*МИКРОБИОЛОГИЯ, 2022, том 91, № 6, с. 749–762*

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

# АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МНОГОНОЖЕК *NEDYOPUS DAWYDOFFIAE* И *ORTHOMORPHA* SP.

**© 2022 г. Т. А. Ефименко[a], *, А. В. Якушев[b], А. А. Карабанова[a], А. А. Глухова[a], М. В. Демьянкова[a], Б. Ф. Васильева[a], Ю. В. Бойкова[a], Н. Д. Малкина[a], Л. П. Терехова[a], О. В. Ефременкова[a]**

[a]*ФГБНУ Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва, 119021 Россия*

[b]*Факультет почвоведения, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия*

**e-mail: efimen@inbox.ru*

Поступила в редакцию 18.04.2022 г.
После доработки 15.06.2022 г.
Принята к публикации 20.06.2022 г.

Из кишечников многоножек видов *Nedyopus dawydoffiae* и *Orthomorpha* sp. (класс *Diplopoda*) и из их кормовых субстратов, представляющих собой растительные остатки, выделено и идентифицировано 72 штамма бактерий 25 родов. Среди исследованных актинобактерий наиболее многочисленной группой являются стрептомицеты, а также присутствуют представители 14 других родов актинобактерий. Отмечено высокое содержание обладающих антимикробной активностью актинобактерий, среди которых обнаружены представители “редких” родов *Actinoplanes*, *Amycolatopsis*, *Kitasatospora*, *Lechevalieria*, *Micromonospora*, *Nocardiopsis*, *Saccharopolyspora*. Впервые описана антимикробная активность у *Kitasatospora saccharophila* ИНА 01226 и *Nocardiopsis umidischolae* ИНА 01230. Показана гетерогенность по признаку антибиотикообразования в популяциях *Streptomyces pratensis* и *S. termitum*. Выявлены наиболее перспективные для химического изучения образуемых антибиотиков штаммы бактерий, проявившие активность в отношении метициллинрезистентного штамма *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA) и ванкомицинрезистентного штамма *Leuconostoc mesenteroides* ВКПМ В-4177 (VRLM).

**Ключевые слова:** бактерии, актинобактерии, стрептомицеты, “редкие” роды, *Diplopoda*, *Nedyopus dawydoffiae*, *Orthomorpha* sp., эндобионты, продуценты антибиотиков, антибиотикорезистентность

**DOI:** 10.31857/S002636562260033X

Внедрение антибиотиков в медицинскую практику стало революционным событием, однако селективное давление на патогенные микроорганизмы вызвало ответную реакцию – возникновение антибиотикорезистентных форм. По прогнозу Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) данная ситуация может привести к снижению эффективности антибиотиков и превращению инфекционных заболеваний, вызванных патогенными микроорганизмами, в одну из главных причин смертности в мире уже к 2050 г. (O’Neill, 2016). Одним из способов решения проблемы антибиотикорезистентности является поиск новых эффективных антимикробных соединений, которые могли бы пополнить арсенал лекарственных средств. Основными продуцентами антибиотиков являются актинобактерии и грибы, выделенные из сложных многокомпонентных биоценозов, главным образом, из почв (Bérdy, 2005). Это объясняется тем обстоятельством, что в ходе эволюции конкурентная борьба между микроорганизмами привела к выработке у них разнообразных антимикробных веществ как средств защиты. Микробиота кишечников животных также является многокомпонентным биоценозом, который можно рассматривать как источник продуцентов антибиотиков. С другой стороны, малоизученные среды обитания также перспективны в плане изыскания продуцентов новых антибиотиков (Donadio et al., 2007). Учитывая оба обстоятельства, можно предположить, что перспективной экологической системой для выделения бактерий – продуцентов антибиотиков являются кишечники беспозвоночных животных, в том числе многоножек (Kaltenpoth, 2009).

Бактериальное сообщество кишечников многоножек участвует в пищеварении, биосинтезе метана, поддерживает постоянство микробиома. Однако не все бактерии, выделяемые из кишечника многоножек класса *Diplopoda*, принадлежат к микробиому кишечника, многие из них являются транзиторными видами, поглощенными с

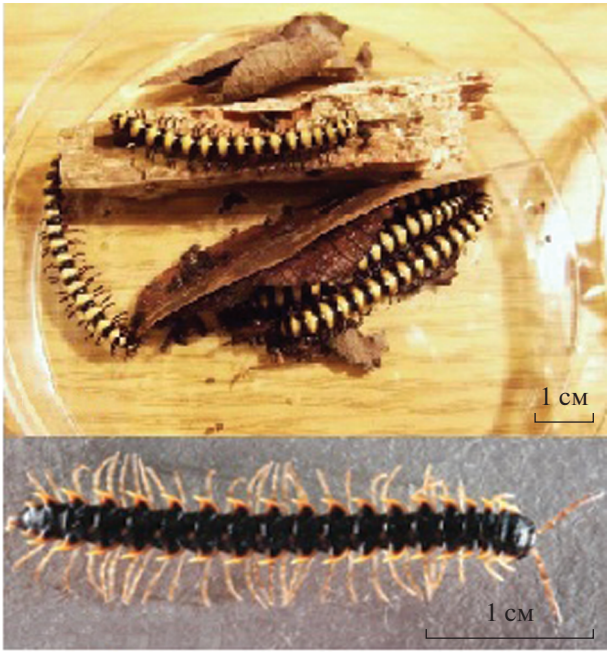


**Рис. 1.** Многоножки *Nedyopus dawydoffiae* (вверху) и *Orthomorpha* sp. (внизу).

кормом. Применение сканирующей электронной микроскопии позволило убедиться, что стенка и кутикула кишечника, а также остатки перитрофической мембраны, колонизированы различными бактериями, в том числе актинобактериями, для которых кишечная среда оказалась благоприятной (Szabo et al., 1992; Полянская и соавт., 1996). На основании этого, можно сделать вывод, что часть высеваемых из кишечника бактерий составляют микробиом многоножек (Бызов и соавт., 1993; Бызов, 2005; König, Varma, 2006).

Представляемое исследование является продолжением нашей работы по изучению антимикробных свойств бактерий, выделенных из кишечника тропической многоножки *Nedyopus dawydoffiae* (Glukhova et al., 2018).

Целью данной работы было изучение антибиотической активности штаммов, выделенных из кишечников тропических диплопод *Nedyopus dawydoffiae* и *Orthomorpha* sp. и их кормовых субстратов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Объекты исследования.** Исследовали бактерии, выделенные из кишечника многоножек *Nedyopus dawydoffiae* и *Orthomorpha* sp., принадлежащих к классу *Diplopoda*, и их кормового субстрата – гнилой древесины и листового опада соответственно (рис. 1). Многоножки были отобраны методом ручного сбора в национальном парке Кат Тьен, расположенном в муссонном коренном тропическом лесу на юге Вьетнама, и содержались в почвенных лабораторных микрокосмах на естественном субстрате, также служившем кормом. Бактерии были выделены в чистые культуры посевом содержимого кишечников и кормовых субстратов на агаризованную среду № 1 Гаузе.

**Тест-штаммы.** В качестве тест-штаммов для определения антибиотической активности были использованы грамположительные бактерии: метициллинрезистентный *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA), метициллинчувствительный *Staphylococcus aureus* FDA 209P (methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*, MSSA), *Micrococcus luteus* NCTC 8340, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *B. pumilus* NCTC 8241, *B. mycoides* 537, *Leuconostoc mesenteroides* ВКПМ В-4177, обладающий природной устойчивостью к гликопептидным антибиотикам группы ванкомицина (vancomycin-resistant *Leuconostoc mesenteroides*, VRLM); грамотрицательные бактерии: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ); грибы: *Aspergillus niger* ИНА 00760, *Saccharomyces cerevisiae* RIA 259.

**Питательные среды.** Для культивирования исследуемых штаммов использовали агаризованные среды № 1 и № 2 Гаузе, овсяная, соевая. Полноценная питательная модифицированная среда № 2 Гаузе (%): глюкоза – 1.0, пептон – 0.5, NaCl – 0.5, триптон – 0.3, агар – 2.0, вода водопроводная; pH 7.2–7.4; № 1 Гаузе (%): крахмал растворимый – 2.0, $KNO_3$ – 0.1, $K_2HPO_4$ – 0.05, $MgSO_4$ – 0.05, NaCl – 0.05, $FeSO_4$ – 0.001, агар – 2.0; pH 7.2–7.4; овсяная (%): овсяная мука – 2.0, агар – 2.0, вода водопроводная; pH 7.2; соевая (%): соевая мука – 2.0, глюкоза – 1.0, NaCl – 0.5, агар – 2.0, вода водопроводная; pH 7.2.

Глубинное культивирование актинобактерий проводили в восьми жидких питательных средах, разработанных для актинобактерий – продуцентов антибиотиков в ФГБНУ “НИИНА”:

(1) СТР (%): глюкоза – 1.0, пептон – 0.5, NaCl – 0.5, триптон – 0.3, вода водопроводная; pH 7.2–7.4;

(2) А4 (%): глюкоза – 1, соевая мука – 1, NaCl – 0.5, $CaCO_3$ – 0.25; pH 6.8;

(3) 6613 (%): крахмал – 2, кукурузный экстракт – 0.3, $KNO_3$ – 0.4, NaCl – 0.5, $CaCO_3$ – 0.5; pH 7.0–7.2;

(4) Сахарозная (%): сахароза – 2, соевая мука – 1, NaCl – 0.3, $CaCO_3$ – 0.3; pH 6.8–7.0;

(5) 2663 (%): глицерин – 3, соевая мука – 1.5, NaCl – 0.3, $CaCO_3$ – 0.3; pH 7.0;

(6) 330 (%): сахароза – 2.1, крахмал – 0.85, гороховая мука – 1.5, $CaCO_3$ – 0.5, NaCl – 0.5, $NaNO_3$ – 0.5; pH 7.0;

(7) 5539 (%): глицерин – 2, соевая мука – 0.5, $(NH_4)_2SO_4$ – 0.15, NaCl – 0.3, $CaCO_3$– 0.3; pH 6.8;

(8) Ам (%): сахароза – 4, $K_2HPO_4$ – 0.1, $Na_2SO_4$ – 0.1, NaCl – 0.1, $(NH_4)_2SO_4$ – 0.2, дрожжевой экстракт сухой – 0.25, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0.0001, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ – 0.0001, NaI – 0.00005, $CaCO_3$ – 0.2; pH 6.5–6.7.

**Условия культивирования.** Тест-штаммы культивировали в течение 1 сут при температуре 28°C для грибных культур и *L. mesenteroides* и при 37°C для остальных бактериальных культур. Ферментацию культур актинобактерий проводили в условиях глубинного культивирования в колбах Эрленмейера объемом 750 мл со 150 мл среды на роторной качалке со скоростью 220 об./мин при 28°C в два этапа. На первом этапе для получения посевного материала вырезали кусочек размером 1 $см^2$ овсяной питательной среды с исследуемой культурой и переносили в среду СТР, культивирование длилось 4 сут. На втором этапе 5 мл культуральной жидкости переносили в качестве посевного материала в колбы с семью различными средами.

**Видовая идентификация.** Видовую идентификацию актинобактерий проводили по морфологическим признакам и на основании анализа последовательности гена 16S рРНК. При морфологическом описании фиксировали строение спороносцев, пигментацию воздушного и субстратного мицелия, выделяемый в среду пигмент (Гаузе и соавт., 1983; Беркли и соавт., 1997). Для выделения ДНК использовали трехдневную биомассу, полученную в жидкой среде СТР. Выделение бактериальной геномной ДНК проводили с использованием набора PowerSoil DNA Kit (“MO BIO”, Карлсбад, Калифорния, США). Амплификацию гена 16S рРНК проводили с использованием набора реагентов PCR Master Mix (“Thermo Scientific”, Фостер-Сити, Калифорния, США) с универсальными бактериальными праймерами 27f (aga gtt tga tcc tgg ctcag) и 1492r (tac ggy tac ctt gtt acg act t). ПЦР проводили на амплификаторе Thermal Cycler 2720 (“Applied Biosystems”, США) по программе: (1) 94°C – 5 мин, (2) 30 циклов с чередующимися температурными интервалами 94°C – 1 мин, 51°C – 1 мин, 72°C –2 мин, (3) 72°C – 7 мин. Анализ продуктов ПЦР проводили методом электрофореза в 1% агарозном геле (с использованием *трис*-боратного буфера TBE) при напряженности электрического поля 7.6 В/см. Очистку продуктов ПЦР проводили путем переосаждения ДНК в мягких условиях с использованием 0.125 М ацетата аммония в 70% этаноле. Нуклеотидные последовательности определяли методом Сэнгера на автоматическом генетическом анализаторе 3500 (“Applied Biosystems”, Беверли, Массачусетс, США) с использованием универсальных бактериальных праймеров 27f, 341f (cct acg gga ggc agc ag), 519r (gta tta ccg cgg ctg ctg), 785f (ggm tta gat acc tgg tag tcc), 907r (ccg tca att cct ttg agt tt), 1100r (ggg ttg cgc tcg ttg), 1114f (gca acg agc gca acc c), 1392r (acg ggc ggt gtg trc) и 1492r. Для сборки нуклеотидных последовательностей использовалась программа Mega 7. Полученные последовательности сравнивали с нуклеотидными последовательностями гена 16S рРНК типовых штаммов бактерий, полученных из баз данных GenBank (blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) и Ribosomal Database Project (RDP; http://rdp.cme.msu.edu/).

**Определение антибиотической активности.** Для определения антибиотической активности в чашках Петри с агаризованной средой № 2 Гаузе, инокулированной тест-микроорганизмами, делали лунки диаметром 9 мм и вносили по 0.1 мл культуральной жидкости исследуемых штаммов. Оценку антибиотической активности в культуральной жидкости проводили на 4 и 7 сут глубинного культивирования актинобактерий и на 2 и 4 сут у бактерий других таксономических групп. Результат представляли в виде диаметра (в мм) зоны подавления роста тест-штамма. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Excel 2016; оценку антибиотической активности в культуральной жидкости анализировали в 5-кратной повторности.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Всего изучено 72 штамма бактерий, представленных в табл. 1. Среди исследованных актинобактерий преобладали стрептомицеты. Выравнивание полученных нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК проводили с последовательностями типовых штаммов из базы данных RDP. Последовательности, которые совпадали не менее чем на 98%, были депонированы в базу данных GenBank. Видовая идентификация исследованных бактерий показала большое таксономическое разнообразие, а именно, выделены представители 25 родов, 16 из которых принадлежали к классу *Actinobacteria*.

Актинобактерии преобладают в бактериальном комплексе кишечника многоножек и являются второй по численности группой после γ-протеобактерий (König, Varma, 2006; Knapp et al., 2010). Согласно данным литературы в кишечнике *Diplopoda* наиболее многочисленным среди актинобактерий является род *Streptomyces* (Бызов и соавт., 1993). Кишечные актинобактерии многоножек участвуют в гидролизе содержимого кишечника, а их наибольшее скопление наблюдается в заднем отделе (Бызов и соавт., 1993; Звягинцев и соавт., 1996; Полянская и соавт., 1996). Последующие работы показывают большое разнообразие родов актинобактерий. Были выделены представители родов *Micromonospora*, *Actinomadura* и *Streptosporangium*, нокардиоподобные формы (König, Varma, 2006). Полученные нами данные согласуются с этими выводами.

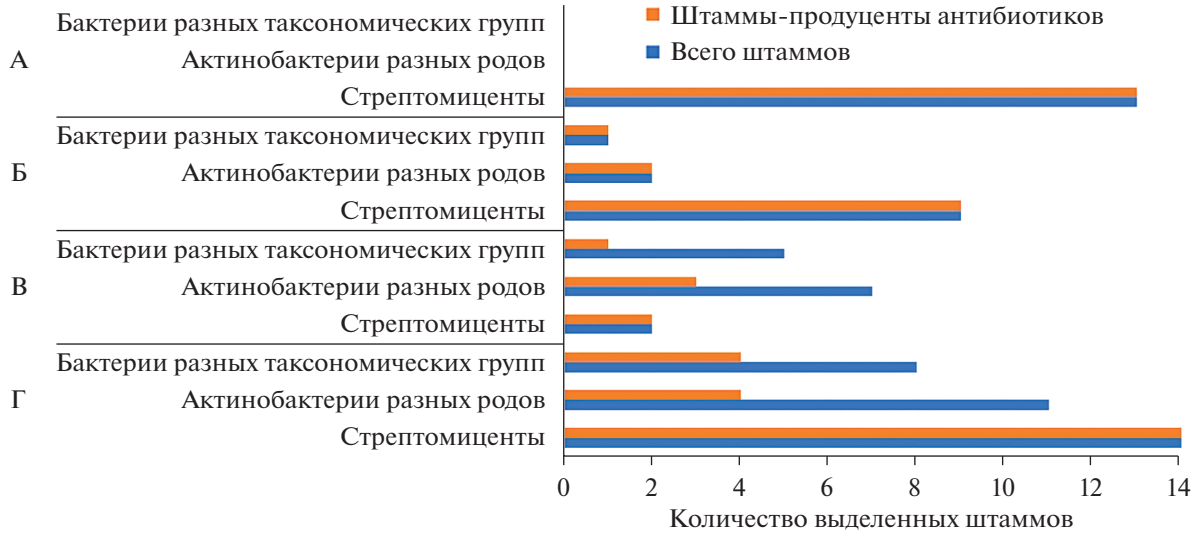


**Рис. 2.** Распределение исследуемых штаммов по группам бактерий. А – кишечник *Nedyopus dawydoffiae*, Б – кормовой субстрат *Nedyopus dawydoffiae* (гнилая древесина), В – кишечник *Orthomorpha* sp., Г – кормовой субстрат *Orthomorpha* sp. (листовой опад).

Исследование антибиотической активности показало высокую долю активных штаммов среди исследуемых культур, перечисленных в табл. 1. Антимикробный спектр данных штаммов в отношении коллекционных тест-микроорганизмов представлен в табл. 2.

Из представленных в таблицах данных следует, что все выделенные стрептомицеты проявляют антибиотическую активность, что подтверждает накопленный опыт десятилетий золотой эры антибиотиков. Согласно данным, полученным из базы MIBiG (Minimum Information about a Biosynthetic Gene cluster) средняя общая длина генома представителей рода *Streptomyces* составляет 9 Mb, при этом данный род занимает лидирующее положение по числу обнаруженных кластеров биосинтетических генов (BGCs), а именно, 637 (NCBI (Assembly), www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly; MIBiG, http://mibig.secondarymetabolites.org). Известно, что представители рода *Streptomyces* являются продуцентами 70–80% вторичных метаболитов, но после них важными продуцентами антибиотиков являются представители “редких” родов актинобактерий (Bérdy, 2005; Ventura et al., 2007; Raja, Prabakarana, 2011). Нами в ходе данного исследования, помимо стрептомицетов, были выделены представители “редких” родов актинобактерий: *Actinoplanes*, *Amycolatopsis*, *Kitasatospora*, *Lechevalieria*, *Micromonospora*, *Nocardiopsis*, *Saccharopolyspora*, среди которых также обнаружены антибиотически активные штаммы. Обнаружение антимикробной активности у “редких” родов актинобактерий, которые менее исследованы, чем стрептомицеты, повышает вероятность выделения новых антибиотиков (рис. 2).

Поскольку антибиотики являются вторичными метаболитами, возможны внутривидовые флуктуации по признаку их биосинтеза. В табл. 2 представлены два штамма *S. pratensis*, отличающиеся антимикробной активностью в отношении трех штаммов бацилл и гриба *Aspergillus niger*: штамм ИНА 01179 активен в отношении *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *B. pumilus* NCTC 8241, *B. mycoides* 537, но не в отношении гриба, и, напротив, штамм ИНА 01182 не активен в отношении указанных бацилл, но проявляет антимикотическую активность. Другим примером являются два выделенных штамма *S. termitum*: штамм ИНА 01244 активен в отношении грамположительной бактерии *Leuconostoc mesenteroides* ВКПМ В-4177 и в отношении грамотрицательной бактерии *E. coli* ATCC 25922, но штамм ИНА 01245 такой активностью не обладает; в отношении других тестов эти штаммы проявляют равную активность (что свидетельствует о биосинтезе более одного антибиотика представителями данного вида). Ранее нами было показано, что популяция *S. antibioticus*, выделенная из гнезда черного садового муравья *Lasius niger*, гетерогенна по признаку образования антибиотиков актиномицинового комплекса (Efimenko et al., 2020). Гетерогенность по признаку антибиотикообразования обусловлена, с одной стороны, наличием конкурентов по биоценозу, с другой стороны – источником питательных веществ. В случае *S. termitum* при погруженном культивировании в двух средах у двух изолятов из одной популяции (листового опада) наблюдаются различия, как в уровне биосинтеза антибиотических веществ, так и по антимикробному спектру (рис. 3).

**Таблица 1.** Таксономическая принадлежность выделенных штаммов бактерий на основании анализа последовательности гена 16S рРНК

| Род, вид, штамм | Длина, п.н. | Совпадение, % | GenBank |
|---|---|---|---|
| Бактерии, выделенные из кишечника *Nedyopus dawydoffiae* | | | |
| Актинобактерии | | | |
| *Streptomyces griseoplanus* ИНА 01177 | 1485 | 99.2 | MH635265 |
| *S. hydrogenans* ИНА 01173 | 1116 | 100 | ON231534 |
| *S. hydrogenans* ИНА 01175 | 1387 | 100 | ON231535 |
| *S. pratensis* ИНА 01179 | 1436 | 99.4 | MH635263 |
| *S. pratensis* ИНА 01182 | 1424 | 98.4 | MH635266 |
| *S. setonii* ИНА 01178 | 1473 | 98.7 | ON231536 |
| *S. setonii* ИНА 01181 | 1493 | 100 | MH635267 |
| *S. spororaveus* ИНА 01183 | 1451 | 100 | MH635268 |
| *S. turgidiscabies* ИНА 01184 | 1309 | 96.5 | – |
| *Streptomyces* sp. ИНА 01174 | 551 | 100 | ON231537 |
| *Streptomyces* sp. ИНА 01176 | 569 | 100 | ON231538 |
| *Streptomyces* sp. ИНА 01180 | 568 | 99.3 | MH635264 |
| *Streptomyces* sp. ИНА 01185 | 631 | 100 | ON231539 |
| Бактерии, выделенные из кормового субстрата *Nedyopus dawydoffiae* (гнилой древесины) | | | |
| Актинобактерии | | | |
| *Kitasatospora saccharophila* ИНА 01226 | 1338 | 96.6 | – |
| *Nocardiopsis umidischolae* ИНА 01230 | 1371 | 100 | ON231540 |
| *S. gelaticus* ИНА 01231 | 1379 | 94.2 | – |
| *S. gelaticus* ИНА 01233 | 1361 | 94.1 | – |
| *S. hydrogenans* ИНА 01235 | 1015 | 100 | ON231541 |
| *S. olivochromogenes* ИНА 01229 | 1376 | 96.0 | – |
| *S. parvulus* ИНА 01300 | 1373 | 100 | ON231544 |
| *S. scopuliridis* ИНА 01227 | 1003 | 95.7 | – |
| *S. scopuliridis* ИНА 01232 | 1320 | 96.2 | – |
| *S. seoulensis* ИНА 01234 | 985 | 100 | ON231542 |
| *S. seoulensis* ИНА 01228 | 1026 | 100 | ON231543 |
| Представители других таксономических групп | | | |
| *Stenotrophomonas rhizophila* ИНА 01299 | 1409 | 97.7 | – |
| Бактерии, выделенные из кишечника *Orthomorpha* sp. | | | |
| Актинобактерии | | | |
| *Arthrobacter* sp. ИНА 01380 | 1257 | 98.3 | ON231545 |
| *Micrococcus aloeverae* ИНА 01381 | 1260 | 98.8 | ON231546 |
| *Micromonospora aurantiaca* ИНА 01238 | 1381 | 98.0 | ON231547 |
| *Micromonospora tulbaghiae* ИНА 01239 | 1350 | 98.4 | ON231548 |
| *Mycobacterium hodleri* ИНА 01382 | 1269 | 98.3 | ON231549 |
| *Plantactinospora mayteni* ИНА 01241 | 1412 | 95.2 | – |
| *Saccharopolyspora dendranthemae* ИНА 01240 | 1373 | 98.3 | ON231550 |
| *S. coelicoflavus* ИНА 01237 | 1372 | 100 | ON231551 |
| *S. prunicolor* ИНА 01236 | 1391 | 99.3 | ON231552 |

**Таблица 1.** Окончание

| Род, вид, штамм | Длина, п.н. | Совпадение, % | GenBank |
|---|---|---|---|
| Представители других таксономических групп | | | |
| *Afipia birgiae* ИНА 01383 | 1234 | 99.5 | ON231553 |
| *Afipia birgiae* ИНА 01384 | 1237 | 100 | ON231554 |
| *Blastomonas* sp. ИНА 01385 | 1217 | 99.4 | ON231555 |
| *Peribacillus simplex* ИНА 01386 | 1452 | 98.5 | ON231556 |
| *Sphingopyxis panaciterrae* ИНА 01387 | 1232 | 96.7 | – |
| Бактерии, выделенные из кормового субстрата *Orthomorpha* sp. (листового опада) | | | |
| Актинобактерии | | | |
| *Actinoplanes capillaceus* ИНА 01251 | 1406 | 97.1 | – |
| *Agrococcus citreus* ИНА 01388 | 1367 | 98.5 | ON231572 |
| *Amycolatopsis bullii* ИНА 01250 | 1368 | 99.2 | ON231557 |
| *Arthrobacter pascens* ИНА 01389 | 714 | 98.1 | ON231573 |
| *Arthrobacter pascens* ИНА 01390 | 641 | 100 | ON231574 |
| *Herbiconiux flava* ИНА 01391 | 1183 | 96.6 | – |
| *Lechevalieria fradiae* ИНА 01246 | 1349 | 95.6 | – |
| *Microbacterium oxydans* ИНА 01392 | 1372 | 97.8 | – |
| *Micrococcus aloeverae* ИНА 01393 | 1279 | 98.7 | ON231575 |
| *Mycobacterium chubuense* ИНА 01394 | 779 | 92.5 | – |
| *Nocardiopsis* sp. ИНА 01296 | 656 | 93.4 | – |
| *S. albolongus* ИНА 01247 | 1370 | 99.0 | ON231558 |
| *S. atratus* ИНА 01297 | 1292 | 98.7 | ON231559 |
| *S. cinereoruber* ИНА 01242 | 1360 | 98.0 | ON231560 |
| *S. lavendulae* ИНА 01243 | 1359 | 98.5 | ON231561 |
| *S. microflavus* ИНА 01294 | 1383 | 100 | ON231562 |
| *S. omiyaensis* ИНА 01252 | 1388 | 99.1 | ON231563 |
| *S. seoulensis* ИНА 01291 | 1374 | 100 | ON231564 |
| *S. seoulensis* ИНА 01292 | 1415 | 99.5 | ON231565 |
| *S. seoulensis* ИНА 01295 | 1385 | 99.5 | ON231566 |
| *S. termitum* ИНА 01244 | 1375 | 99.7 | ON231567 |
| *S. termitum* ИНА 01245 | 1374 | 99.7 | ON231568 |
| *S. zaomyceticus* ИНА 01248 | 1373 | 98.9 | ON231569 |
| *Streptomyces* sp. ИНА 01249 | 1432 | 99.5 | ON231570 |
| *Streptomyces* sp. ИНА 01293 | 1387 | 100 | ON231571 |
| Представители других таксономических групп | | | |
| *Acinetobacter venetianus* ИНА 01395 | 610 | 98.8 | ON231576 |
| *Bacillus mycoides* ИНА 01396 | 1301 | 99.4 | ON231577 |
| *Bacillus toyonensis* ИНА 01397 | 1409 | 100 | ON231578 |
| *Brucella pseudogrignonensis* ИНА 01398 | 1342 | 99.0 | ON231579 |
| *Methylobacterium variabile* ИНА 01399 | 1244 | 100 | ON231580 |
| *Pseudomonas taiwanensis* ИНА 01400 | 1400 | 98.5 | ON231581 |
| *Stenotrophomonas bentonitica* ИНА 01401 | 1411 | 96.6 | – |
| *Stenotrophomonas rhizophila* ИНА 01298 | 1410 | 98.1 | ON231582 |

Примечание. Данные по видовой идентификация актиномицетов на основании анализа последовательности гена 16S рРНК согласуются с морфологическими признаками.

**Таблица 2.** Спектры антимикробной активности штаммов описываемых бактерий

| Штамм | Оптимальная среда (сутки)* | Тест-культуры | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA) | *St. aureus* FDA 209P | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 | *B. mycoides* 537 | *B. pumilus* NCTC 8241 | *Leuconostoc mesenteroides* ВКПМ B-4177 (VRLM) | *Micrococcus luteus* NCTC 8340 | *Escherichia coli* ATCC 25922 | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (MDR) | *Saccharomyces cerevisiae* RIA 259 | *Aspergillus niger* ИНА 00760 |
| Бактерии, выделенные из кишечника *Nedyopus dawydoffiae* | | | | | | | | | | | | |
| Актинобактерии | | | | | | | | | | | | |
| *Streptomyces griseoplanus* ИНА 01177 | Сах (7) | – | – | – | – | – | +++ | +++ | – | – | – | +++ |
| *S. hydrogenans* ИНА 01173 | Ам (4), 5339 (7) | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | ++++ | +++ | ++ | – | – | ++++ | ++++ |
| *S. hydrogenans* ИНА 01175 | Ам (4) | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | – | – | ++++ | ++++ |
| *S. pratensis* ИНА 01179 | Сах (7), 2663 (7) | – | ++ | ++ | ++ | ++ | +++ | +++ | – | – | – | – |
| *S. pratensis* ИНА 01182 | Сах (4) | – | ++ | – | – | – | ++++ | ++++ | – | – | – | ++ |
| *S. setonii* ИНА 01178 | Сах (7) | – | – | – | – | – | +++ | +++ | – | – | – | ++ |
| *S. setonii* ИНА 01181 | Ам (4), Сах (4) | – | – | ++ | – | – | ++++ | ++++ | – | – | – | – |
| *S. spororaveus* ИНА 01183 | Ам (4), 5339 (7) | +++ | +++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | – | – | ++++ | ++++ |
| *S. turgidiscabies* ИНА 01184 | Сах (4) | – | – | – | – | – | ++++ | – | – | – | – | – |
| *Streptomyces* sp. ИНА 01174 | 5539 (4) | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | – | – | ++++ | ++++ |
| *Streptomyces* sp. ИНА 01176 | Сах (7) | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | – | – | ++++ | ++++ |
| *Streptomyces* sp. ИНА 01180 | 330 (7) | ++ | + | – | – | ++ | ++++ | ++++ | – | – | ++ | ++ |
| *Streptomyces* sp. ИНА 01185 | 330 (4), Ам (7) | – | – | – | – | ++++ | ++++ | +++ | – | – | – | – |
| Бактерии, выделенные из кормового субстрата *Nedyopus dawydoffiae* (гнилая древесина) | | | | | | | | | | | | |
| Актинобактерии | | | | | | | | | | | | |
| *Kitasatospora saccharophila* ИНА 01226 | А4 (4), 330 (4) | – | – | – | – | – | ++++ | +++ | – | – | – | +++ |
| *Nocardiopsis umidischolae* ИНА 01230 | Ам (7), Сах (7) | ++ | ++ | ++ | ++ | +++ | +++ | ++++ | – | – | ++ | – |
| *S. gelaticus* ИНА 01231 | А4 (7) | ++++ | +++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | – | – | ++++ | ++++ |
| *S. gelaticus* ИНА 01233 | 6613 (7) | ++ | ++ | +++ | +++ | + | +++ | ++++ | – | – | +++ | ++++ |
| *S. hydrogenans* ИНА 01235 | Ам (4) | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | ++++ | – | – | ++++ | ++++ |
| *S. olivochromogenes* ИНА 01229 | 330 (4), Ам (7) | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | – | – | ++++ | ++++ |
| *S. parvulus* ИНА 01300 | 330 (4, 7) | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | – | – | ++++ | ++ |

**Таблица 2.** Продолжение

| Штамм | Оптимальная среда (сутки)* | Тест-культуры | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA) | *St. aureus* FDA 209P | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 | *B. mycoides* 537 | *B. pumilus* NCTC 8241 | *Leuconostoc mesenteroides* ВКПМ B-4177 (VRLM) | *Micrococcus luteus* NCTC 8340 | *Escherichia coli* ATCC 25922 | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (MDR) | *Saccharomyces cerevisiae* RIA 259 | *Aspergillus niger* ИНА 00760 |
| *S. scopuliridis* ИНА 01227 | 330 (4), A4 (7) | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | – | – | ++++ | ++++ |
| *S. scopuliridis* ИНА 01232 | Ам (4), 330 (4, 7) | ++ | – | +++ | +++ | + | +++ | ++++ | – | – | +++ | ++++ |
| *S. seoulensis* ИНА 01228 | 5339(4), Ам (7) | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | – | ++++ | ++ |
| *S. seoulensis* ИНА 01234 | 330 (7), 2663 (7) | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | ++++ | ++++ | – | +++ | +++ |
| Представители других таксономических групп | | | | | | | | | | | | |
| *Stenotrophomonas rhizophila* ИНА 01299 | A4 (4), Ам (7) | – | – | – | ++ | – | +++ | +++ | – | – | – | + |
| Бактерии, выделенные из кишечника *Orthomorpha* sp. | | | | | | | | | | | | |
| Актинобактерии | | | | | | | | | | | | |
| *Micromonospora aurantiaca* ИНА 01238 | Ам (4) | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | ++++ | – | – | ++++ | – |
| *Micromonospora tulbaghiae* ИНА 01239 | Ам (4) | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | – | – | ++++ | – |
| *Saccharopolyspora dendranthemae* ИНА 01240 | Ам (4), Сах (4) | – | – | – | – | – | ++++ | – | – | – | ++++ | + |
| *S. coelicoflavus* ИНА 01237 | 330 (4, 7) | – | – | ++++ | ++++ | +++ | ++++ | +++ | – | – | – | + |
| *S. prunicolor* ИНА 01236 | 330 (4, 7) | +++ | +++ | ++++ | ++++ | +++ | +++ | ++++ | +++ | – | – | – |
| Представители других таксономических групп | | | | | | | | | | | | |
| *Peribacillus simplex* ИНА 01386 | СТР (4) | +++ | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Бактерии, выделенные из кормового субстрата *Orthomorpha* sp. (листовой опад) | | | | | | | | | | | | |
| Актинобактерии | | | | | | | | | | | | |
| *Actinoplanes capillaceus* ИНА 01251 | A4 (4), Ам (7) | – | – | – | – | – | +++ | – | – | – | – | ++++ |
| *Amycolatopsis bullii* ИНА 01250 | Ам (7) | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | – | – | ++++ | – |
| *Arthrobacter pascens* ИНА 01389 | СТР (4) | – | – | – | – | – | – | (++) | – | – | – | – |
| *Lechevalieria fradiae* ИНА 01246 | 5339 (4), 330 (7) | – | – | +++ | +++ | – | – | ++ | – | – | – | ++++ |

**Таблица 2.** Окончание

| Штамм | Оптимальная среда (сутки)* | Тест-культуры | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA) | *St. aureus* FDA 209P | *Bacillus subtilis* ATCC 6633 | *B. mycoides* 537 | *B. pumilus* NCTC 8241 | *Leuconostoc mesenteroides* ВКПМ B-4177 (VRLM) | *Micrococcus luteus* NCTC 8340 | *Escherichia coli* ATCC 25922 | *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (MDR) | *Saccharomyces cerevisiae* RIA 259 | *Aspergillus niger* ИНА 00760 |
| *Nocardiopsis* sp. ИНА 01296 | A4 (4) | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | + |
| *S. albolongus* ИНА 01247 | 330 (7) | ++ | ++ | ++++ | ++++ | +++ | ++ | +++ | ++ | – | – | +++ |
| *S. atratus* ИНА 01297 | 330 (7) | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| *S. cinereoruber* ИНА 01242 | 330 (4) | – | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | – |
| *S. lavendulae* ИНА 01243 | 330 (4, 7) | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| *S. microflavus* ИНА 01294 | 5339 (7) | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | ++ |
| *S. omiyaensis* ИНА 01252 | 330 (4) | ++ | +++ | ++ | – | ++ | + | +++ | – | – | – | – |
| *S. seoulensis* ИНА 01291 | 6613 (7) | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | – | ++++ | – | – | – | + |
| *S. seoulensis* ИНА 01292 | 330 (7) | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | ++++ | – | – | – | + |
| *S. seoulensis* ИНА 01295 | 330 (4), 5339 (7) | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | ++++ | – | ++++ | – | – | – | + |
| *S. termitum* ИНА 01244 | 330 (7) | ++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | +++ | ++ | – | – | ++ |
| *S. termitum* ИНА 01245 | 6613 (4), 5339 (7) | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | – | +++ | – | – | – | ++ |
| *S. zaomyceticus* ИНА 01248 | Ам (7) | ++ | ++ | ++++ | ++++ | ++++ | – | ++++ | – | – | – | – |
| *Streptomyces* sp. ИНА 01249 | 330 (4) | – | ++ | ++ | ++ | ++ | – | +++ | – | – | ++++ | – |
| *Streptomyces* sp. ИНА 01293 | 6613 (7) | – | – | – | ++ | ++ | – | – | – | – | – | ++ |
| Представители других таксономических групп | | | | | | | | | | | | |
| *Acinetobacter venetianus* ИНА 01395 | CTP (4) | – | – | – | – | – | – | (++) | – | – | – | – |
| *Bacillus toyonensis* ИНА 01397 | CTP (4) | +++ | +++ | – | – | – | – | ++ | – | – | – | – |
| *Stenotrophomonas rhizophila* ИНА 01298 | 2663 (4) | – | ++++ | – | ++ | – | – | ++++ | – | – | – | – |

Примечание. * Среда оценивалась как оптимальная при наибольшем проявлении антибиотической активности при росте на ней; “–” – нет активности; диаметры зон задержки роста (в мм): “+” – ≤10; “++” – 11–15; “+++” – 16–20; “++++” – >20. В скобках указаны зоны неполного подавления роста тест-штамма.

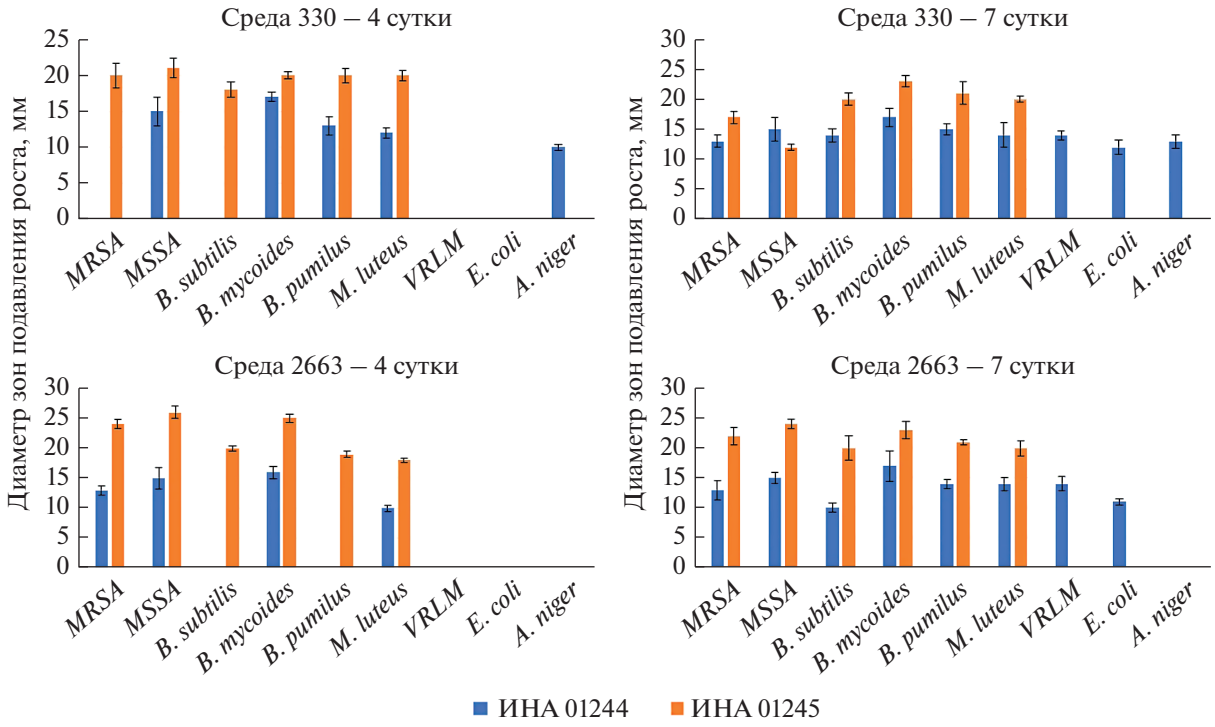


**Рис. 3.** Гистограммы спектров антибиотической активности штаммов *S. termitum* на средах 330 и 2663 на 4 и 7 сут культивирования.

При определении антимикробных спектров выявленных продуцентов, особое внимание нами было уделено тест-штаммам *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA), *E. coli* ATCC 25922 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, которые относятся к видам, входящим в списки ВОЗ по проблеме антибиотикорезистентности (O'Neill, 2016; Tacconelli, 2017; Ефименко, 2019). В данной работе среди выявленных штаммов "редких" родов актинобактерий обнаружены продуценты антибиотиков, активных в отношении отмеченных выше тест-штаммов, и при этом с ранее не описанной антимикробной активностью. К примеру, вид *Kitasatospora saccharophila* описан как новый в 2009 г. (Li et al., 2009). Однако анализ литературы не показал наличия описанных для данного вида антибиотиков. В нашем исследовании штамм *Kitasatospora saccharophila* ИНА 01226 образует антимикробные вещества, активные в отношении *Leuconostoc mesenteroides* ВКПМ В-4177 (VRLM), *Micrococcus luteus* NCTC 8340 и гриба *Aspergillus niger* ИНА 00760. Известно, что вид *Nocardiopsis umidischolae* выделен впервые в 2001 г. из пыли в помещении школы, пострадавшей от затопления, и описан типовой штамм *Nocardiopsis umidischolae* 66/93 (=DSM 44362 = NRRL B-24122) (Peltola et al., 2001). Антибиотиков, образуемых у данного вида, по анализу литературы не было выявлено. Штамм *Nocardiopsis umidischolae* ИНА 01230, выделенный нами из гнилой древесины – кормового субстрата *Nedyopus dawydoffiae*, обладает активностью в отношении всех используемых в исследовании грамположительных тест-бактерий, включая метициллинрезистентный *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA), и в отношении дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* RIA 259. Таким образом, для штаммов *Kitasatospora saccharophila* ИНА 01226 и *Nocardiopsis umidischolae* ИНА 01230 впервые описано наличие антимикробной активности, в том числе в отношении резистентных форм патогенных микроорганизмов.

Род *Micromonospora* является вторым после *Streptomyces* наиболее часто выделяемыми из природы богатым источником для изыскания продуцентов антибиотиков (Wagman, Weinstein, 1980). Для представителей рода *Micromonospora* первые сообщения об антибактериальной активности появились в 1942 г., а в 1963 г. был описан аминогликозид гентамицин, выделенный из *Micromonospora purpurea* (вид переклассифицирован в *Micromonospora echinospora* Luedemann, Brodsky, 1964), что далее привело к широкому скринингу данного "редкого" рода актинобактерий на наличие антибиотиков (Wagman, Weinstein, 1980). В 2019 г. из ферментационного бульона штамма *Micromonospora aurantiaca* 110B были выделены и идентифицированы три новых изофлавоноидных гликозида, дайдзеин-4'-(2-дезокси-α-l-фукопиранозид), дайдзеин-7-(2-дезокси-α-l-фукопиранозид) и дайдзеин-4',7-ди-(2-дезокси-α-l-фукопиранозид). Установлено, что три соединения

проявляют цитотоксическую активность, но при этом не обладают активностью в отношении *Candida albicans*, MRSA и *E. coli* (Wang et al., 2019). В 2020 г. был получен полный геном *M. aurantiaca* sp. 01, который по анализу гена 16S рРНК имел совпадение с типовым штаммом *M. aurantiaca* ATCC 27029$^T$ – 99.28%. Анализ нуклеотидных последовательностей выявил у штамма *M. aurantiaca* sp. 01 в геноме 77 кластеров генов, связанных с биосинтезом вторичных метаболитов. Было предсказано, что они участвуют в выработке поликетидов, нерибосомальных пептидов, бактериоцинов и многих других соединений. Среди них 42 кластера генов были аннотированы к 37 известным вторичным метаболитам, включая антибиотики. Из антибиотиков, предсказанных по анализу генома, с помощью направленного MS/MS анализа был обнаружен канамицин, впервые полученный из штамма *M. aurantiaca*. При этом организация кластеров генов для биосинтеза вторичных метаболитов выявила 21 кластер, кодирующий выработку антибиотиков, что выше, чем у других видов *Micromonospora* (Hu et al., 2020). В нашем исследовании штамм *Micromonospora aurantiaca* ИНА 01238, выделенный из кишечника *Orthomorpha* sp., обладает высокой активностью в отношении всех грамположительных тест-бактерий, включая MRSA, и в отношении дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* RIA 259. Таким образом, антибиотическая активность выделенного штамма отличается от описания активности у выделенных антибиотиков для данного вида, и планируется дальнейшее изучение химической природы антибиотика(ов).

Вид *Micromonospora tulbaghiae* впервые описан в 2010 г., типовой штамм TVU1$^T$ (=DSM 45142$^T$ = NRRL B-24576$^T$) был выделен из листьев дикого чеснока (*Tulbaghia violacea*). Для данного штамма описана умеренная активность в отношении штамма *Mycobacterium aurum* A+ и отсутствие активности в отношении *Enterococcus faecium* (VanA), *E. coli* ATCC 25922, и *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Kirby, Meyers, 2010). Нами описана активность штамма *Micromonospora tulbaghiae* ИНА 01239 в отношении всех грамположительных тест-бактерий, включая метициллинрезистентный *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA), и в отношении дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* RIA 259, что отличается от вышеописанной активности.

В 2000 г. Fukami и соавт. описали антибиотик, выделенный из *Actinoplanes capillaceus* и активный в отношении *B. subtilis*, *S. cerevisiae* и *E. coli* (Fukami et al., 2000). Антимикробный спектр выделенного нами штамма *A. capillaceus* ИНА 01251 отличается от описанного и обладает активностью в отношении *Leuconostoc mesenteroides* ВКПМ B-4177 (VRLM) и *Aspergillus niger* ИНА 00760. Соответственно, штамм ИНА 01251 можно рассматривать как перспективный в плане химического изучения образуемого соединения.

Для двух видов “редких” родов актинобактерий *Amycolatopsis bullii* и *Saccharopolyspora dendranthemae*, описанных в последнее десятилетие, информация об образовании антибиотиков отсутствует (Zucchi et al., 2012; Zhang et al., 2013). В данной работе показано, что штамм *Amycolatopsis bullii* ИНА 01250 обладает высокой антибиотической активностью в отношении всех тестируемых грамположительных бактерий и в отношении *S. cerevisiae* RIA 259, а штамм *Saccharopolyspora dendranthemae* ИНА 01240 проявляет активность в отношении *Leuconostoc mesenteroides* ВКПМ B-4177, обладающего природной устойчивостью к гликопептидным антибиотикам группы ванкомицина, и в отношении *S. cerevisiae* RIA 259.

Среди прокариот других таксономических групп наиболее известными продуцентами являются представители класса *Bacilli* (Bérdy, 2005). В нашем исследовании наиболее перспективными продуцентами являются штаммы *Peribacillus simplex* ИНА 01386 и *Bacillus toyonensis* ИНА 01397, активные в отношении MRSA. Несмотря на то, что *Bacilli* являются хорошо изученным источником продуцентов антибиотиков, описание новых антимикробных веществ продолжаются (Wang et al., 2020a, 2020b). Два штамма *Stenotrophomonas rhizophila* (ИНА 01299 и ИНА 01298) выделены из листового опада и гнилой древесины. Эти штаммы отличаются по антимикробной активности: штамм ИНА 01298 обладает активностью в отношении MSSA, а штамм ИНА 01299 активен в отношении VRLM и проявляет незначительную активность в отношении *Aspergillus niger* ИНА 00760. Ранее нами было показано, что *Stenotrophomonas rhizophila* ИНА 01137 – эндобионт базидиального гриба *Coprinellus micaceus*, активен в отношении штаммов золотистого стафилококка и кишечной палочки, а также в отношении *Aspergillus niger* ИНА 00760 (Ефименко и соавт., 2016). По данным литературы было установлено, что *Stenotrophomonas rhizophila* образует активные вещества в отношении ряда фитопатогенных грибов и патогена человека *Candida albicans* (Wolf et al., 2002).

Бактерии, выделенные из кишечников многоножек, а также из их пищевых субстратов, отличаются как большим видовым разнообразием, так и по спектрам антибиотической активности. Среди выделенных штаммов преобладают актинобактерии, относящиеся не только к роду *Streptomyces*, но и к 14 другим родам класса актинобактерий (*Actinoplanes*, *Agrococcus*, *Amycolatopsis*, *Arthrobacter*, *Herbiconiux*, *Kitasatospora*, *Lechevalieria*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Micromonospora*, *Mycobacterium*, *Nocardiopsis*, *Plantactinospora*, *Saccharopolyspora*). Среди них есть виды, у которых ранее не были описаны антибиотические вещества или которые отли-

чаются по антимикробному спектру. Впервые описано наличие антимикробной активности, в том числе в отношении антибиотикорезистентных форм патогенных микроорганизмов, для видов *Amycolatopsis bullii*, *Kitasatospora saccharophila*, *Nocardiopsis umidischolae* и *Saccharopolyspora dendranthemae*. Для двух видов рода *Micromonospora* (*Micromonospora aurantiaca* и *M. tulbaghiae*) впервые описана антимикробная активность в отношении метициллинрезистентного штамма *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA), а для вида *Actinoplanes capillaceus* – в отношении ванкомицинрезистентного штамма *Leuconostoc mesenteroides* ВКПМ B-4177 (VRLM). Активность в отношении антибиотикорезистентных тест-культур метициллинрезистентного штамма *S. aureus* ИНА 00761 (MRSA) и ванкомицинрезистентного штамма *L. mesenteroides* ВКПМ B-4177 (VRLM) делает ряд штаммов перспективными для выделения антибиотиков, преодолевающих лекарственную устойчивость.

Высокое число штаммов с антимикробной активностью, выделенных из кишечников многоножек, не уступает по численности активным штаммам, выделенным из разрушающихся растительных остатков, и, по-видимому, не связано с влиянием кишечной среды. Предположительно это обусловлено климатическими условиями среды обитания (Дещеревская и соавт., 2013; Чернов и соавт., 2019). В предшествующих исследованиях показано, что число копий рибосомальных генов в образцах тропических почв под слабонарушенными муссонными лесами заповедника Кат Тьен характеризуются высокой численностью микроорганизмов, сравнимой с наиболее богатыми почвами умеренных широт, например, черноземами (Semenov et al., 2018; Чернов и соавт., 2019). Обилие микроорганизмов способствует их острой конкуренции, в которой биосинтез антибиотиков является важным эволюционным приспособлением (Gause, 1934).

Богатое видовое разнообразие актинобактерий из кишечников тропических диплопод и их кормовых субстратов, а также проявленная ими высокая антибиотическая активность, дают основания для дальнейшего исследования бактерий из данной природной экосистемы. Выделенные и отобранные актинобактерии подлежат дальнейшему химическому изучению как возможные продуценты новых антибиотиков.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Ирине Игоревне Семенюк за сбор многоножек.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа А.В. Якушева в части выделения мицелиальных актинобактерий выполнена в рамках темы государственного задания “Почвенные микробиомы: геномное разнообразие, функциональная активность, география и биотехнологический потенциал”, № 121040800174-6 и в части выделения одноклеточных бактерий при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, проект № 075-15-2021-1396.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

*Беркли Р., Бок Э., Бун Д., Бреннер Д., Васильева Л.В., Видель Ф., Грант У., Гудфеллоу М., Джоунз Д., Заварзин Г.А., Камминз С., Кастенхольц Р., Кенен Дж., Кениг Г., Коулман Г., Кросс Т., Купс Г.-П., Ларкин Дж., Лешевалье Х., Лоцци Р., Маккарти А., Мэстрохуан Г., Пфенниг Н., Рейхенбах Г., Робертсон Л., Стеттер К.* Определитель бактерий Берджи / Под ред. Хоулт Дж., Криг Н., Снит П., Стейли Дж., Уильямс С. М.: Мир, 1997. 800 с.

*Бызов Б.А., Зенова Г.М., Бабкина Н.И., Добровольская Т.Г., Третьякова Е.Б., Звягинцев Д.Г.* Актиномицеты в пище, кишечнике и экскрементах почвенных многоножек *Pahyiulis flavipes* C.L. Koch. // Микробиология. 1993. Т. 62. С. 916–927.

*Бызов Б.А.* Зоомикробные взаимодействия в почве. М.: ГЕОС, 2005. 214 с.

*Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.Л., Терехова Л.П., Максимова Т.С.* Определитель актиномицетов. М.: Наука, 1983. 244 с.

*Дещеревская О.А., Авилов В.К., Динь Б.З., Чан К.Х., Курбатова Ю.А.* Современный климат национального парка Кат Тьен (Южный Вьетнам): использование климатических данных для экологических исследований // Геофизические процессы и биосфера. 2013. Т. 12. № 2. С. 5–33.

*Ефименко Т.А., Маланичева И.А., Васильева Б.Ф., Глухова А.А., Сумарукова И.Г., Бойкова Ю.В., Малкина Н.Д., Терехова Л.П., Ефременкова О.В.* Антибиотическая активность бактерий – эндобионтов плодовых тел базидиальных грибов // Микробиология. 2016. Т. 85. С. 740–747.

*Efimenko T.A., Malanicheva I.A., Vasil'eva B.F., Glukhova A.A., Sumarukova I.G., Boikova Y.V., Malkina N.D., Terekhova L.P., Efremenkova O.V.* Antibiotic activity of bacterial endobionts of basidiomycete fruit bodies // Microbiology (Moscow). 2016. V. 85. P. 752–758.

*Ефименко Т.А., Терехова Л.П., Ефременкова О.В.* Современное состояние проблемы антибиотикорезистентности патогенных бактерий // Антибиотики и химиотерапия. 2019. Т. 64. № 5–6. С. 64–68.

*Efimenko T.A., Terekhova L.P., Efremenkova O.V.* Current state the problem of antibiotic resistance of pathogens //

Antibiot. Chemother. 2019. V. 64. № 5–6. P. 64–68. (In Russ.)

*Звягинцев Д.Г., Полянская Л.М., Зенова Г.М., Бабкина Н.И.* Динамика длины актиномицетного мицелия и численности прокариотных клеток в кишечном тракте беспозвоночных животных // Микробиология. 1996. Т. 65. С. 269–276.

*Zvyagintsev D.G., Polyanskaya L.M., Zenova G.M., Babkina N.I.* Dynamics of the length of actinomycete mycelium and prokaryotic cell number in the invertebrate intestinal tract // Microbiology (Moscow). 1996. V. 65. P. 238–245.

*Полянская Л.М., Бабкина Н.И., Зенова Г.М., Звягинцев Д.Г.* Судьба актиномицетов в кишечном тракте почвенных беспозвоночных животных, поедающих споры стрептомицетов // Микробиология. 1996. Т. 65. № 4. С. 493–498.

*Polyanskaya L.M., Babkina N.I., Zenova G.M., Zvyagintsev D.G.* Fate of actinomycetes in the intestinal tract of soil invertebrates fed on streptomycete spores // Microbiology (Moscow). 1996. V. 65. P. 493–498.

*Чернов Т.И., Железова А.Д., Тхакахова А.К., Бгажба Н.А., Зверев А.О.* Микробиомы целинных почв тропических лесов Южного Вьетнама // Микробиология. 2019. Т. 88. С. 479–489.

*Chernov T.I., Zhelezova A.D., Tkhakakhova A.K., Bgazhba N.A., Zverev A.O.* Microbiomes of virgin soils of Southern Vietnam tropical forests // Microbiology (Moscow). 2019. V. 88. P. 489–498.

*Bérdy J.* Bioactive microbial metabolites // J. Antibiot. 2005. V. 58. P. 1–26.

*Donadio S., Brandi L., Monciardini P., Sosio M., Gualerzi C.O.* Novel assays and novel strains – promising routes to new antibiotics? // Expert Opin. Drug Discov. 2007. V. 2. P. 789–798.

*Efimenko T.A., Glukhova A.A., Demiankova M.V., Boykova Y.V., Malkina N.D., Sumarukova I.G., Vasilieva B.F., Rogozhin E.A., Ivanov I.A., Krassilnikov V.A., Efremenkova O.V.* Antimicrobial activity of microorganisms isolated from ant nests of *Lasius niger* // Life. 2020. V. 10. P. 91.

*Fukami A., Nakamura T., Kawaguchi K., Rho M.C., Matsumoto A., Takahashi Y., Shiomi K., Hayashi M., Komiyama K., Omura S.* A new antimicrobial antibiotic from *Actinoplanes capillaceus* sp. K95-5561T // J. Antibiot. (Tokyo). 2000. V. 53. P. 1212–1214.

*Gause G.F.* The Struggle for Existence. Baltimore, 1934. 163 p.

*Glukhova A.A., Karabanova A.A., Yakushev A.V., Semenyuk I.I., Boykova Yu.V., Malkina N.D., Efimenko T.A., Ivankova T.D., Terekhova L.P., Efremenkova O.V.* Antibiotic activity of Actinobacteria from the digestive tract of millipede *Nedyopus dawydoffiae* (Diplopoda) // Antibiotics (Basel). 2018. V. 7. № 4. P. 94.

*Hu D., Sun C., Jin T., Fan G., Mok K.M., Li K., Lee S.M.* Exploring the potential of antibiotic production from rare *Actinobacteria* by whole-genome sequencing and guided MS/MS analysis // Front. Microbiol. 2020. V. 11. P. 1540.

*O'Neill J.* The review on antimicrobial resistance. Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations. 2016. Available online: https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf

*Kaltenpoth M. Actinobacteria* as mutualists: general healthcare for insects? // Trends Microbiol. 2009. V. 17. P. 529–535.

*Kirby B.M., Meyers P.R. Micromonospora tulbaghiae* sp. nov., isolated from the leaves of wild garlic, *Tulbaghia violacea* // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2010. V. 60. P. 1328–1333.

*Knapp B.A., Seeber J., Rief A., Meyer E., Insam H.* Bacterial community composition of the gut microbiota of *Cylindroiulus fulviceps* (*Diplopoda*) as revealed by molecular fingerprinting and cloning // Folia Microbiol. 2010. V. 55. P. 489–496.

*König H., Varma A.* (Eds.) Intestinal Microorganisms of Termites and Other Invertebrates. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2006. 484 p.

*Li B., Furihata K., Kudo T., Yokota A. Kitasatospora saccharophila* sp. nov. and *Kitasatospora kazusanensis* sp. nov., isolated from soil and transfer of *Streptomyces atroaurantiacus* to the genus *Kitasatospora* as *Kitasatospora atroaurantiaca* comb. nov. // J. Gen. Appl. Microbiol. 2009. V. 55. P. 19–26.

*Peltola J.S., Andersson M.A., Kämpfer P., Auling G., Kroppenstedt R.M., Busse H.J., Salkinoja-Salonen M.S., Rainey F.A.* Isolation of toxigenic *Nocardiopsis* strains from indoor environments and description of two new *Nocardiopsis* Species, *N. exhalans* sp. nov. and *N. umidischolae* sp. nov. // Appl. Environ. Microbiol. 2001. V. 67. P. 4293–4304.

*Raja A., Prabakarana P.* Actinomycetes and drug-an overview // Am. J. Drug Discov. Dev. 2001. V. 1. P. 75–84.

*Semenov M.V., Chernov T.I., Tkhakakhova A.K., Zhelezova A.D., Ivanova E.A., Kolganova T.V., Kutovaya O.V.* Distribution of prokaryotic communities throughout the Chernozem profiles under different land uses for over a century // Appl. Soil Ecol. 2018. V. 127. P. 8–18.

*Szabo I.M., Nasser El-G. A., Striganova B., Rakhmo Y.R., Jager K., Heydrich M.* Interactions among Millipedes (*Diplopoda*) and their Intestinal Bacteria // Berichte des Naturwissen-schaftlich-medizinischen Vereins in Innsbruck, 1990. S. 10. P. 289–296.

*Tacconelli E., Carrara E., Savoldi A., Harbarth S., Mendelson M., Monnet D.L., Pulcini C., Kahlmeter G., Kluytmans J., Carmeli Y., Ouellette M., Outterson K., Patel J., Cavaleri M., Cox E.M., Houchens C.R., Grayson M.L., Hansen P., Singh N., Theuretzbacher U., Magrini N. WHO Pathogens Priority List Working Group*. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis // Lancet Infect. Dis. 2018. V. 18. P. 318–327.

*Ventura M., Canchaya C., Tauch A., Chandra G., Fitzgerald G.F., Chater K.F., van Sinderen D.* Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2007. V. 71. P. 495–548.

*Wagman G.H., Weinstein M.J.* Antibiotic from *Micromonospora* // Annu. Rev. Microbiol. 1980. V. 34. P. 537–557.

*Wang R.J., Zhang S.Y., Ye Y.H., Yu Z., Qi H., Zhang H., Xue Z.L., Wang J.D., Wu M.* Three new isoflavonoid glycosides from the mangrove-derived actinomycete *Micromonospora aurantiaca* 110B // Mar. Drugs. 2019. V. 17. Art. 294.

*Wang W., Park K.H., Lee J., Oh E., Park C., Kang E., Lee J., Kang H.* A new thiopeptide antibiotic, micrococcin p3, from a marine-derived strain of the bacterium *Bacillus stratosphericus* // Molecules (Basel, Switzerland). 2020. V. 25. Art. 4383.

*Wang T., Lu Q., Sun C., Lukianov D., Osterman I.A., Sergiev P.V., Dontsova O.A., Hu X., You X., Liu S., Wu G.* Hetiamacin E and F, new amicoumacin antibiotics from *Bacillus subtilis* PJS using MS/MS-based molecular networking // Molecules. 2020. V. 25. Art. 4446.

*Wolf A., Fritze A., Hagemann M., Berg G. Stenotrophomonas rhizophila* sp. nov., a novel plant-associated bacterium with antifungal properties // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2002. V. 52. P. 1937–1944.

*Zhang Y.J., Zhang W.D., Qin S., Bian G.K., Xing K., Li Y.F., Cao C.L., Jiang J.H. Saccharopolyspora dendranthemae* sp. nov., a halotolerant endophytic actinomycete isolated from a coastal salt marsh plant in Jiangsu, China // Antonie van Leeuwenhoek. 2013. V. 103. P. 1369–1376.

*Zucchi T.D., Bonda A.N., Frank S., Kim B.Y., Kshetrimayum J.D., Goodfellow M. Amycolatopsis bartoniae* sp. nov. and *Amycolatopsis bullii* sp. nov., mesophilic actinomycetes isolated from arid Australian soils // Antonie van Leeuwenhoek. 2012. V. 102. P. 91–98.

# Antimicrobial Activity of Bacteria Isolated from the Millipedes *Nedyopus dawydoffiae* and *Orthomorpha* sp.

**T. A. Efimenko[1, *], A. V. Yakushev[2], A. A. Karabanova[1], A. A. Glukhova[1], M. V. Demiankova[1], B. F. Vasilieva[1], Y. V. Boykova[1], N. D. Malkina[1], L. P. Terekhova[1], and O. V. Efremenkova[1]**

[1]*Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, 119021 Russia*

[2]*Faculty of Soil Science, Moscow State University, Moscow, 119991 Russia*

**e-mail: efimen@inbox.ru*

Received April 18, 2022; revised June 15, 2022; accepted June 20, 2022

**Abstract**—From the intestines of millipedes of the species *Nedyopus dawydoffiae* and *Orthomorpha* sp. (class *Diplopoda*) and from their food substrates (plant residues), 72 bacterial strains belonging to 25 genera were isolated and identified. Among the studied strains, actinobacteria predominated, among which streptomycetes were the most numerous, although representatives of 14 other genera of actinobacteria were also present. High abundance of actinobacteria with antimicrobial activity was noted, including members of the "rare" genera *Actinoplanes*, *Amycolatopsis*, *Kitasatospora*, *Lechevalieria*, *Micromonospora*, *Nocardiopsis*, and *Saccharopolyspora*. This is the first report on antimicrobial activity in *Kitasatospora saccharophila* INA 01226 and *Nocardiopsis umidischolae* INA 01230. Heterogeneity in terms of antibiotic formation in the populations of *Streptomyces pratensis* and *S. termitum* was shown. The most promising bacterial strains chosen for the chemical study of antibiotics formed exhibited activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* INA 00761 (MRSA) and vancomycin-resistant strain *Leuconostoc mesenteroides* VKPM B-4177 (VRLM).

**Keywords:** bacteria, actinobacteria, streptomycetes, "rare" genera, *Diplopoda*, *Nedyopus dawydoffiae*, *Orthomorpha* sp., endobionts, antibiotic producers, antibiotic resistance