

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СОКА ЛИМОНА НА ВЫДЕЛЕНИЕ АКТИНОМИЦЕТОВ РЕДКИХ РОДОВ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ АНТИБИОТИКОВ

О.Н. Синёва, Л.П. Терехова

НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва, Россия

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в связи с возрастающей устойчивостью патогенных микроорганизмов к существующим антимикробным препаратам актуальной проблемой остается поиск и разработка новых антибиотиков. Большинство известных антимикробных препаратов разработано на основе природных метаболитов, синтезируемых микроорганизмами: бактериями и грибами. Actinomyces являются продуцентами разнообразных по химическому строению биологически активных соединений, обладающих антибактериальным, противогрибковым и противоопухолевым действием. Большинство антибиотиков выделено из актиномицетов широко распространенного рода *Streptomyces*. Методом метагеномного анализа показано, что в почве находится огромное количество актиномицетов редких родов (*Micromonospora*, *Actinoplanes*, *Saccharopolyspora*, *Streptoverticillium*, *Nocardia*, *Streptosporangium*, *Actinomadura* и др.), которые могут быть потенциальными продуцентами новых антибактериальных, противоопухолевых или противогрибковых препаратов.

Цель работы – выделить актиномицеты редких родов из почвенного образца при добавлении сока лимона и установить антибиотическую активность выделенных актиномицетов в отношении тест-микроорганизмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выделение актиномицетов проводили из образца дерново-подзолистой почвы Московской области. Аликвоты почвенной суспензии помещали в пробирки со свежеежатим соком лимона (*Citrus limon*) в концентрациях 30 и 50 %, настаивали в течение 30 минут и высевали на органический агар 2 Гаузе.

Антибиотические свойства выделенных культур актиномицетов определяли методом перпендикулярных штрихов на агаровой среде 2 Гаузе в отношении тест-организмов: *Staphylococcus aureus* ИНА 00985 (FDA 209P), *S.aureus* ИНА 00761 (MRSA), *S.aureus* ИНА 00762, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Saccharomyces cerevisiae* ИНА 01042.

Изучение выживаемости актиномицетов рода *Micromonospora* проводили в условиях глубинного культивирования в жидкой среде 2 Гаузе с добавлением сока лимона в концентрациях 30 % и 50 %, в контрольные образцы сок лимона не добавлялся. Время культивирования составляло 7 дней, пробы отбирались через следующие промежутки времени: 1 час, 24 часа, 3 суток, 5 суток, 7 суток. Оценку выживаемости культур осуществляли путем подсчета выросших колоний на агаровой среде 2 Гаузе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что добавление сока лимона в концентрации 30 % приводит к увеличению количества выросших колоний актиномицетов на 5 %, в концентрации 50 % – к снижению количества колоний актиномицетов на 25 % по сравнению с контролем. Нами было отмечено, что добавление сока лимона приводит к уменьшению количества быстрорастущих грибных колоний и колоний немикелиальных бактерий на чашках, что позволяет выделить большее количество медленно растущих колоний актиномицетов редких родов.

Оценка биоразнообразия выделенных культур показала, что при добавлении 30 % сока лимона наблюдается небольшое снижение количества быстрорастущих актиномицетов рода *Streptomyces*, при этом количество культур актиномицетов редких родов возрастает на 8 %. При добавлении 50 % сока лимона в суспензию, количество культур редких родов увеличивается на 15 % по сравнению с контролем.

Увеличение концентрации сока лимона в суспензии позволило существенно увеличить количество выросших культур актиномицетов рода *Micromonospora*: в контроле была выделена одна культура, отнесенная к роду *Micromonospora*, в варианте с добавлением 30 % сока лимона – 3 культуры, при добавлении 50 % сока лимона – 8 культур рода *Micromonospora*. Полученные результаты дали основание полагать, что выделенные актиномицеты рода *Micromonospora* устойчивы к действию лимонной кислоты (pH = 2–2,5).

Дальнейшие исследования показали, что культуры рода *Micromonospora* способны сохранять высокую жизнеспособность и антибиотическую активность при длительном воздействии (в течение 7) дней сока лимона. По устойчивости к низким рН культуры актиномицетов рода *Micromonospora* были разделены на 4 группы: 8 штаммов обладали высокой жизнеспособностью при культивировании в жидкой среде, содержащей 30 % и 50 % сока лимона, у 2-х штаммов жизнеспособность была снижена по сравнению с контролем на 2 порядка и 2 штамма полностью утратили жизнеспособность к 7-му дню культивирования с соком лимона.

Всего было выделено в чистую культуру 82 штамма актиномицетов. Показано, что 23 штамма актиномицетов активны в отношении Гр + тест – организмов, 1 штамм в отношении Гр – тест-организмов, 2 штамма в отношении *Saccharomyces cerevisiae*. У остальных культур актиномицетов антибиотической активности, проверенной методом перпендикулярных штрихов, обнаружено не было.

При культивировании выделенных актиномицетов рода *Micromonospora* в жидких средах была определена антибиотическая активность в отношении тест-микроорганизмов (табл. 1).

Таблица 1. Активность актиномицетов рода *Micromonospora* при глубинном культивировании.

№ штамма	Тест-организмы					
	<i>E.coli</i>	<i>S.cerevisiae</i>	<i>St.aureus</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>M.luteus</i>	<i>P.aeruginosa</i>
11-л	+	+	+	-	+	+
57-л	-	-	-	-	-	-
58-л	+	-	+	-	-	-
60-л	-	-	-	-	-	-
65-л	-	-	-	-	-	-
71-л	-	-	+	-	-	-
77-л	+	+	+	+	+	+
81-л	-	+	+	+	+	+
84-л	+	+	+	+	-	+
93-л	+	+	+	+	+	+
94-л	+	+	+	+	+	+
99-л	+	+	+	+	+	+

ВЫВОДЫ

В нашей работе было показано, что добавление сока лимона приводит к увеличению доли выросших культур актиномицетов редких родов. Для выделения культур редких родов актиномицетов – потенциальных продуцентов новых биологически активных соединений, целесообразно применять более высокую концентрацию сока лимона.

Выделенные культуры актиномицетов обладали антибиотической активностью в отношении тест-организмов, как в отношении Гр + микроорганизмов, так и в отношении Гр – микроорганизмов и дрожжей. Таким образом, выделенные актиномицеты можно рассматривать в качестве потенциальных продуцентов антибиотиков.