated from an estuarine environment. *Environ Microbiol.* 2018; 20: 2974–2989.
52. Yee M, Matsumoto T, Yano K, Matsuoka S, Sadaie Y, Yoshikawa H, Asai K. The genome of *Bacillus subtilis* phage SP10: a comparative analysis with phage SPO1. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2011; 75: 944–952.
53. Yuan Y, Gao M, Wu D, Liu P, Wu Y. Genome Characteristics of a Novel Phage from *Bacillus thuringiensis* Showing High Similarity with Phage from *Bacillus cereus*. *PLOS ONE.* 2012; 7: 143–147.
54. Zhang H, Liu L, He L. Detection and identification of *Bacillus cereus* susceptible to phage AP631. *Chin J Zoonos.* 2016; 32: 507–511.
55. Zhao X, Shen M, Jiang X. Transcriptomic and Metabolomics Profiling of Phage-Host Interactions between Phage PaP1 and *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol.* 2017; 8: 548–571.
56. Zhonghe X, Yang S, Jeffrey W, Cao Y. Directional mechanical stability of Bacteriophage ϕ 29 motor's 3WJ-pRNA: Extraordinary robustness along portal axis. *Science Advances.* 2017; 3: 1–8.
57. Zyl J, Nemavhulani S, Cass J, Cowan A, Trindade M. Three novel bacteriophages isolated from the East African Rift Valley soda lakes. *Virol J.* 2016; 13: 204–228.

Стаття надійшла до редакції 13.10.2021 р.



І.В. Страшнова, Г.В. Ямборко, Н.Ю. Васильєва

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: fabiyanska@ukr.net

АНТАГОНІСТИЧНА АКТИВНІСТЬ ПРОБІОТИЧНИХ ШТАМІВ ЛАКТОБАЦИЛ ЗА СУМІСНОГО КУЛЬТИВУВАННЯ

Мета. Дослідити антагоністичні властивості поліштамових композицій і консорціумів, створених на основі пробіотичних штамів бактерій роду *Lactobacillus*. **Методи.** Біосумісність досліджували при сумісному культивуванні штамів лактобацил на цільному живильному середовищі MRS. Для створення композицій використовували окремо вирожені добові бульйонні культури у певних співвідношеннях, для створення консорціумів – штами лактобацил у відповідних співвідношеннях культивували разом у MRS бульйоні протягом доби. Антагоністичну активність створених комбінацій щодо 10 тест-культур визначали лунково-дифузійним методом. **Результати.** За результатами дослідження біосумісності були відібрані штами *Lactobacillus* spp. 175, M2 і M3, на основі яких створено 7 композицій та 7 консорціумів з певними співвідношеннями бульйонних культур цих штамів. Лактобацили у складі композицій децю краще проявляють антимікробні властивості, у порівнянні з консорціумами. Найкращу антагоністичну активність щодо усіх тест-штамів мікроорганізмів проявила композиція *Lactobacillus* sp. M2 + *Lactobacillus* sp. M3 + *Lactobacillus* sp. 175 у співвідношенні 1 : 2 : 2. **Висновки.** Створені на основі пробіотичних штамів *Lactobacillus* spp. 175, M2 і M3 композиції і консорціуми є активними антагоністами про- та еукаріотичних тест-культур мікроорганізмів. Прояв активності залежить від способу поєднання штамів у комбінації, найкращий ефект досягається при вирощуванні кожного штаму окремо з подальшим змішуванням бульйонних культур. Найбільш антагоністично активною є композиція, створена на основі бульйонних культур *Lactobacillus* sp. M2 + *Lactobacillus* sp. M3 + *Lactobacillus* sp. 175 у співвідношенні 1 : 2 : 2.

Ключові слова: антагоністична активність, лактобацили, біосумісність, композиції, консорціуми

Створення лікувально-профілактичних препаратів на основі пробіотичних штамів мікроорганізмів є одним із актуальних завдань сучасної біотехнології. Більшість препаратів-пробіотиків створені на основі біфідобактерій і лактобацил, оскільки ці бактерії є складовими нормальної мікробіоти травного тракту і відіграють ключову фізіологічну роль у функціонуванні мікроеко-



логічної системи здорових людей. Із урахуванням накопичених даних [7, 12, 14, 17] доцільним і перспективним вважається конструювання комплексних препаратів із декількох штамів різних видів пробіотичних мікроорганізмів. Це дозволяє розширити їх специфічну активність, сприяє збереженню стабільності функціональних властивостей і тривалому виживанню в мінливих умовах навколишнього середовища. Вимоги до мікроорганізмів, які використовуються для створення як полікомпонентних, так і монокомпонентних пробіотиків, однакові. Перш за все, вони повинні бути безпечними і, що досить важливо, проявляти антагоністичну активність щодо умовно-патогенних і патогенних бактерій.

Метою даної роботи було дослідити антагоністичні властивості поліштамових композицій і консорціумів, створених на основі пробіотичних штамів бактерій роду *Lactobacillus*.

Матеріали і методи

У роботі використано 5 штамів лактобацил (*Lactobacillus* spp. O1, B4, 175, M2 та M3), які за результатами попередніх досліджень [1, 2, 9, 16] є найбільш перспективними для створення поліштамових пробіотичних препаратів. Штами були виділені із різних природних джерел Одеського регіону: *Lactobacillus* spp. O1 і B4 – із самоквасних овочів, *Lactobacillus* spp. M2 і M3 – із м'ясної сировини, *Lactobacillus* sp. 175 – із травного тракту дітей.

Біосумісність лактобацил досліджували методом сумісного культивування штамів на щільному живильному середовищі MRS (MRS agar, Merck KGaA, Німеччина). Для цього добуву культуру, що виросла у рідкому живильному середовищі MRS (MRS broth, Merck KGaA, Німеччина), стандартизували до концентрації 10^6 КУО/см³ і краплю діаметром приблизно 3 мм наносили на поверхню MRS агару. Після підсихання краплі, відступивши 1–2 мм від її краю, наносили таку ж краплю іншої досліджуваної культури, яка, розтікаючись, приблизно наполовину покривала першу краплю. Після підсихання другої краплі чашки з посівами інкубували при 37 °С. У цій нашарованій зоні культури розвиваються у взаємній присутності (сумісне культивування), конкуруючи одна з одною. Кожен дослід проводили в двох повторах для виключення впливу послідовності нанесення крапель культур на характер росту в зоні сумісного культивування. Контролем були краплі однієї і тієї ж культури, нашаровані одна на одну як описано вище.

Облік результатів проводили візуально через 24 год від початку інкубації. У разі затримки росту однієї з досліджуваних культур взаємини між ними розглядалися як антагоністичні, а самі культури відносили до категорії «біо-несумісних» (рис. 1.a, 1.b). При цьому, якщо одна з культур в зоні сумісного культивування «виходила наверх», пригнічуючи ріст іншої культури, незалежно від послідовності їх нанесення, такий варіант розцінювали як слабкий антагонізм (рис. 1.a). Наявність явної зони затримки росту однієї з культур по периферії плями іншої досліджуваної культури розцінювали як ознаку «сильного антагонізму» (рис. 1.b). Культури вважали біосумісними в разі виявлення повного «злиття» плям або посилення росту досліджуваних штамів в зоні сумісного культивування (рис. 1.c).



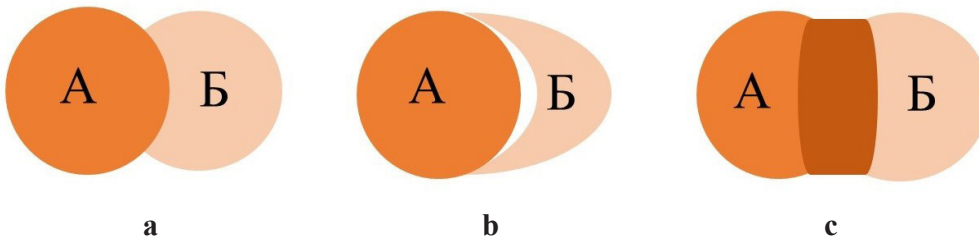


Рис. 1. Приклади сумісного культивування лактобацил

Примітка: а – штам А проявляє слабкий антагонізм щодо штаму Б; б – штам А проявляє сильний антагонізм щодо штаму Б; с – наявність або підсилення росту штамів у зоні спільного культивування

Fig. 1. Examples of lactobacilli co-cultivation

Note: a – strain A shows a weak antagonism against strain B; b – strain A shows a strong antagonism against strain B; c – the presence or enhancement of strains growth in the area of co-cultivation

Для створення композицій кожен штам лактобацил інкубували окремо у рідкому середовищі MRS при 37 °С, потім добові культури стандартизували до концентрацій 10^6 КУО/см³ і змішували у стерильних пробірках у певних співвідношеннях. Отримані суспензії одразу використовували у дослідженні антагоністичної активності.

Для створення консорціумів добові культури лактобацил змішували у відповідних співвідношеннях, вирощували у середовищі MRS бульйоні протягом 24 год при 37 °С, стандартизували до концентрацій 10^6 КУО/см³ і також використовували для визначення антагонізму.

Антагоністичну активність створених варіантів (комбінацій) визначали щодо 10 тест-культур: *Escherichia coli* ОНУ 90, *Proteus vulgaris* ОНУ 92, *Klebsiella pneumoniae* ОНУ 463, *Salmonella enteritidis* ОНУ 466, *Pseudomonas aeruginosa* ОНУ 211, *Bacillus subtilis* ОНУ 24, *Staphylococcus aureus* ОНУ 223, *Staphylococcus saprophyticus* ОНУ 537, *Candida albicans* ОНУ 415 і *Candida utilis* ОНУ 413. Штами індикаторних мікроорганізмів попередньо культивували у живильному бульйоні протягом 24 год при 37 °С (бактерії) і у рідкому середовищі Сабуро при 30 °С (дріжджоподібні гриби). Дослідження проводили за стандартною методикою лунково-дифузійним методом у товщі відповідного живильного середовища [3].

Облік результатів здійснювали через 24 год після інкубації при оптимальних для кожної групи мікроорганізмів температурах, вимірюючи діаметри зон відсутності росту індикаторних штамів навколо лунок з відповідними комбінаціями штамів лактобацил.

Дослідження щодо визначення антагоністичної активності проведено у трьох повторях.

Порівняльний аналіз результатів досліджень проводили, використовуючи t-критерій Ст'юдента. Достовірною вважалася різниця за показника $p \leq 0,05$ [4]. Статистичне опрацювання результатів здійснювали за допомогою програми Microsoft Office Excel-2016.

Результати дослідження та їх обговорення

Успішний пошук серед молочнокислих бактерій штамів з антагоністичними властивостями і створення на їх основі вдалих комбінацій є передумовою розробки біотехнологій пробіотичних препаратів, які позитивно впливають на організм людини.

Скринінг лактобацил, ізольованих із різних екологічних джерел в Одеському регіоні, за антагоністичними властивостями, активністю кислотоутворення, стійкістю до рН, NaCl, жовчі, трипсину, пепсину та фенолу дозволив відібрати 5 штамів (*Lactobacillus* spp. O1, B4, 175, M2 і M3) [1, 2, 9, 16] для створення поліштамових композицій і консорціумів.

На жаль, багато пробіотиків полікомпонентного складу являють собою механічну суміш штамів і не мають задекларованої ефективності. Однією з основних характеристик штамів, які пропонуються використовувати для конструювання бактеріальних препаратів, є біосумісність. Тобто штами не повинні пригнічувати один одного, оскільки в протилежному випадку всі корисні властивості одного зі штамів нівелюються або значно зменшуються.

При дослідженні біосумісності визначали тип взаємодій між пробіотичними штамами лактобацилами, оснований на аналізі характеру росту культур у зоні нашарування тобто у зоні сумісного культивування.

Результати дослідження біосумісності штамів молочнокислих бактерій, наведено у табл. 1.

Таблиця 1
Міжштамові взаємодії лактобацил при сумісному культивуванні
Table 1
Interstrain interactions of lactobacilli in co-cultivation

Штам А	Штам Б				
	<i>Lactobacillus</i> sp. O1	<i>Lactobacillus</i> sp. B4	<i>Lactobacillus</i> sp. M2	<i>Lactobacillus</i> sp. M3	<i>Lactobacillus</i> sp. 175
<i>Lactobacillus</i> sp. O1		3	3	2	3
<i>Lactobacillus</i> sp. B4	3		1	3	3
<i>Lactobacillus</i> sp. M2	3	3		3	3
<i>Lactobacillus</i> sp. M3	3	3	3		3 Підсилення росту
<i>Lactobacillus</i> sp. 175	3	3	3	3	

Примітка: 1 – *Lactobacillus* sp. B4 – слабкий антагоніст *Lactobacillus* sp. M2; 2 – *Lactobacillus* sp. O1 – сильний антагоніст *Lactobacillus* sp. M3; 3 – наявність росту штамів у зоні спільного культивування.

Note: 1 – *Lactobacillus* sp. B4 is a weak antagonist of *Lactobacillus* sp. M2; 2 – *Lactobacillus* sp. O1 is a strong antagonist of *Lactobacillus* sp. M3; 3 – the presence of strains growth in the area of co-cultivation.



Відсутність зон затримки росту досліджених штамів лактобацил за їх спільного культивування на щільному середовищі MRS вказує на їх біосумісність. Згідно отриманих даних, не доцільно поєднувати в комбінаціях штами *Lactobacillus* sp. O1 і *Lactobacillus* sp. M3 (*Lactobacillus* sp. O1 виявився сильним антагоністом до штаму *Lactobacillus* sp. M3) і штаму *Lactobacillus* sp. B4 зі штамом *Lactobacillus* sp. M2, оскільки в цій парі антагоністом є *Lactobacillus* sp. B4. В усіх інших варіантах дослідіу штами були біосумісними. Варто зазначити, що штаму *Lactobacillus* sp. M3 підсилював ріст штаму *Lactobacillus* sp. 175, що є додатковою позитивною ознакою їх відбору для подальших досліджень.

В аналогічних дослідженнях інших авторів показано як механізми, що засновані на харчових взаємодіях, можуть бути використані для створення ефективних комбінацій молочнокислих бактерій [6, 10] і доведено можливість спільного культивування окремих штамів молочнокислих бактерій у вдало підібраних парах, а також отримання багатокомпонентних пробіотичних препаратів [15].

Відповідно до отриманих результатів, а також з урахуванням критеріїв, які висуваються до пробіотичних культур, для створення комбінацій було відібрано три найбільш перспективні штами – *Lactobacillus* spp. 175, M2 та M3.

Усього було створено 7 композицій та 7 консорціумів з різними співвідношеннями об'ємів бульйонних культур використаних штамів (табл. 2).

Наприклад, для створення варіанту А композиційного складу було використано добові бульйонні культури штамів *Lactobacillus* sp. M2, *Lactobacillus* sp. M3 і *Lactobacillus* sp. 175 у співвідношенні 1 : 1 : 1; варіанту В співвідношення культуральних рідин вказаних штамів – 2 : 1 : 1.

Таблиця 2

Варіанти комбінацій на основі досліджених штамів лактобацил

Table 2

Combination's variants of s based on the studied strains of lactobacilli

Варіант		Співвідношення бульйонних культур штамів <i>Lactobacillus</i> sp. M2 + <i>Lactobacillus</i> sp. M3 + <i>Lactobacillus</i> sp. 175
КОМПОЗИЦІЇ	A	1 : 1 : 1
	B	2 : 1 : 1
	C	1 : 2 : 1
	D	1 : 1 : 2
	E	2 : 2 : 1
	F	1 : 2 : 2
	G	2 : 1 : 2
КОНСОРЦІУМИ	H	1 : 1 : 1
	I	2 : 1 : 1
	J	1 : 2 : 1
	K	1 : 1 : 2
	L	2 : 2 : 1
	M	1 : 2 : 2
	N	2 : 1 : 2



У свою чергу, при створенні консорціумів (варіанти Н – N) попередньо змішували добові бульйонні культури відповідних штамів у певних співвідношеннях (табл. 2), а потім вирощували за оптимальних умов.

Останнім часом з'являється все більше публікацій [6–8, 11], що свідчать про потенційні переваги застосування поліштамових (мультиштамових) пробіотичних препаратів порівняно з моноштамовими.

Вважається, що поліштамові пробіотики краще пригнічують патогенні мікроорганізми [7], досить часто спостерігається ефект синергізму, коли бактерії доповнюють дію одна одної [13] і проявляють більш різноманітні функціональні можливості [11]. Однак при створенні поліштамових комбінацій для досягнення максимального ефекту потрібно враховувати не тільки біосумісність пробіотичних штамів, а й інші параметри, а саме, на якому етапі і яким чином поєднувати штами у комбінації, оскільки це може суттєво впливати на прояв пробіотичних властивостей, зокрема антагоністичної активності.

Тому наступним етапом роботи було дослідити антагоністичні властивості створених варіантів щодо тест-штамів мікроорганізмів, які зберігаються у Колекції культур мікроорганізмів ОНУ імені І.І. Мечникова. Необхідно підкреслити, що у варіанті досліду з композиціями кожен штам лактобацил інкубували окремо, в подальшому змішуючи добові суспензії. У цьому випадку кожен штам мав змогу повною мірою синтезувати пригнічувальні речовини за умов традиційного культивування (у MRS-бульйоні, при 37 °С, 24 год). У випадку з консорціумами штами одразу інкубували разом. Це давало можливість оцінити залежність прояву антагоністичної активності від способу поєднання лактобацил у комбінації.

Результати визначення антагонізму створених комбінацій лактобацил наведено у табл. 3.

Усі створені на основі штамів *Lactobacillus* spp. 175, M2 та M3 композиції та консорціуми суттєво пригнічували ріст усіх тест-штамів. Зауважимо, що згідно результатів наших попередніх досліджень, антагоністична активність як композицій, так і консорціумів загалом була вищою у порівнянні з моноштамовими суспензіями вказаних штамів [9]. У переважній більшості випадків зони відсутності росту індикаторів перевищували 20,0 мм.

Найчутливішим до продуктів метаболізму лактобацил у складі створених комбінацій виявився штам *S. saprophyticus* ОНУ 537, розміри зон відсутності росту якого досить часто перевищували 30,0 мм. Найстійкішим – *K. pneumoniae* ОНУ 463, при цьому штами лактобацил у складі композицій краще пригнічували ріст цього індикатора, ніж ці самі штами у складі консорціумів. Загалом варто відзначити, що варіанти композиційного складу незначною мірою краще пригнічували ріст індикаторних мікроорганізмів, порівняно з консорціумами (коли штами лактобацил культивували разом). Можливо, деякі пригнічувальні речовини при сумісному культивуванні штамів інактивують одні інших.



Антагоністична активність створених комбінацій лактобацил

Table 3

Antagonistic activity of created lactobacilli combinations

Варіант	Діаметр зони відсутності росту тест-штаму, мм										
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. Coli</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. utilis</i>	
A	23,67±1,31	22,67±0,65	30,67±0,65	26,67±0,65	22,67±1,31	22,00±1,13	20,67±0,65	20,67±1,31	20,67±0,65	21,33±0,65	
B	22,00±1,13	24,00±1,13	30,00±1,13	25,33±0,65	21,33±0,65	22,33±0,65	23,67±0,65	20,67±0,65	20,00±1,13	20,33±0,65	
C	22,67±1,31	22,67±0,65	32,67±0,65	25,00±1,13	20,67±0,65	21,00±1,13	21,67±0,65	23,33±0,65	20,33±1,31	21,67±1,31	
D	21,00±1,13	22,00±1,13	28,67±0,65	22,00±1,13	20,33±0,65	19,33±0,65	23,33±0,65	22,33±1,73	21,67±0,65	21,67±0,65	
E	23,67±1,73	22,33±1,31	24,00±1,13	22,67±0,65	21,00±1,13	19,67±0,65	22,00±1,13	20,67±1,73	20,33±0,65	23,67±0,65	
F	24,67±0,65	23,33±0,65	33,33±0,65	26,67±0,65	25,00±1,13	24,33±0,65	23,67±0,65	24,00±1,13	21,33±0,65	23,33±0,65	
G	21,33±0,65	21,33±1,31	29,00±1,13	24,67±1,31	21,67±0,65	21,67±1,73	23,33±0,65	21,33±0,65	20,67±1,73	20,67±1,73	
H	21,33±1,31	19,67±0,65	30,33±0,65	21,33±0,65	22,33±1,31	21,33±0,65	19,33±0,65	19,67±0,65	20,67±0,65	18,33±0,65	
I	22,67±0,65	20,67±0,65	28,67±0,65	20,67±1,31	20,00±1,13	22,67±0,65	20,33±0,65	18,33±0,65	18,67±0,65	19,67±0,65	
J	20,67±0,65	21,33±1,31	27,33±0,65	21,67±1,31	21,67±0,65	19,67±0,65	18,33±0,65	20,33±1,31	19,00±1,13	18,33±0,65	
K	22,00±1,13	19,67±1,31	27,00±1,13	20,00±1,13	22,00±1,13	21,33±0,65	18,00±1,13	20,67±1,31	20,67±0,65	20,33±1,31	
L	19,00±1,13	22,67±1,31	26,33±0,65	22,33±0,65	21,33±0,65	22,33±1,31	17,33±0,65	19,00±1,13	19,67±0,65	20,33±0,65	
M	21,33±1,73	20,00±1,13	29,00±1,13	23,00±1,13	23,00±1,13	21,67±1,73	19,67±1,73	20,00±1,13	20,33±1,31	21,00±1,13	
N	18,67±0,65	20,67±1,31	28,67±0,65	22,67±0,65	21,00±1,13	18,33±0,65	19,33±1,73	20,33±0,65	18,33±0,65	21,00±1,13	



У результатах багатьох дослідників також повідомляється про кращий антагоністичний ефект мультиштамових пробіотиків. Так, зокрема у роботі Fijan S. et al. (2018) показано, що пробіотичні препарати на основі штамів лактобацил і біфідобактерій (*Lactobacillus reuteri* DSM 17938 і *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BB-12) є кращими антагоністами ентеропатогенних кишкових паличок, ніж моноштамові пробіотики на основі цих самих штамів, при чому прояв властивостей залежить від способу поєднання штамів у препараті [8]. У дослідженнях Ambalam P. et al. (2015) оцінено антимікробну активність штамів *Lactobacillus paracasei* F8 і *Lactobacillus plantarum* F44 в монота ко-культурах з *Bifidobacterium breve* 46 і *Bifidobacterium animalis sub sp. lactis* щодо клінічних штамів *Clostridium difficile* і гіпервірулентного штаму *Clostridium difficile* NAPI/027. Досліджені штами виявилися сумісними одні з іншими, продемонстрували інтенсивний ріст в ко-культури і значно пригнічували ріст як клінічних штамів *C. difficile*, так і супервірулентного завдяки продукції органічних кислот і термостабільних протеазочутливих протимікробних пептидів [5].

Досить детально описані типи взаємодій ко-культур чи консорціумів [10] і молекулярні механізми, за допомогою яких багатощтамові пробіотики проявляють свою дію, включають міжклітинні комунікації, взаємодію з тканинами господаря та модуляцію імунної системи [12].

У проведених дослідженнях найкращу антагоністичну активність проявила композиція *Lactobacillus* sp. M2 + *Lactobacillus* sp. M3 + *Lactobacillus* sp. 175, що містила бульйонні культури у співвідношенні 1 : 2 : 2 (варіант F). Зони відсутності росту тест-штамів за сумісної дії метаболітів лактобацил варіювали від 21,33±0,65 мм (встановлено для штаму *C. albicans* ОНУ 415) до 33,33±0,65 мм (визначено для штаму *S. saprofiticus* ОНУ 537) (рис. 2). Також ця композиція суттєво пригнічувала ріст й інших тест-штамів, зокрема *S. aureus* ОНУ 223, *P. aeruginosa* ОНУ 211, *S. enteritidis* ОНУ 466 і *K. pneumoniae* ОНУ 463.

Консорціум такого ж складу (варіант М), так само як і моноштамові бульйонні культури, проявили меншу антагоністичну активність, порівняно з композицією у більшості випадків (рис. 2).

Як видно із наведених на рис. 2 даних, за дії антагоністично активних продуктів метаболізму лактобацил у складі композиції F зони відсутності росту майже усіх тест-штамів збільшилися.

Таким чином, на підставі дослідження антагоністичної активності та вивчення біосумісності було відібрано 3 пробіотичних штами молочнокислих бактерій: *Lactobacillus* sp. 175, *Lactobacillus* sp. M2 і *Lactobacillus* sp. M3, і створено 14 варіантів комбінацій. Аналіз антагоністичної активності створених композицій і консорціумів показав, що усі вони суттєво пригнічують ріст тест-штамів мікроорганізмів. Однак прояв активності залежить від способу створення комбінації, найкращий ефект досягається при вирощуванні кожного штаму окремо з подальшим поєднанням бульйонних культур.

Для подальших досліджень щодо удосконалення комплексних препаратів із декількох штамів різних видів пробіотичних мікроорганізмів



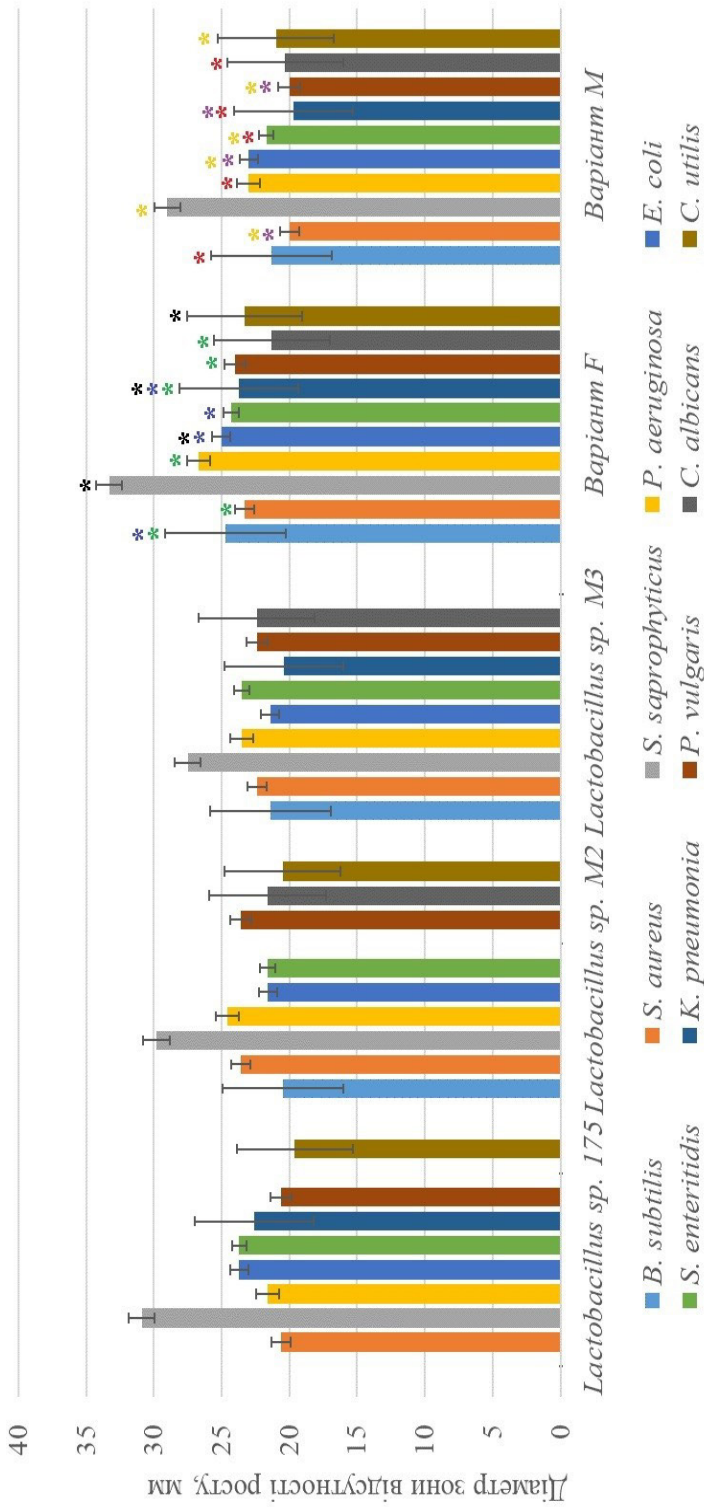


Рис. 2. Антагоністична активність лактобацилл

Примітка: позначення достовірної різниці між дослідженими за критерієм Стьюдента

* *Lactobacillus* sp. 175 ~ Варіант F; * *Lactobacillus* sp. M2 ~ Варіант F; * *Lactobacillus* sp. M3 ~ Варіант F; * *Lactobacillus* sp. 175 ~ Варіант M; * *Lactobacillus* sp. M2 ~ Варіант M; * *Lactobacillus* sp. M3 ~ Варіант M; * *Lactobacillus* sp. M3 ~ Варіант M

Fig. 2. Antagonistic activity of lactobacilli

Note: indicating a significant difference between the studied by Student's criterion

* *Lactobacillus* sp. 175 ~ Variant F; * *Lactobacillus* sp. M2 ~ Variant F; * *Lactobacillus* sp. M3 ~ Variant F; * *Lactobacillus* sp. 175 ~ Variant M; * *Lactobacillus* sp. M2 ~ Variant M; * *Lactobacillus* sp. M3 ~ Variant M

було обрано композицію бульйонних культур штамів *Lactobacillus* sp. M2 + *Lactobacillus* sp. M3 + *Lactobacillus* sp. 175 у співвідношенні 1 : 2 : 2.

I.V. Strashnova, G.V. Yamborko, N.Yu. Vasylieva
Odesa National I.I. Mechnykov University,
2, Dvorianska str., Odesa, 65082, Ukraine, e-mail: fabiyanska@ukr.net

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF LACTOBACILLI PROBIOTIC STRAINS IN CO-CULTIVATION

Summary

Aim. To investigate the antagonistic properties of multistrain compositions and consortia created on the basis of probiotic strains of bacteria of the genus *Lactobacillus*. **Methods.** A biocompatibility was investigated by co-cultivation of lactobacilli strains on MRS-agar medium. To create the compositions used separately grown daily broth cultures in certain proportions, to create consortia - strains of lactobacilli in the appropriate proportions were cultivated together in MRS broth during 24 h. The antagonistic activity of the created combinations against 10 test cultures was determined by the well-diffusion method. **Results.** According to the results of biocompatibility studies, strains of *Lactobacillus* spp. 175, M2 and M3 were selected. These strains were basis for creation 7 compositions and 7 consortia with certain ratios of broth cultures of these strains. Lactobacilli in the compositions show slightly better antimicrobial properties compared to consortia. The composition of *Lactobacillus* sp. M2 + *Lactobacillus* sp. M3 + *Lactobacillus* sp. 175 in a ratio of 1: 2: 2 showed the best antagonistic activity against all test strains of microorganisms. **Conclusions.** Created on the basis of probiotic strains of *Lactobacillus* spp. 175, M2 and M3 compositions and consortia are strong antagonists of different test cultures. Manifestation of activity depends on the method of combining strains in combination, the best effect is achieved by growing each strain separately with subsequent mixing of broth cultures. The most antagonistically active is a composition based on broth cultures of *Lactobacillus* sp. M2 + *Lactobacillus* sp. M3 + *Lactobacillus* sp. 175 in a ratio of 1: 2: 2.

Key words: antagonistic activity, lactobacilli, biocompatibility, compositions, consortia

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Страшнова І.В., Ямборко Г.В., Васильєва Н.Ю. Стійкість штамів лактобацил, виділених з різних джерел, до деяких агресивних чинників травного тракту // Мікробіологія і біотехнологія. – 2019. – № 2 (46). – С. 38–50. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.2\(46\).173176](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.2(46).173176)
2. Страшнова І., Ямборко Г., Васильєва Н. Вплив деяких чинників шлунково-кишкового тракту на життєздатність лактобацил, виділених з різних екологічних ніш // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2019. – Випуск 81. – С. 130–138. <https://doi.org/10.30970/vbi.2019.81.14>
3. Пат. 80934 Україна, МПК (2006) С12Q 1/02, С12Q 1/18, G01N 33/58 на винахід. Спосіб визначення індивідуальної чутливості умовно-патогенних мікроорганізмів до пробіотичного препарату / Лісяна Т.О., Лі-



- сяний М.І., Пономарьова І.Г.; заявл. 28.11.2006; опубл. 12.11.2007, Бюл. № 1. – 20 с.
4. Прилуцький Ю.І., Льченко О.В., Цимбалюк О.В., Костерін С.О. Статистичні методи в біології: підручник. – К.: Наукова думка, 2017. – 216 с.
 5. Ambalam P., Kondepudi K.K., Balusupati P., Nilsson I., Wadstrom T., Ljungh A. Prebiotic preferences of human lactobacilli strains in co-culture with bifidobacteria and antimicrobial activity against *Clostridium difficile* // Journal of Applied Microbiology. – 2015. – Vol. 119 (6). – P. 1672–1682. <https://doi.org/10.1111/jam.12953>
 6. Canon F., Nidelet T., Guédon E., Thierry A., Gagnaire V. Understanding the mechanisms of positive microbial interactions that benefit lactic acid bacteria co-cultures // Frontiers in Microbiology. – 2020. – Vol. 11. – P. 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02088>
 7. Chapman C.M.C., Gibson G.R., Rowland I. In vitro evaluation of single- and multi-strain probiotics: Inter-species inhibition between probiotic strains, and inhibition of pathogens // Anaerobe. – 2012. – Vol. 18 (1). – P. 405–413. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2012.05.004>
 8. Fijan S., Šulc D., Steyer A. Study of the in vitro antagonistic activity of various single-strain and multi-strain probiotics against *Escherichia coli* // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2018. – Vol. 15 (7). – P. 1–15. doi:10.3390/ijerph15071539
 9. Ishchenko T.A., Gordievskaya T.V., Strashnova I.V., Yamborko G.V., Vasylieva N.Yu. Search for new biotechnologically valuable lactobacilli strains // Materials of International conference of young scientists “Modern problems of microbiology and biotechnology (18th - 21st June 2019, Odesa). – Odesa: «Odesa I.I. Mechnikov National University». – 2019. – P. 28–37.
 10. Kapoora R.V., Padmaperumaa G., Maneeina S., Vaidyanathan S. Co-culturing microbial consortia: approaches for applications in biomanufacturing and bioprocessing // Critical Reviews in Biotechnology. – 2022. – Vol. 42, № 1. – P. 46–72. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1921691>
 11. Kobyliak N., Conte C., Cammarota G., Haley A.P., Styriak I., Gaspar L., Fusek J., Rodrigo L., Kruzliak P. Probiotics in prevention and treatment of obesity: a critical view // Nutrition and Metabolism. – 2016. – Vol. 13. – P. 1–13. doi:10.1186/s12986-016-0067-0
 12. Kwoji I.D., Aiyegoro O.A., Okpeku M., Adeleke M.A. Multi-strain probiotics: synergy among isolates enhances biological activities // Biology. – 2021. – Vol. 10. – P. 1–20. <https://doi.org/10.3390/biology10040322>
 13. MacPherson C., Audy J., Mathieu O., Tompkins T.A. Multistrain Probiotic Modulation of Intestinal Epithelial Cells' Immune Response to a Double-Stranded RNA Ligand, Poly(I-C) // Applied and Environmental Microbiology. – 2014. – Vol. 80, № 5. – P. 1692–1700. <https://doi.org/10.1128/AEM.03411-13>.
 14. McFarland L.V. Efficacy of single-strain probiotics versus multi-strain mixtures: systematic review of strain and disease specificity // Digestive Diseases and Sciences. – 2021. – Vol. 66. – P. 694–704. doi: 10.1007/s10620-020-06244-z



15. Mukhammadiev Rish S., Mukhammadieva A.S., Skvortsov E.V., Mukhammadiev Rin S., Glinushkin A.P., Valiullin L.R. Antagonistic properties and biocompatibility as important principles for development of effective and biosafety probiotic drugs // Economic and Phytosanitary Rationale for the Introduction of Feed Plants. OP Conf. Series: Earth and Environmental Science. – 2021. – Vol. 663. – P. 1–8. doi:10.1088/1755-1315/663/1/012008
16. Strashnova I.V., Yamborko G.V., Vasyliieva N.Yu. Biological activity of lactobacilli from different ecological niches of the southern region of Ukraine // Мікробіологія і біотехнологія. – 2020. – № 1 (48). – С. 6–19. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2020.1\(48\).200811](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2020.1(48).200811)
17. Timmerman H.M., Koning C.J.M., Mulder L., Rombouts F.M., Beynen A.C. Monostrain, multistrain and multispecies probiotics – A comparison of functionality and efficacy // Int J Food Microbiol. – 2004. – Vol. 96 (3). – P. 219–233. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.012

REFERENCES

1. Strashnova IV, Yamborko HV, Vasyliieva NIu. Resistance of lactobacilli strains isolated from different source to some aggressive factors of the digital tract. Mikrobiolohiia i biotekhnolohiia. 2019; 2 (46): 38–50. (in Ukrainian). [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.2\(46\).173176](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2019.2(46).173176)
2. Strashnova I, Yamborko H, Vasyliieva N. The influence of some factors of the digestive tract on the lactobacilli lives from different environmental niches. Visnyk Lvivskoho universytetu. Seriiia biolohichna. 2019; 81: 130–138. (in Ukrainian). <https://doi.org/10.30970/vbi.2019.81.14>
3. Pat. 80934 Ukraina, MPK (2006) C12Q 1/02, C12Q 1/18, G01N 33/58 na vynakhid. Method of determining the individual sensitivity of opportunistic pathogens to probiotic preparation. Lisiana TO, Lisiany MI, Ponomarova IH; zaiavl. 28.11.2006; opubl. 12.11.2007, Biul. 1: 20. (in Ukrainian)
4. Prylutskyi YuI, Ilchenko OV, Tsymbaliuk OV, Kosterin SO. Statistical methods in biology: a textbook. K.: Naukova dumka, 2017: 216. (in Ukrainian)
5. Ambalam P, Kondepudi KK, Balusupati P, Nilsson I, Wadstrom T, Ljungh A. Prebiotic preferences of human lactobacilli strains inco-culture with bifidobacteria and antimicrobial activity against *Clostridium difficile*. Journal of Applied Microbiology. 2015; 119 (6): 1672–1682. <https://doi.org/10.1111/jam.12953>
6. Canon F, Nidelet T, Guédon E, Thierry A, Gagnaire V. Understanding the mechanisms of positive microbial interactions that benefit lactic acid bacteria co-cultures. Frontiers in Microbiology. 2020; 11: 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02088>
7. Chapman CMC, Gibson GR, Rowland I. *In vitro* evaluation of single- and multi-strain probiotics: Inter-species inhibition between probiotic strains, and inhibition of pathogens. Anaerobe. 2012; 18 (1): 405–413. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2012.05.004>
8. Fijan S, Šulc D, Steyer A. Study of the in vitro antagonistic activity of various single-strain and multi-strain probiotics against *Escherichia coli*. Int. J. Environ. Res. Public Health. 2018; 15 (7): 1–15. doi:10.3390/ijerph15071539



9. Ishchenko TA, Gordievskaya TV, Strashnova IV, Yamborko GV, Vasylieva NYu. Search for new biotechnologically valuable lactobacilli strains. Materials of International conference of young scientists “Modern problems of microbiology and biotechnology (18th-21st June 2019, Odesa). Odesa: Odesa I.I. Mechnikov National University. 2019: 28–37.
10. Kapoorea RV, Padmaperumaa G, Maneeina S, Vaidyanathan S. Co-culturing microbial consortia: approaches for applications in biomanufacturing and bioprocessing. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2022; 42 (1): 46–72. <https://doi.org/10.1080/07388551.2021.1921691>
11. Kobyliak N, Conte C, Cammarota G, Haley AP, Styriak I, Gaspar L, Fusek J, Rodrigo L, Kruzliak P. Probiotics in prevention and treatment of obesity: a critical view. *Nutrition and Metabolism*. 2016; 13: 1–13. doi: 10.1186/s12986-016-0067-0
12. Kwoji ID, Aiyegoro OA, Okpeku M, Adeleke MA. Multi-strain probiotics: synergy among isolates enhances biological activities. *Biology*. 2021; 10: 1–20. <https://doi.org/10.3390/biology10040322>
13. MacPherson C, Audy J, Mathieu O, Tompkins TA. Multistrain Probiotic Modulation of Intestinal Epithelial Cells’ Immune Response to a Double-Stranded RNA Ligand, Poly(I·C). *Applied and Environmental Microbiology*. 2014; 80 (5): 1692–1700. <https://doi.org/10.1128/AEM.03411-13>.
14. McFarland LV. Efficacy of single-strain probiotics versus multi-strain mixtures: systematic review of strain and disease specificity. *Digestive Diseases and Sciences*. 2021; 66: 694–704. doi: 10.1007/s10620-020-06244-z
15. Mukhammadiev Rish S, Mukhammadieva AS, Skvortsov EV, Mukhammadiev Rin S, Glinushkin AP, Valiullin LR. Antagonistic properties and biocompatibility as important principles for development of effective and biosafety probiotic drugs. *Economic and Phytosanitary Rationale for the Introduction of Feed Plants*. OP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2021; 663: 1–8. doi:10.1088/1755-1315/663/1/012008
16. Strashnova IV, Yamborko GV, Vasylieva NYu. Biological activity of lactobacilli from different ecological niches of the southern region of Ukraine. *Mikrobiologhiia i biotekhnologhiia*. 2020; № 1 (48): 6–19. [http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2020.1\(48\).200811](http://dx.doi.org/10.18524/2307-4663.2020.1(48).200811)
17. Timmerman HM, Koning CJM, Mulder L, Rombouts FM, Beynen AC. Monostrain, multistrain and multispecies probiotics – A comparison of functionality and efficacy. *Int J Food Microbiol*. 2004; 96 (3): P. 219–233. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.012

Стаття надійшла до редакції 01.04.2022 р.



S.L. Golembiovska, L.V. Polishchuk, O.I. Bambura

D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology (IMV), NAS of Ukraine,
154, Zabolotnogo Str, Kyiv, Ukraine, 03680, e-mail: Golembiovska@ukr.net

THE BIOCIDAL ACTION OF METABOLITES OF *STREPTOMYCES GLOBISPORUS* 3-1 AND *STREPTOMYCES CYANOGENUS* S136 STRAINS

Research of the biocidal action of streptomycete-antagonist metabolites on the causative agent of bacterial canker of tomato and on the host-plant fertility is the actual question. Aim. To determine the action of metabolites of Streptomyces globisporus 3-1 and Streptomyces cyanogenus S136 on the phytopathogen Clavibacter michiganensis 10₂ in vitro and on seed germination, growth and yield of tomatoes in vivo. Methods. Microbiological methods in laboratory conditions and descriptive-comparative analysis of growth and development of tomatoes in hothouse conditions were used. Results. S. globisporus 3-1 and S. cyanogenus S136 metabolites inhibited the growth of the phytopathogen C. michiganensis 10₂ with the formation of clean zones 45 and 35 mm in vitro, respectively. Pre-sowing treatment with metabolites of S. globisporus 3-1 and S. cyanogenus S136 of tomatoes Lana seeds reduced germination by 27% for both and led to defects in leaf shape and plant sterility, respectively. Treatment by metabolites of both Streptomyces strains of phytopathogen infected seeds did not improve germination, growth, and yield compared to grown plants from infected seeds, though it were visually not defective, sterile and with signs of bacterial canker of tomato. Conclusion. It was found that metabolites of S. globisporus 3-1 and S. cyanogenus S136 had a biocidal action on the phytopathogen C. michiganensis 10₂ in vitro and on Lana tomatoes in hothouse conditions.

Key words: Biocide, Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis, bacterial canker of tomato, Streptomyces

The term "Biocides" combines toxic substances used in agriculture, industry, veterinary and human medicine against organisms that cause damage to the respective sphere [4].

Phytopathogenic bacterium *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* (Cmm) is the causative agent disease of tomato canker, manifested by spots and ulcers on leaves, fruits, stems and peduncles, affects the vascular system due to the expression of chromosome genes (pathogenicity island *chp/tomA*) and plasmids pCM1 (*celA*), pCM2 (*pat-1*) [2, 16, 17].

Today, the literature offers ecological means of combating infectious diseases in the agricultural sector, which contain metabolites of soil microorganisms, including streptomycetes [1, 3]. According to the literature, more than a third (37–45%) of soil isolates of cultured streptomycetes have an antagonistic activity

© С.Л. Голембіовська, Л.В. Поліщук, О.І. Бамбура, 2022



to Cmm [13, 18], although their effectiveness does not go beyond laboratory conditions. One of the reasons for the small number of drugs against phytopathogens against the background of the mass of the claimed antagonists is the toxicity (biocide) of their metabolites against the host plant. Determination of the active substance after unproductive field studies is usually not performed, and results of works are not published, to break such a closed circle is logical to study the biocide action of known antagonists.

Streptomyces globisporus 3-1 and *Streptomyces cyanogenus* S136 strains, which synthesize landomycins E and A, respectively, were active against Cmm. Landomycins (L) E and A belong to the group of angucycline antibiotics that induce apoptosis of cancer cells (human and animal) due to increase levels of reactive oxygen species (ROS), do not intercalate into DNA and have medical potential of antitumor activity [6, 15]. Little attention has been paid to the study of the effects of such metabolites on phytopathogen-host systems, due to the recommendation not to use medical antibiotics in agriculture [9]. On the other hand, isolates have been isolated from natural niches (*S. globisporus* 3-1 soils of Armenia, *S. cyanogenus* S136 mountains of India [8, 14]), where they affect plant systems, which requires studying the biocide action of their metabolites in different natural models, in particular the phytopathogen-host.

The aim of the study was to determine the action of metabolites of *S. globisporus* 3-1 and *S. cyanogenus* S136 on the phytopathogen *C. michiganensis* 10₂ *in vitro* and on the seed germination, growth and yield of tomatoes *in vivo*.

Materials and methods

The following were used: strain *S. globisporus* 3-1 – landomycin E producer [7, 8] from the Laboratory of Genetics of Microorganisms collection of the Zabolotny Institute of Microbiology and Virology (IMV) of the NASU; strain *S. cyanogenus* S136 – landomycin A producer, kindly provided by D.A. Hopwood of the University of East Anglia; phytopathogen *C. michiganensis* 10₂ – tester [2] from the collection of the Department of Phytopathogenic Bacteria of the IMV NASU. Experiments in the hothouse were carried out using seeds of Lana tomatoes, fruit weight 80–110 g, manufacturer "Yaskravyy".

Streptomycetes growth mediums consist of (g/l): soy flour 20, NaCl 5, glucose 20, pH 7.2 for strain *S. globisporus* 3-1 [7]; oat flour 20 [10], glycerin 10, pH 6.8 for strain *S. cyanogenus* S136; cultures were grown on appropriate agar mediums (15g/l agar) for 3 and 5 days, respectively, 28 °C. Liquid mediums for growing producers contained similar components without agar. Suspensions for cultivation in the liquid medium were obtained by washed off a 7-day culture from surfaces of slants with sterile water V=5 ml. Cultivation of *S. globisporus* 3-1 and *S. cyanogenus* S136 strains in liquid mediums was performed for 2 and 4 days, respectively, shaking at 240 rpm in dark condition at 28 °C. Microbiological agar with phytopathogen cells *C. michiganensis* 10₂ (MA) was prepared on King's B medium [12]. The suspension for MA was prepared from 7-day culture, washed from a slant surface and was filtered through a sterile cotton filter. The final titer MA was 10⁶–10⁷ CFUs.



The antagonistic activity of metabolites of *S. globisporus* 3-1 and *S. cyanogenus* S136 strains against the phytopathogen was investigated by diffusion of substances into agar MA. Blocks of streptomycetes $d=10$ mm were cut from agar medium, placed on MA, cultured at t 28 °C and analysed during 3–14 days. Extraction of metabolites was performed from agar medium $V=40$ ml with chloroform-acetone (2:1), 2–3 hours. The extract was evaporated, dissolved in 2.0 ml of 96% ethanol (alcohol extract) and 100 μ l of an aqueous solution of alcohol extract (1:1) was carried into holes MA $d=10$ mm. Separation of extracts of the metabolites complexes was done by thin-layer chromatography (TLC) [7], followed by determination of the active ingredient by diffusion into agar MA.

Tomato seeds were treated with substances $V=10$ ml for all variants according to the scheme shown in table 1. The seeds were sown in non-sterile soil of the hothouse and were lightly watered every day.

Table 1

Conditions and time of treatment of Lana tomatoes seeds

Code	Seed processing conditions (15 pcs.), Time of treatment
Control	Tap water, 1 hour
B	Suspension of <i>C. michiganensis</i> 10 ₂ , titer 108–109 CFUs, 1 h
M3-1	Culture fluid with Metabolites of strain <i>S. globisporus</i> 3-1, 2 hours
MS136	Culture fluid with Metabolites of strain <i>S. cyanogenus</i> S136, 2 hours
B+M3-1	Bacterial suspension, 1 h Culture fluid with Metabolites <i>S. globisporus</i> 3-1, 2 h
B+MS136	Bacterial suspension, 1 h Culture fluid with Metabolites <i>S. cyanogenus</i> S136, 2 hours

The content of landomycins in the metabolites complex of the studied strains was calculated mathematically. Landomycin E (LE) accumulates in the medium in the amount of 200 mg/l [7], landomycin A (LA) – 80 mg/l [10]. The 50 μ l of extracts introduced into the well theoretically contained up to 0.2 mg LE and 0.08 mg LA, the concentration during seed treatment was up to 0.2 mg/ml LE and 0.08 mg/ml LA.

Results and discussion

Metabolites of *S. globisporus* 3-1 and *S. cyanogenus* S136 strains have demonstrated an antagonistic activity against the phytopathogen. Clean zones (inhibition of phytopathogen growth) with diameters of 45 and 35 mm formed around agar blocks (Fig. 1.A) and holes with extracts (Fig. 1B) of *S. globisporus* 3-1 and *S. cyanogenus* S136 strains, respectively. However, after 7 days, the clean zones around the blocks of the studied strains and holes with streptomycetes metabolites decreased with the formation of no pigment zones of phytopathogen with zone widths in 10 ± 3 mm and 5 ± 1 mm, respectively. It should be noted that the biocide action of extracts of metabolites *S. globisporus* 3-1



and *S. cyanogenus* S136 against the phytopathogen were equivalents. Clean zones on the phytopathogen lawns around holes into which the same volumes of extracts were applied, almost did not differ in size (Fig. 1B). However, the concentration in the LE extract (0.2 mg) was 2.5 times higher than the concentration of LA (0.08 mg). It can be assumed that the phytopathogen *C. michiganensis* 10₂ is more sensitive to *S. cyanogenus* S136 metabolite than to *S. globisporus* 3-1 ones *in vitro*.

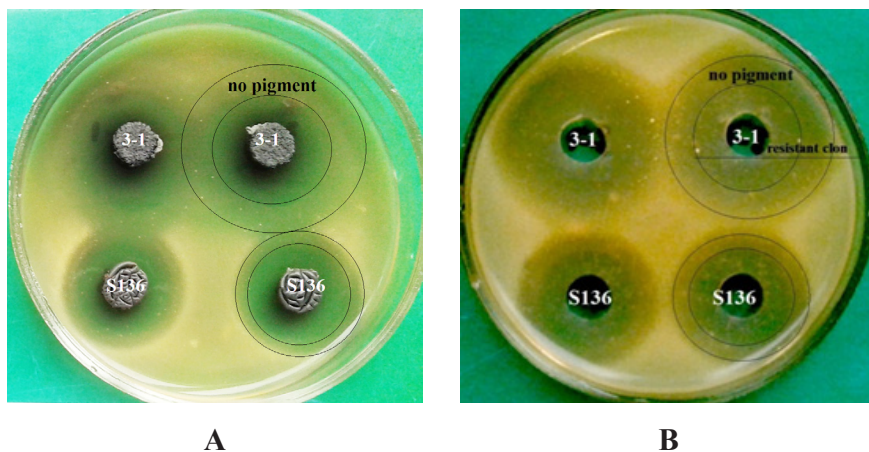


Fig. 1. Actions of metabolites *S. globisporus* 3-1 (photo 3-1) and *S. cyanogenus* S136 (photo S136) strains (A) and their extracts (B) against *C. michiganensis* 10₂ (lawn), 10 days

The effect of *Streptomyces* metabolites on the formation of no pigmented zones of phytopathogen after 7 days of cultivation was proved by the holes method. According to the literature, *C. michiganensis* 10₂ cells accumulate lipids, the synthesis of which is visually manifested by pigmentation on certain media [2]. Probably, lipids oxidation could protect phytopathogen cells on the periphery of the zones against the action of metabolites of the studied strains, which was manifested by the absence of culture pigmentation.

Separated by TLC metabolites LE and LA showed antagonism to phytopathogen without formation of no pigment zones after 7 days. An unequivocal mind response of the effect of purified metabolites of the studied strains on the growth of phytopathogen without pigmentation was not obtained. According to the literature, the strain *C. michiganensis* 10₂ does not synthesize enzymes of oxidative protection [2], which would protect the culture from ROS, provoked by LE and LA. Whereas lipid synthesis probably depended on the complex action of metabolites of *S. globisporus* 3-1 and *S. cyanogenus* S136 strains.

The next step was to compare the biocide activity of metabolites *S. globisporus* 3-1 and *S. cyanogenus* S136 on the germination, growth and yield of Lana tomatoes whose seeds were infected with phytopathogen and uninfected in the hothouse (Table 2). Seeds germination in all treated variants was lower than control: B, B+M3-1 and B+MS136 had almost twice lower level of germination; M3-1 and MS136 had 73% seeds germination for both (Table 2). Shoots length of the juvenile period of the tomato were different in variants: M3-1 and MS136

were at the level of control; B and B+M3-1 were twice lower than control; B+MS136 had severe growth retardation. In last variant the additive effect of phytopathogen and producer metabolites on tomato seeds and plants was observed. In all, the effect of *S. globisporus* 3-1 metabolite on the processes of the juvenile period of tomato development was less than that of *S. cyanogenus* S136 ones.

Table 2

The analysis of treatment seed germination Lana tomatoes their growth and yield in hothouse conditions

Code*	Germination, pcs (%)	Shoot length**, cm	Fruits number from the bush, pcs	Fruit weight, g
Control	15 (100)	8–9	10–13	30–110
B	8 (53)	4–5	10–13	20–50
M3-1	11 (73)	8–10	6–8	20–50
MS136	11 (73)	7–8	Flowers without ovary, no fruit	
B+M3-1	9 (60)	5–5.5	6–8	20–50
B+MS136	8 (53)	2–3	5–6	20–50

Note: *code of variants see in table 1; ** shoot length was measured after one month of growth.

During the flowering and fruiting period, differences were observed for MS136 tomatoes, the plants of which did not form ovaries for fruit formation without visual defect of flowers. The appearance of plants from seeds M3-1 was been with lowered and twisted leaves throughout the growing season (Fig. 2), in other cases similar leaves was not observed.



Fig. 2. Defective leaves of plants from seeds treated with metabolites *S. globisporus* 3-1



Fruit ripening for all plants was timely and even, without acceleration and delay. Yield of variant B tomatoes did not differ quantitatively from controls, but their fruits were smaller and the plants had visual signs of bacterial cancer of tomatoes: spotting on the surface of the fruit, dense streaks inside the fruit, drying of shoots during fruiting. The yield of tomatoes of variants M3-1, B+M3-1 and B+MS136 was less fruits than of control and variant B, although the weight of fruits did not differ from variant B ones. Visually, plants from seeds infected and treated with metabolites of seeds (B+M3-1 and B+MS136) had no signs of bacterial canker of tomatoes in the hothouse.

As a result of research in the hothouse, the biocide action of metabolites of researched strains on Lana tomatoes *in vivo* was revealed. Metabolites of *S. globisporus* 3-1 and *S. cyanogenus* S136 strains with 0.2 mg/ml LE and 0.08 mg/ml LA were toxic to Lana tomatoes, which led to the defect of leaves and plants sterility, respectively. Plants from infected and treatment of metabolites seeds visually showed no signs of bacterial canker of tomatoes, shoots developed normally, sterility was absent. However, their germination, growth and yield were lower than those of infected seeds.

Our results show the negative action on the host plant of the use of streptomycetes metabolites, which are active against the phytopathogen *C. michiganensis* 10₂ in the laboratory. *Streptomyces* are promising as antagonists to phytopathogens, but sometimes only *in vitro* because researchers in the initial analysis do not know of their active substances and continue to work with the most active of them, which may not meet expectations. For example, we studied the soil streptomycete-isolate active against *C. michiganensis* 10₂ *in vitro*, but treatment by its metabolites of tomato seeds led to plant sterility. The studies were not continued due to economic inexpediency.

Cells of the phytopathogen penetrate to seed, develops in the intercellular space of the shoot, clogging vessels and preventing the access of nutrients to plant organs, which contributes to delayed shoot growth or seed lysis. Dry seeds in a humid environment absorb the liquid with substances that pass through the seed coat (testa) and through the micropyle (pore). In our case, these are metabolites *S. globisporus* 3-1 and *S. cyanogenus* S136, in particular LE and LA. According to the literature, the antitumor effect of landomycin E is provided by increasing hydrogen peroxide, which reduces transmembrane mitochondrial potential and ATP synthesis in tumor [6], the action of landomycin A after 1 h increases 5 times the level of ROS, which after 6 h led to the fragmentation of the nucleus [15]. That is, the action of both landomycins results in the degradation of nuclear material due to the formation of ROS. The latter are also products of seed synthesis during germination, as they are involved in testicular destruction, cellular respiration, protection against pathogenic microorganisms and are controlled by seed enzymes oxidoreductases [11]. However, it was shown that the action of the complex of metabolites *S. globisporus* 3-1 with a LE 0.2 mg/ml provided a defective condition of the plant, which is characteristic of the violation of abiotic factors (water, P, K and Mg) [5]. Treatment of seeds by metabolites of *S. cyanogenus* S136 strain with LA in the amount of 0.08 mg/ml led to the sterility of Lana tomatoes. The effect of metabolites of *S. globisporus* 3-1 and *S. cyano-*



genus S136 strains with concentrations of 0.2 mg/ml LE and 0.08 mg/ml LA on infected Lana tomato seeds had a contradictory effect: on the one hand, the plants showed no signs of tomato bacterial canker, on the other hand, the metabolites had a negative effect on the growth and yield of Lana tomatoes, but without defective shoots and sterility of flowers.

Conclusions

The antagonism of *S. globisporus* 3-1 and *S. cyanogenus* S136 metabolites against the phytopathogen *C. michiganensis* 10₂ in laboratory conditions was established. The biocide action of metabolites of the studied strains on Lana tomatoes developed from phytopathogen-infected and uninfected seeds in hothouse conditions was revealed. Metabolites of *S. cyanogenus* S136 (with LA 0.08 mg/ml) had a more pronounced inhibitory effect on the seed germination and yield of Lana tomatoes than metabolites of *S. globisporus* 3-1 (with LE 0.2 mg/ml).

С.Л. Голембіовська, Л.В. Поліщук, О.І. Бамбура

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, вул.
Академіка Заболотного 154, Київ, Україна, 03680, e-mail: Golembiovaska@ukr.net

БІОЦИДНА ДІЯ МЕТАБОЛІТІВ ШТАМІВ *STREPTOMYCES GLOBISPORUS* 3-1 ТА *STREPTOMYCES CYANOGENUS* S136

Реферат

Актуальним є дослідження біоцидної дії метаболітів стрептоміцетів-антагоністів до збудника бактеріального раку помідорів та на плодовитість рослини-хазяїна. **Мета.** Визначити дію метаболітів штамів *Streptomyces globisporus* 3-1 та *Streptomyces cyanogenus* S136 проти фітопатогену *Clavibacter michiganensis* 10₂ *in vitro* та на схожість насіння, ріст та урожайність помідорів *in vivo*. **Методи.** Застосовували мікробіологічні методи в лабораторних умовах та описово-порівняльний аналіз росту та розвитку помідорів в умовах теплиці. **Результати.** Метаболіти *S. globisporus* 3-1 та *S. cyanogenus* S136 пригнічували ріст фітопатогену *C. michiganensis* 10₂ з зонами 45 та 35 мм *in vitro*, відповідно. Передпосівна обробка метаболітами продуцентів *S. globisporus* 3-1 та *S. cyanogenus* S136 насіння помідорів сорту Ляна знижувала схожість на 27% для обох, призводила до дефектів форм листя та стерильності рослин, відповідно. Обробка інфікованого насіння метаболітами обох штамів стрептоміцетів не покращували схожість, ріст та урожайність в порівнянні з розвитком рослин з інфікованого насіння, хоча вони візуально не мали дефектності та стерильності та ознак бактеріального раку помідорів в умовах теплиці. **Висновок.** Встановлено, що метаболіти штамів *S. globisporus* 3-1 та *S. cyanogenus* S136 мають біоцидну дію до фітопатогену *C. michiganensis* 10₂ *in vitro* та на помідори сорту Ляна в умовах теплиці.

Ключові слова: Біоцидна дія, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, бактеріальний рак помідорів, *Streptomyces*



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Белявская Л.А., Ефименко Т.А., Ефременкова О.В., Козырицкая В.Е., Иутинская Г.А. Идентификация и антагонистические свойства почвенного стрептомицета *Streptomyces sp.* 100 // Мікробіол. журн. – 2016. – Т. 78, № 2. – С. 61–73.
2. Гвоздяк Р.І., Мороз С. М., Яковлева Л. М., Черненко Є. П. Етіологія масового захворювання томатів у господарствах України // Мікробіол. журн. – 2009. – Т. 71, № 5. – С. 33–40.
3. Громико О. Антагоністичні властивості актиноміцетів, виділених із ризосфери чистотілу великого *Chelidonium majus* L // Вісник Львівського ун-ту, Серія біологічна. – 2014. – Т. 64. – С. 279–286.
4. Електронний ресурс – Режим доступу: <https://itd.rada.gov.ua/billInfo/Bills/pubFile/442335>
5. Електронний ресурс – Режим доступу: <https://valest.com.ua/skruchujutsja-listja-na-pomidorah/>
6. Кориневська А.В. Механізми цитотоксичної дії ландоміцину Е на пухлинні клітини *in vitro*: Дис. канд. біол. наук. Л., 2009. – 126 с.
7. Лаврінчук В.Я., Коменко К.А., Голембіовська С.Л., Мацелюх Б.П. Одержання і характеристика мутантів *Streptomyces globisporus* 1912 з підвищеним біосинтезом ландоміцину Е // Мікробіол. журн. – 2011. – Т. 73, № 6. – С. 31–35.
8. Поліщук Л.В., Ганусевич І.І., Мацелюх Б.П. Вивчення протипухлинної дії антибіотиків, що продукуються *Streptomyces globisporus* 1912, на моделі карциноми Герена шурів // Мікробіол. журн. – 1996. – Т. 58, № 2. – С. 55–58.
9. Романчук Л.В., Кравець Н.Я., Клімнічук С.І. Антибіотикорезистентність умовно-патогенних мікроорганізмів: актуальність, умови виникнення, шляхи подолання // Інфекційні хвороби. 2019. – Т. 4. – С. 63–71.
10. Тодосійчук Т.С., Федоренко В.О., Молочко М.В., Громико О.М. Розроблення умов глибинного біосинтезу антибіотика ландоміцину А // Вісник КПІ. – 2017. – № 3. – С. 82–88.
11. Electronic resource – Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/57019>. Free radicals and antioxidant system in seed biolodgy. 2017.
12. Electronic resource – Available from: https://wiki.bugwood.org/Kings_medium_B4.Laboratory_Guide_for_the_Identification_of_Plant_Pathogenic_Bacteria.1980.
13. Golembiowska S.L., Bambura O.I., et al. Antagonism of *Streptomyces* species 26UF7 and 35NG3 to *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂ // Mikrobiol.Z. – 2020. – Т. 82, № 2. – С. 60–66 (in Ukrainian).
14. Henke I.T., Rohr J., Beale J.M., Schwenen L. Landomycins, new angucycline antibiotics from *Streptomyces sp.* I. Structural studies on landomycins A-D // J Antibiot. – 1990. – V. 43. – P. 492–503
15. Lehka L.V., Panchuk R.R., Berger W., Rohr Ju., Stoika R.S. The role of reactive oxygen species in tumor cells apoptosis induced by landomycin A // Ukr. Biochem.J – 2015. – V. 87, № 5. – P. 72–82.



16. Nandi M., Macdonald J., et al. *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*: bacterial canker of tomato, molecular interactions and disease management // Mol Plant Pathol. – 2018. – V. 19, № 8. – P. 2036–2050.
17. Thapa S.P., Pattathil S., et al. Genomic analysis of *Clavibacter michiganensis* reveals insight into virulence strategies and genetic diversity of a Gram-positive bacterial pathogen // Mol.Plant–Microbe Interact. – 2017. – V. 30. – P. 786–802 .
18. Zhang W., Yang W., Meng Q., Li Y., Liu D. Screening and identification of antagonistic *Streptomyces* spp. against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from tomato rhizosphere // Frontiers of Agriculture in China. – 2010. – V. 4, № 2. – P. 159–164.

REFERENCES

1. Biliavska LA, Efimenko TA, et al. Identification and antagonistic properties of the soil streptomycete *Streptomyces* sp. 100. Microbiol. Z. 2016; 78(2):61-73 (in Russian) doi: <https://doi.org/10.15407/microbiolj78.02.061>
2. Gvozdyak RI, Moroz SM, Yakovleva LM, Chernenko EP. Etiology of mass disease of tomatoes at the farms of Ukraine. Mikrobiol. Z. 2009; 71(5):33-40 (in Ukrainian) http://nbuv.gov.ua/UJRN/MicroBiol_2009_71_5_7
3. Gromyko O. Antagonistic properties of actinomycetes isolated from the rhizosphere of celandine large *Chelidonium majus*. Bulletin of Lviv University. Biological series. 2014; 64:279–286 (in Ukrainian) Available from:file:///D:/Downloads/8222-16122-1-PB%20(1). pdf
4. Electronic resource – Available from: <https://itd.rada.gov.ua/billInfo/Bills/pubFile/442335>
5. Electronic resource – Available from:<https://valest.com.ua/skruchujutsja-list-ja-na-pomidorah/>
6. Korynevskaya AV. Mechanisms of cytotoxic action of landomycin E on tumor cells in vitro. Dissertation for the degree of Biological Sciences Candidate. L. 2009; 126p (in Ukrainian)
7. Lavrinchuk VYA, Kotenko KA et al. Obtaining and characterization of mutants of *Streptomyces globisporus* 1912 with increased biosynthesis of landomycin E. Microb.Z. 2011.73 (6):31-35 (in Ukrainian) doi: 10.20535/1810-0546.2017.3.96444
8. Polishchuk LV, Hanusevych II, Matseliukh BP. The antitumor action of antibiotics produced by *Streptomyces globisporus* 1912 studied in a model of Guerin's carcinoma in rats. Mikrobiol.Z. 1996; 58(2):55-8 (in Ukrainian)
9. Romanyuk LB, Kravets N.Ya. et al. Antibiotic resistance of opportunistic pathogens: relevance, conditions of occurrence, ways to overcome. 2019; (in Ukrainian) doi: 10.11603/1681-2727.2019.4.10965
10. Todosiychuk TS, Fedorenko VO, Molochko MV, Gromyko OM. Development of conditions for deep biosynthesis of the antibiotic landomycin A. KPI. 2017; (3):82-88 (in Ukrainian)
11. Electronic resource – Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/570193>.



12. Electronic resource – Available from: https://wiki.bugwood.org/Kings_medium_B
13. Golembiowska SL, Bambura OI, et al. Antagonism of *Streptomyces* species 26UF7 and 35NG3 to *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 10₂. Mikrobiol.Z. 2020; 82(2): 60-66 doi: <https://doi.org/10.15407/mikrobiolj82.02.060> (in Ukrainian).
14. Henkel T, Rohr J, Beale JM, Schwenen L. Landomycins, new angucycline antibiotics from *Streptomyces* sp. I. Structural studies on landomycins A-D. J Antibiot 1990. 43:492–503. doi: 10.7164/antibiotics.43.492.
15. Lehka LV, Panchuk RR, Berger W, Rohr Ju., Stoika RS. The role of reactive oxygen species in tumor cells apoptosis induced by landomycin A. Ukr. Biochem. J., 2015; 87(5):72-82. doi:<https://doi.org/10.15407/ubj87.05.072>.
16. Nandi M, Macdonald J, et al. *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*: bacterial canker of tomato, molecular interactions and disease management. Mol Plant Pathol. 2018; 19(8):2036-2050. doi: 10.1111/mpp.12678.
17. Thapa SP, Pattathil S, et al. Genomic analysis of *Clavibacter michiganensis* reveals insight into virulence strategies and genetic diversity of a Gram-positive bacterial pathogen. Mol. Plant–Microbe Interact. 2017; 30:786–802. doi: 10.1094/MPMI-06-17-0146-R.
18. Zhang W, Yang W, Meng Q, Li Y, Liu D. Screening and identification of antagonistic *Streptomyces* spp. against *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from tomato rhizosphere. Frontiers of Agriculture in China. 2010; 4(2):159–164. doi: <https://doi.org/10.1007/s11703-010-0095-x>.

Стаття надійшла до редакції 06.04.2022 р.



ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ

Науковий журнал «Мікробіологія і біотехнологія» запрошує Вас до співпраці з питань висвітлення результатів наукових досліджень у галузі мікробіології і біотехнології.

Програмні цілі видання: висвітлення результатів наукових досліджень у галузі мікробіології та біотехнології, об'єктами яких є прокаріотні (бактерії, архебактерії), еукаріотні (мікроскопічні гриби, мікроскопічні водорості, найпростіші) мікроорганізми та віруси.

Тематична спрямованість: мікробіологія, вірусологія, імунологія, молекулярна біотехнологія, створення та селекція нових штамів мікроорганізмів, мікробні препарати, антимікробні засоби, біосенсори, діагностикуми, мікробні технології в сільському господарстві, мікробні технології у харчовій промисловості; захист та оздоровлення навколишнього середовища; отримання енергоносіїв та нових матеріалів тощо.

Мова (мови) видання: українська, англійська.

Рубрики журналу: «Оглядові та теоретичні статті», «Експериментальні праці», «Дискусії», «Короткі повідомлення», «Хроніка наукового життя», «Сторінки історії», «Ювілеї і дати», «Рецензії», «Книжкова полиця».

До статті додається рекомендація установ, організацій, у яких виконувалася робота, за підписом керівника та письмова згода керівників установ, організацій, де працюють автори.

Вимоги до оформлення статей, які подаються до редакції журналу:

Стаття має відповідати тематичному спрямуванню журналу і, відповідно до п. 3 Постанови ВАК України від 15.01.2003 р. №7-5/1, включати такі структурні елементи: постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями; аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано вирішення даної проблеми і на які опирається автор; виокремлення раніше не вирішених частин загальної проблеми, котрим присвячується стаття; формулювання мети статті (постановка завдання); виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням наукових результатів; висновки з даного дослідження і перспективи подальших пошуків у даному напрямі.

До друку приймаються рукописи (2 примірники) обсягом до 18 сторінок (з урахуванням рисунків, таблиць і підписів до них, анотації, реферату, списку літератури), огляди – до 30 стор., рецензії – до 3 стор., короткі повідомлення – до 2 стор. Відхилені рукописи не повертаються.

До рукопису додається електронний варіант рукопису шрифт Times New Roman, кегль 14, інтервал автоматичний, не більше 30 рядків на сторінці, поля по 2 см).

При написанні статті необхідно дотримуватися такого плану:

- індекс УДК у лівому верхньому кутку першого аркуша;
- Реферат мовою оригіналу статті:
 - назва статті великими літерами;
 - прізвища та ініціали автора (авторів);
 - місце роботи кожного автора; повна поштова адреса установи (за міжнародними стандартами); телефон, електронна адреса (e-mail);



- прізвища авторів та назви установ, де вони працюють, позначають одним і тим самим цифровим індексом (вгорі);
- реферат із зазначенням новизни дослідження (200–250 слів);
- ключові слова (не більше п'яти).

- Реферат англійською мовою:

- назва статті великими літерами;
- прізвища та ініціали автора (авторів), транслітерація;
- місце роботи кожного автора; повна поштова адреса установи (за міжнародними стандартами); телефон, електронна адреса (e-mail);
- прізвища авторів та назви установ, де вони працюють, позначають одним і тим самим цифровим індексом (вгорі);
- реферат із зазначенням новизни дослідження (200–250 слів);
- ключові слова (не більше п'яти);

- Повний текст статті мовою оригіналу.

Текст статті має включати такі складові:

вступ; матеріали і методи; результати та їх обговорення; висновки; список використаної літератури мовою оригіналу цитованої статті, список використаної літератури (Referens) англійською мовою (за вимоги міжнародних наукометричних баз).

До кожного примірника статті додається реферат мовою оригіналу статті та українською/англійською мовою.

Враховуючи, що реферат відображає основний зміст статті і використовується в інформаційних, в тому числі автоматизованих системах для пошуку документів та інформації, необхідно дотримуватися певних вимог при його написанні:

- реферат має бути інформативним (не містити зайвих слів);
- структурованим, тобто містити розділи: мета; методи, що використані в роботі та/або методологія проведення досліджень; результати та сфера їх застосування; висновки;
- англійська версія реферату має бути написана якісною англійською мовою (за потреби доцільно користуватися послугами кваліфікованих спеціалістів-лінгвістів з подальшим науковим редагуванням тексту автором), з використанням термінології, яка використовується в англійськомовних медикобіологічних журналах, уникати використання термінів, які є прямою українською/російською калькою;
- компактним (200–250 слів);
- ключові слова (не більше 5-ти) розміщуються з абзацу після реферату.

У кінці тексту статті указати прізвища, імена та по-батькові усіх авторів, поштову адресу, телефон, факс, e-mail (для кореспонденції).

Стаття має бути підписана автором (усіма авторами) з зазначенням дати на останній сторінці.

Автори несуть повну відповідальність за бездоганне мовне оформлення тексту, особливо за правильну наукову термінологію (її слід звіряти з фаховими термінологічними словниками).

Латинські біологічні назви видів, родів подаються курсивом латиницею.



Якщо часто повторювані у тексті словосполучення автор вважає за потрібне скоротити, то абревіатури за першого вживання обумовлюють у дужках. Наприклад: полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР).

Посилання на літературу подаються у тексті статті, цифрами у квадратних дужках, згідно з порядковим номером у списку літератури.

Розділ «Матеріали і методи»:

- Методи дослідження та схеми експерименту мають бути представлені так, щоб їх можна було відтворити.
- Для використаних реактивів та матеріалів вказати назву компанії та країни-виробника.
- Одиниці вимірювання вказати в системі СІ.
- Концентрацію розчинів представляти в М, мМ, мкМ (молярна концентрація).
- Молекулярну масу (Мм) – Да (дальтони) або кДа.
- При використанні ферментів навести їх номенклатурну систематичну назву та шифр.
- Активність ферментів виражають в мкмольх використаного субстрату або утвореного продукту за 1 хв на 1 мг протеїну або використати стандартну одиницю активності U (IU) і катал (скорочено кат), питома активність ензиму виражається в ммольх/хв на 1 мг протеїну або в од.акт/мг, кат/кг.
- Вказати умови проведення ферментативної реакції (температура, рН, концентрація субстрату).
- Вказати використані методи статистичного аналізу, програму статистики.

Таблиці мають бути компактними, мати порядковий номер; графи, колонки мають бути точно визначеними логічно і графічно. Матеріал таблиць (як і рисунків) має бути зрозумілим і не дублювати текст статті. Цифровий матеріал таблиць слід опрацювати статистично.

Рисунки виконуються у вигляді чітких креслень (за допомогою комп'ютерного графічного редактора у форматі Word, TIF, JPG). Осі координат на графіках мають бути позначені. Рисунки розміщуються у тексті статті.

До рисунків мають бути підписи не згруповані з ним і не вставлені в об'єкт рисунка.

Позначення на рисунку мають бути інтегровані в нього, тобто копіюватися разом з рисунком, а не окремими частинами.

Всі ілюстрації мають бути розміщені в файлі рукопису, також обов'язково додані до електронного варіанту у вигляді файлів формату JPEG.

Підписи, а також пояснення, примітки до таблиць та рисунків подаються мовою оригіналу та англійською мовою.

Розділ «Результати досліджень та їх обговорення» має бути написаний коротко: необхідно чітко викласти виявлені ефекти, показати причинно-результативні зв'язки між ними, порівняти отриману інформацію з даними літератури, дати відповідь на питання, поставлені у вступі.



Список використаної літератури

1. Список використаної літератури в оригіналі цитованої статті складається за алфавітно-хронологічним порядком (спочатку кирилиця, потім латиниця). Якщо перший автор у декількох працях один і той самий, то праці розміщуються у хронологічному порядку. Список посилань треба пронумерувати, а у тексті посилатися на відповідний номер джерела літератури (у квадратних дужках).

У посиланні пишуть прізвища усіх авторів. В експериментальних працях має бути не більше 15 посилань літературних джерел.

Патентні документи розміщуються у кінці списку посилань.

2. Список використаної літератури англійською мовою (Referens), за вимогами міжнародних наукометричних баз.

Стиль шрифту – NLM (National Library of Medicine).

Прізвища, імена та по-батькові авторів, назву цитованого видання (журнал, монографія, збірник тощо) наводять послуговуючись безкоштовними сайтами (<http://www.easybib.com/>, <http://www.bibme.org/>, <http://www.sourceaid.com/>, <https://www.citethisforme.com/>), що дозволяють здійснити переклад з використанням однієї з міжнародних систем транслітерації.

Назви статей наводять англійською мовою.

Порядок подання посилань Referens (список 2) має повністю співпадати зі списком використаної літератури (список 1).

Зразки посилання літератури

Вимоги до оформлення бібліографічних посилань мовою оригіналу (в тому числі цитовані англомовні джерела)

На книги

Векірчик К. М. Мікробіологія з основами вірусології. – К.: Либідь, 2001. – 312 с.

Патика В. П., Тихонович І. А. Мікроорганізми і альтернативне землеробство. – К.: Урожай, 1993. – 176 с.

Промышленная микробиология / Под ред. Н. С. Егорова. – М.: Высш. шк., 1989. – 688 с.

Методы общей бактериологии: В 3 т. / Под ред. Ф. Герхардта. – М.: Мир, 1983. – Т. 1. – 536 с.; Т. 2. – 470 с.; – Т. 3. – 263 с.

Шлегель Г. Общая микробиология. – М.: Мир, 1987. – 566 с.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. – 9th ed. – Baltimore; London, 1986. – Vol. 2. – 1599 p.

Rogers H., Perkins H., Ward I. Microbial cell walls and membranes. – London; New York: Fcfd. Press, 1980. – 364 p.

На журнальні статті

Подгорский В. С. Систематическое положение, экологические аспекты и физиолого-биохимические особенности микроорганизмов, имеющих промышленное значение // *Мікробіол. журн.* – 1998. – 60, № 5. – С. 27–42.

Андреюк Е. И., Козлова И. А., Рожанская А. М. Микробиологическая коррозия строительных материалов // *Биоповреждения в строительстве*. – М.: Стройиздат, 1984. – С. 209–221.



Глоба Л. І., Подорван Н. І. Біотехнологія очищення забрудненої природної води // Вісник ОНУ. – 2001. – т. 6, в. 4. – С. 65 – 67.

Eaton R. W., Ribbons D. V. Utilization of phthalate esters by micrococci // Arch. Microbiol. – 1982. – 132, № 2. – P. 185–188.

На тези доповідей

Мацелюх Б. П. Розробка біотехнології одержання ландоміцину Е // Міжнародна наук. конф. «Мікробні біотехнології» (Одеса, вересень, 2006 р.): тез. доп. – О.: «Астропринт», 2006. – С. 17.

На депоновані наукові роботи

1. Лопатина Н. В., Терентьев А. Н., Наталич Л. А., Янгулов Ш. У. Оптимизация питательной среды для культивирования вакцинного штамма чумного микроба с применением метода математического планирования эксперимента / Редкол. «Микробиол. журн.» – К., 1991. – 7 с. – Деп. в ВИНТИ 03.01.92, № 1-В92.

На стандарти

ГОСТ 20264.4-89. Препараты ферментные. Методы определения амилолитической активности. – М.: Изд-во стандартов, 1989. – 17 с.

На автореферати дисертацій

Онищенко О. М. Таксономія і антибіотична активність *Alteromonas*-подібних бактерій Чорного моря: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. К., 2003. – 21 с.

Зразки посилань літератури в романській абетці

References

Стиль шрифту для англomовного варіанту списку джерел – NLM (National Library of Medicine), зразок:

Author AA, Author BB, Author CC. Title of article. Title of Journal. 2005; 10 (2):49–53.

Статті в журналах:

DeLong EF, Karl DM. Genomic perspectives in microbial oceanography. Nature. 2015;(437):336–342.

Klochkov VK, Kavok NS, Malyukin YuV. The effect of specific interaction of nanocrystals GdYVO₄:Eu³⁺ with cell nuclei. Dop Nats Akad Nauk Ukr. 2010;(10):81–86.

Книги:

Best RJ. Tomato spotted wilt virus. In: Advances Virus Res Eds Smith KM, Lauffer MA. Academic Press, New York, 1968:65–146.

Speissel B, Beahrs OH, Hermanek P, Hutter RVP, Scheibe O. TNM atlas: illustrated guide to the TNM. pTNM classification of malignant tumours. Berlin New York: Springer-Verlag. 1989. 12.

Sastry SK. Seed-borne plant virus diseases. India: Springer, 2013. 327 p.

Матеріали з'їздів, конференцій:

Dikova B, Djourmanski A, Lambev H. Establishment of economically important viruses on *Echinacea purpurea* and their influence on the yield. In: Proceedings of the conference «Innovative aspects to coneflower study». Ed. Pospelov S. Poltava: Dyvosvit, 2013:36–45.



**АЛФАВІТНИЙ ПОКАЖЧИК СТАТЕЙ,
ОПУБЛІКОВАНИХ У ЖУРНАЛІ
«МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛГІЯ»
У 2021 РОЦІ**

Автори	№ вип.	№ стор.
<i>Бурлака Т.В. див. Гудзенко Т.В.</i>	2	40
<i>Васильєва Н.Ю. див. Коротаєва Н.В.</i>	3	84
<i>Васильєва Н.Ю., Ямборко Г.В., Мерліч А.Г., Страшинова І.В., Метеліцина І.П.</i> Вплив бактеріоцину <i>Enterococcus italicus</i> ONU 547 та ефірних олій на ріст умовно-патогенних мікроорганізмів	2	68
<i>Волювач О.В. див. Гудзенко Т.В.</i>	2	40
<i>Галкін Б.М. див. Фіногенова М.О.</i>	3	71
<i>Галкін Б.М., Фіногенова М.О., Семенець А.С., Галкін М.Б., Філіпова Т.О.</i> Біосурфактанти морських мікроорганізмів: І. Структура та функції	3	6
<i>Галкін М.Б. див. Галкін Б.М.</i>	3	6
<i>Галкін М.Б. див. Фіногенова М.О.</i>	3	71
<i>Гнатуш С.О. див. Комплікевич С.Я.</i>	3	44
<i>Горшкова О.Г. див. Гудзенко Т.В.</i>	2	40
<i>Гудзенко Т.В., Горшкова О.Г., Волювач О.В., Бурлака Т.В., Метеліцина І.П.</i> Мікробіологічна і санітарно-хімічна характеристика стічних вод фармацевтичного підприємства	2	40
<i>Гуменюк К.М., Дубина Д.О., Юрченко О.О.</i> Коронавірусна хвороба (COVID-19). Виклики та перспективи специфічної діагностики	1	6
<i>Дубина Д.О. див. Гуменюк К.М.</i>	1	6
<i>Заєць В.М., Коломієць Л.А., Цуварєв О.Ю., Корнелюк О.І.</i> Виділення та аналіз структури мутантної форми N-кінцевого каталітичного модуля тирозил-тРНК синтетази <i>Bos taurus</i> з заміною Trp 40 TA Trp 87 на аланін	2	27
<i>Золотарьова О.К. див. Мокросноп В.М.</i>	2	6
<i>Іваниця В.О. див. Коротаєва Н.В.</i>	3	60
<i>Іваниця В.О. див. Коротаєва Н.В.</i>	3	84



<i>Іваниця В.О.</i> див. <i>Потапенко К.С.</i>	3	28
<i>Калєва Г.С.</i> див. <i>Фіногенова М.О.</i>	3	71
<i>Коломієць Л.А.</i> див. <i>Заєць В.М.</i>	2	27
<i>Комплікевич С.Я., Масловська О.Д., Перетятко Б., Мороз О.М., Парнікоза І.Ю., Гнатуш С.О.</i> Виділення бактерій з місця харчової і гніздової активності <i>Larus dominicanus</i> (о. Галіндез, Морська Антарктика) та їхня характеристика	3	44
<i>Корнелюк О.І.</i> див. <i>Заєць В.М.</i>	2	27
<i>Коротаєва Н.В.</i> див. <i>Потапенко К.С.</i>	3	28
<i>Коротаєва Н.В., Потапенко К.С., Страшнова І.В., Метеліцина І.П., Іваниця В.О.</i> Спектри жирних кислот актинобактерій з біологічних обростань Одеської затоки Чорного моря	3	60
<i>Коротаєва Н.В., Страшнова І.В., Васильєва Н.Ю., Потапенко К.С., Метеліцина І.П., Філіпова Т.О., Іваниця В.О.</i> Характеристика актинобактерій, ізольованих із <i>Mytilus galloprovincialis</i> Одеської затоки Чорного моря	3	84
<i>Крилова К.Д.</i> див. <i>Швець Ю.А.</i>	1	45
<i>Ліманська Н.В.</i> див. <i>Швець Ю.А.</i>	1	45
<i>Ломтатідзе З.Ш.</i> див. <i>Цулуکیدзе М.Д.</i>	1	55
<i>Мамулашвілі К.Х.</i> див. <i>Цулуکیدзе М.Д.</i>	1	55
<i>Масловська О.Д.</i> див. <i>Комплікевич С.Я.</i>	3	44
<i>Мерліч А.Г.</i> див. <i>Васильєва Н.Ю.</i>	2	68
<i>Метеліцина І.П.</i> див. <i>Васильєва Н.Ю.</i>	2	68
<i>Метеліцина І.П.</i> див. <i>Гудзенко Т.В.</i>	2	40
<i>Метеліцина І.П.</i> див. <i>Коротаєва Н.В.</i>	3	60
<i>Метеліцина І.П.</i> див. <i>Коротаєва Н.В.</i>	3	84
<i>Метеліцина І.П.</i> див. <i>Фіногенова М.О.</i>	3	71
<i>Мокросноп В.М., Золотарьова О.К.</i> Акумуляція α -токоферолу в клітинах мікроводоростей	2	6
<i>Мороз О.М.</i> див. <i>Комплікевич С.Я.</i>	3	44
<i>Парнікоза І.Ю.</i> див. <i>Комплікевич С.Я.</i>	3	44



<i>Перетятко Б.</i> див. <i>Комплікевич С.Я.</i>	3	44
<i>Потапенко К.С.</i> див. <i>Коротаєва Н.В.</i>	3	60
<i>Потапенко К.С.</i> див. <i>Коротаєва Н.В.</i>	3	84
<i>Потапенко К.С., Коротаєва Н.В., Іваниця В.О.</i> Вторинні метаболіти морських актинобактерій з антибіотичною активністю	3	28
<i>Прищенко І.В.</i> див. <i>Фіногенова М.О.</i>	3	71
<i>Семенець А.С.</i> див. <i>Галкін Б.М.</i>	3	6
<i>Семенець А.С.</i> див. <i>Фіногенова М.О.</i>	3	71
<i>Страшнова І.В.</i> див. <i>Васильєва Н.Ю.</i>	2	68
<i>Страшнова І.В.</i> див. <i>Коротаєва Н.В.</i>	3	60
<i>Страшнова І.В.</i> див. <i>Коротаєва Н.В.</i>	3	84
<i>Філіпова Т.О.</i> див. <i>Галкін Б.М.</i>	3	6
<i>Філіпова Т.О.</i> див. <i>Коротаєва Н.В.</i>	3	84
<i>Філіпова Т.О.</i> див. <i>Фіногенова М.О.</i>	3	71
<i>Фіногенова М.О.</i> див. <i>Галкін Б.М.</i>	3	6
<i>Фіногенова М.О., Галкін М.Б., Семенець А.С., Прищенко І.В., Калєва Г.С., Галкін Б.М., Метеліцина І.П., Філіпова Т.О.</i> Синтез біосурфактантів бактеріями <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , ізольованими з поверхні мушель мідій Чорного моря	3	71
<i>Цуварєв О.Ю.</i> див. <i>Заєць В.М.</i>	2	27
<i>Цулуکیدзе М.Д.</i> Поширення мікроорганізмів окремих фізіологічних груп в солончакових ґрунтах, що прилягають до озера Кумісі (Грузія)	2	54
<i>Цулуکیدзе М.Д., Ломтатідзе З.Ш., Мамулашвілі К.Х.</i> Антагоністична активність актиноміцетів, виділених з солончакових ґрунтів біля озера Кумісі (Грузія)	1	55
<i>Швець Ю.А., Крилова К.Д., Ліманська Н.В.</i> Вплив <i>Vacillus megaterium</i> ОНУ 500 на проростання та ріст сіянців соняшника	1	45
<i>Юрченко О.О.</i> див. <i>Гуменюк К.М.</i>	1	6
<i>Ямборко Г.В.</i> див. <i>Васильєва Н.Ю.</i>	2	68

Увага: передрук, усі види копіювання та відтворення матеріалів,
що надруковані у журналі «Мікробіологія і біотехнологія»,
можливі лише за умови посилання на джерело інформації
та з дозволу редакційної колегії.
Усі права захищені згідно законодавства України.

Верстка С. О. Остапенко

Підписано до друку 12.04.2022 р. Формат 70x100/16.
Ум.-друк. арк. 6,18. Тираж 50 пр.
Зам. № 2439.

Видавець та виготовлювач
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011.
65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12, Україна
Тел.: +38 (048) 723 28 39
e-mail: druk@onu.edu.ua