

КОРЕЛЯЦІЙНА ЗАЛЕЖНІСТЬ БІОСИНТЕЗУ АНТИБІОТИЧНИХ СПОЛУК І ІНШИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН У ҐРУНТОВИХ СТРЕПТОМІЦЕТІВ

Лобода М.І., Войчук С.І., Білявська Л.О.

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, м. Київ, 03143, Україна,
e-mail: bilyuvskal@gmail.com*

*Відомо, що ґрунтові стрептоміцети є активними продуцентами широкого спектру біологічно активних речовин, в тому числі антибіотиків. Оскільки на сьогодні мало дослідженим є питання взаємозв'язку синтезу антибіотиків зі шляхами синтезу інших біологічно активних речовин – тема дослідження є **актуальною**. **Мета.** Дослідити кореляційну залежність у біосинтезі антибіотичних сполук та інших біологічно активних речовин, які продукуються ґрунтовими стрептоміцетами. **Методи.** Для встановлення зв'язку між синтезом антибіотичних сполук та інших біологічно активних речовин ґрунтовими стрептоміцетами було проведено факторний аналіз методом виявлення головних компонент; визначення коефіцієнтів регресії і дисперсійного аналізу – із застосуванням пакету програм Statistika v.10.0 (StatSoft, Inc., USA) і Matlab v. 6.0; кластерний аналіз – за допомогою методу Уорда із використанням евклідової відстані як ступеню відмінності (у %) між оцінюваними змінними. **Результати.** Виявлено кореляційні зв'язки між синтезом антибіотичних речовин штамами *Streptomyces violaceus* IMB Ac-5027 і *S. netropsis* IMB Ac-5025 та біосинтетичними шляхами інших біологічно активних речовин, проте з різними їх ланками. Продукування полієнових і антрациклінових антибіотиків у значній мірі корелює із синтезом фітогормонів (індол-3-карбінолом, індол-3-карбоксіловою кислотою, ізопентініладенозином і гіберелінами) та стеролами (ситостеролами). Утворення даних антибіотиків також проявляє залежність від синтезу тригліцеридів, стеринів та їх ефірів і жирних кислот (ізопальмітинової, гептадеценової, стеаринової, олеїнової, арахінової). Синтез штамами зазначених антибіотиків не має прямого зв'язку із вмістом амінокислот в культуральній рідині. **Висновки.** Визначені залежності між біосинтезом антибіотиків, фітогормонів і стероїдних сполук ґрунтовими стрептоміцетами, *S. netropsis* IMB Ac-5025 і *S. violaceus* IMB Ac-5027 надає нові можливості для розуміння складних взаємозв'язків, пов'язаних з оптимізацією синтезу промислово важливих метаболітів. Це також допоможе розширити знання умов для їх утворення, шляхів біосинтезу і функціонального значення для мікробних клітин.*

Ключові слова: ґрунтові стрептоміцети, антибіотики, метаболіти, факторний і дисперсійний аналізи

Серед відомих біологічно активних вторинних метаболітів, що продукують мікроорганізми, більш як 10000 сполук синтезують представники роду *Streptomyces* [1, 2, 3]. Ці фізіологічно активні сполуки відрізняються за хімічною будовою і спектром дії, але більшість з них проявляють антибіотичні властивості [4]. Тому активними продуцентами метаболітів для біоконтролю чисельності фітопатогенів є представники роду *Strepto-*

tusces, оскільки вони синтезують сполуки антибактеріальної, антигрибної, інсектицидної, акарицидної та антипаразитарної дії. Крім того, вони продукують широкий спектр біологічно активних речовин: амінокислоти, ферменти, вітаміни, фосфоліпіди, стерини, ненасичені жирні кислоти та інші, більшість з яких характеризується рiстрегулюючою дією, а також є індукторами стійкості рослин до фітопатогенів та несприятливих факторів довкілля [5, 6]. Тому з'ясування кореляційної залежності між синтезом антибіотичних речовин та іншими біологічно активними сполуками ґрунтових стрептоміцетів є актуальним [7]. Раніше у результаті проведеного нами широкого скринінгу серед колекційних, а також нововиділених з ґрунту стрептоміцетів було відібрано два штами: *S. netropsis* IMB Ac-5025 і *S. violaceus* IMB Ac-5027, які виявилися активними антагоністами значного ряду фітопатогенних грибів, бактерій, нематод тощо [8, 9]. Вони синтезують полієнові та антрациклінові антибіотики, фітогормони-стимулятори, такі як ауксини, цитокініни, гібереліни та незначну кількість антистресового гормону – абсцизову кислоту. Крім того, *S. netropsis* IMB Ac-5025 і *S. violaceus* IMB Ac-5027 продукують стероїдні сполуки – холестерол, ергостерол, ситостерол, стигмастерол, 24-епібрасинолід з попередника сквалену. В попередніх роботах показано, що *S. netropsis* IMB Ac-5025 і *S. violaceus* IMB Ac-5027, окрім антибіотиків, синтезують комплекс біологічно активних речовин, серед яких виявлено 17 вільних амінокислот, ліпіди, у тому числі вільні жирні кислоти, фосфоліпіди, моно- і дигліцериди, тригліцериди, стерини, ефіри стеринів, воски [10, 11]. Виявлені фізіологічно активні сполуки відіграють важливу роль у стимулюванні росту і розвитку рослин, а також в індукції їхньої системної стійкості до фітопатогенів [14].

Враховуючи викладене вище, метою даної роботи було дослідити кореляційну залежність між синтезом визначених антибіотичних сполук та біологічно активними речовинами штамів ґрунтових стрептоміцетів *S. netropsis* IMB Ac-5025 і *S. violaceus* IMB Ac-5027.

Матеріали і методи. В роботі були використані штами стрептоміцетів *S. netropsis* IMB Ac-5025 і *S. violaceus* IMB Ac-5027, виділені із південного каштанового ґрунту [13]. Бактерії вирощували на картопляно-глюкозному (КГА) і вівсяному (ISP-3) агаризованих середовищах, а їх глибинне культивування, для визначення синтезу антибіотичних і інших біологічно активних речовин, проводили у рідкому крохмало-аміачному і соєвому ферментаційних середовищах впродовж 7-ми діб [10].

Для виявлення антибіотичних речовин та амінокислот, ліпідів, стеролів, фітогормонів тощо використовували супернатант культуральної рідини і етанольні екстракти з біомаси бактерій після досягнення ними стаціонарної фази росту [14].

Визначення коефіцієнтів регресії і дисперсійний аналіз проводили із застосуванням пакету програм Statistica v.10.0 (StatSoft. Inc., USA) і Mathlab v. 6.0. Отримані коефіцієнти вважалися статистично значущими за $p \leq 0,05$. Кластерний аналіз проводили за допомогою методу Уорда із використанням евклідової відстані як ступеню відмінності (у %) між оцінюваними перемінними [15]. Зв'язок між синтезом антибіотичних сполук та інших біологічно активних речовин вивчали за допомогою факторного

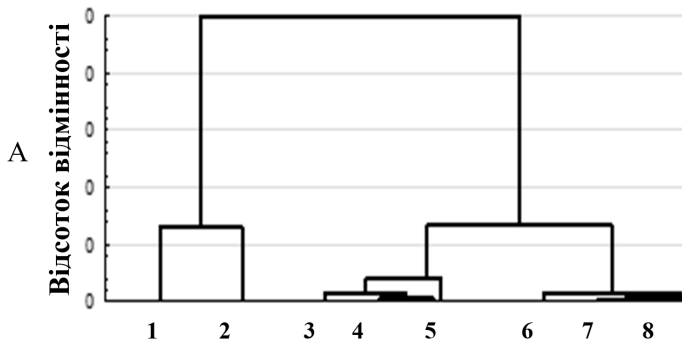
аналізу методом головних компонент (за алгоритмом «спільноти дорівнюють множинній R^2 »).

Перш за все оцінювали кількість факторів, далі оцінювали величину факторного навантаження для кожного з досліджуваних показників (власне це величина кореляції між дослідженою перемінною із відповідним фактором). В математичному сенсі фактор – це рівняння лінійної регресії, яке якнайкраще апроксимує оцінювані дані. В біологічному сенсі фактор – це чинник невідомої природи, зміни якого впливають на величину оцінюваних перемінних. Факторні навантаження вважали вагомими при величині понад 70% (тобто виявлений фактор здатен описати понад 70% дисперсії оцінюваної перемінної) [16, 17, 18, 19]. Перемінні вважали залежними між собою і, як такі, що регулюються певним спільним чинником, якщо вони виявляли вагомі величини навантаження з одним спільним фактором. Загальна кількість оцінюваних перемінних становила 82 [16, 17, 18, 19].

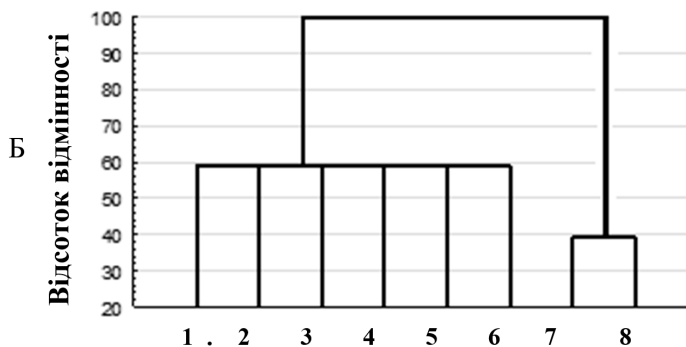
Результати досліджень. Бактерії *S. netropsis* ІМВ Ас-5025 і *S. violaceus* ІМВ Ас-5027 не виявляють суттєвих відмінностей за кількісними величинами синтезованих сполук (продукція речовин в мкг/г АСБ). Аналіз проведено за методом Уорда, визначали евклідову відстань для кластеризації даних (рис.1).

Аналіз даних методом кластерного аналізу показав, що синтез досліджуваних антибіотичних сполук штамми бактерій *S. netropsis* ІМВ Ас-5025 і *S. violaceus* ІМВ Ас-5027 може бути опосередкований активністю двох невідомих чинників (Фактор 1 і Фактор 2). Загалом досліджені показники синтезу антибіотичних сполук та біологічно активних речовин умовно діляться на чотири групи в залежності від величини навантаження з боку факторів 1 і 2 (Рис. 2). До першого кластеру відносяться показники, які мають високе навантаження з боку фактору 1 (понад 60 %), до другого кластеру – з відносно однаковою величиною навантаження з боку обох факторів (від 40 % до 70 %), до третього кластеру – з високим показником навантаження з боку фактору 2 (понад 60 %), в четвертий кластер потрапили лише два з досліджуваних показників з високим навантаженням з боку фактору 1 (понад 70 %). Досліджувані сполуки №№2-5 знаходяться у першому кластері. Сполука №1 знаходиться у третьому кластері, а сполука №6 – у другому кластері.

Факторний аналіз отриманих нами даних дозволив виявити, що продукування антибіотичних речовин штамми *S. netropsis* ІМВ Ас-5025 і *S. violaceus* ІМВ Ас-5027 пов'язані спільними біосинтетичними шляхами, проте із різними їх ланками. Так, наприклад, утворення сполуки № 1 корелює із синтезом фосфоліпідів, моно- і дигліцеридів, фракцією неідентифікованих ліпідів, а також вільними жирними кислотами, в той час як сполуки №№2-5 проявляють зв'язок лише із синтезом стеринів та їх ефірів, а також тригліцеридів. Сполука №1 пов'язана із синтезом ліноленової і лінолевої жирних кислот, натомість інші сполуки виявляють зв'язок із утворенням ізопальмітинової, гептадеценової, стеаринової, олеїнової і арахінової жирних кислот. Дані сполуки мають тісні кореляційні зв'язки із синтезом стеролів, однак сполука №1 зв'язана із утворенням сквалену,



1 – ІМВ Ас 5025, ОС, Б; 2 – ІМВ Ас 5027, СС, Б; 3 – ІМВ Ас 5027, ОС, Б,
 4 – ІМВ Ас 5025, ОС, СКР; 5 – ІМВ Ас 5025, СС, Б; 6 – ІМВ Ас 5027, ОС, СКР;
 7 – ІМВ Ас 5027, СС, СКР; 8 – ІМВ Ас 5025, СС, СКР.



1 – ІМВ Ас 5027, ОС, Б; 2 – ІМВ Ас 5027, ОС, СКР; 3 – ІМВ Ас 5027, СС, Б,
 4 – ІМВ Ас 5025, ОС, Б; 5 – ІМВ Ас 5025, ОС, СКР; 6 – ІМВ Ас 5025, СС, Б;
 7 – ІМВ Ас 5027, СС, СКР; 8 – ІМВ Ас 5025, СС, СКР.

Рис. 1. Кластеризація даних відповідно до кількісних величин (мкг/г АСБ) визначених субстанцій у кожного штаму за джерелом (А), з якого виділені сполуки (з біомаси чи культуральної рідини) і в меншій мірі відповідно до типу поживного середовища (органічне чи синтетичне) (Б)

холестеролу, ергостеролу і 24-брасиноліду, в той час як інші сполуки – лише із ситостеролом. Ауксини не мають кореляційної залежності із синтезом сполуки №1, проте вміст індол-3-карбінолу і індол-3-карбоксілової кислоти тісно пов'язаний із вмістом сполук №2-5. Сполука №1 пов'язана з утворенням цитокінінів через зеатинрибозид, в той час як інші сполуки мають зв'язок із цитокінінами через ізопентиніладенозин. Сполука №1 пов'язана з утворенням абсцизової кислоти, а інші сполуки – з гіберелінами.

Синтез сполуки №6 займає проміжне положення щодо залежності від синтезу інших метаболітів, адже виявляє майже однакову залежність як зі шляхами утворення сполуки №1 (60%), так і зі шляхами синтезу сполук №2-5 (52%). Продукування жодної зі сполук не знаходить прямого зв'язку із вмістом амінокислот. Окрім того, жодна сполука, так само як і їх загальний вміст, не виявляють зв'язку із сумарними показниками, такими як сума амінокислот, ліпідів, насичених жирних кислот тощо, що вказує на вузьку специфічність синтезу цих сполук, тобто таку, що залежить не від шляху в цілому, а лише від утворення окремих його компонентів.

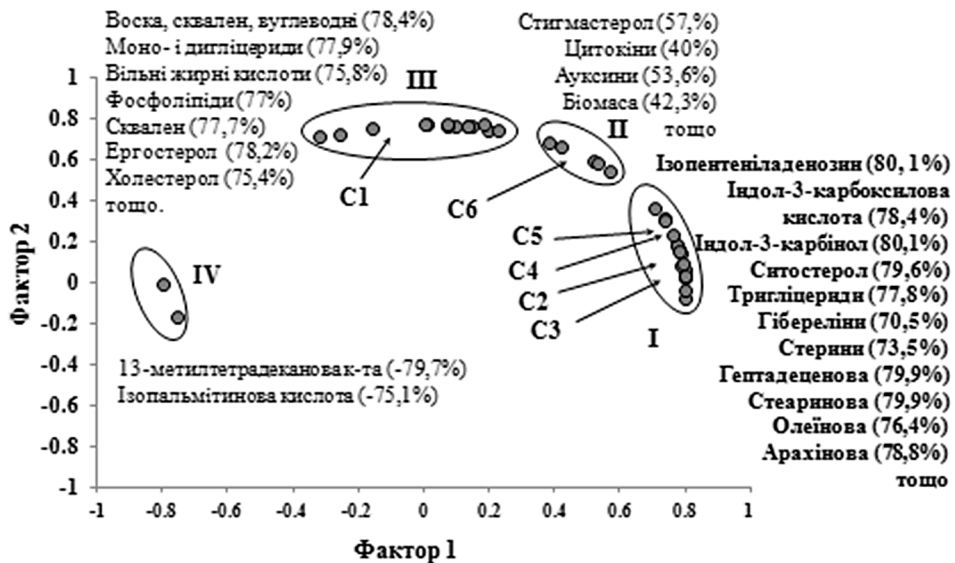


Рис. 2. Взаємозв'язок біосинтезу антибіотичних речовин (С-сполуки 1–6) з іншими біологічно активними речовинами штамми *S. netropsis* IMB Ac-5025 і *S. violaceus* IMB Ac-5027 (метод факторного аналізу)

Імовірно, що на синтез сполук №№1-6 впливають одні й ті ж метаболічні шляхи, однак різні їх ланки, які між собою перетинаються лише стосовно утворення сполуки №6, а для інших сполук є незалежними. З цього випливає, що можна підібрати умови для контрольованого синтезу цих сполук за рахунок блокування шляхів утворення жирних кислот або стеролів на різних їх ланках. При цьому, в залежності від того, на якій ланці відбулося блокування, ефект виявлятиметься лише на одних сполуках і не матиме впливу на інші. Проте, утворення сполуки №6 буде пригнічуватися майже в усіх випадках.

Таким чином, виявлено взаємозв'язок синтезу антибіотичних речовин з іншими біологічно активними речовинами. Продуктування штамом *S. netropsis* IMB Ac-5025 полієнових (C4 - кандидин і C5 - новий тетраєн) і *S. violaceus* IMB Ac-5027 антрациклінових (C4 - родилунанцин Б і C5 - родилунанцин А) антибіотиків корелює із синтезом фітогормонів (ізопентиніладенозин, індол-3-карбінол, індол-3-карбоксилова кислота та гібереліни) та стеролів, зокрема, ситостеролом (рис. 2). Утворення даних антибіотиків також залежить від синтезу тригліцеридів, стеринів та їх ефірів, а також від ізопальмітинової, гептадеценової, стеаринової, олеїнової і арахінової жирних кислот тощо. Використання екзогенних фітогормонів і стероїдних сполук мікробного походження може регулювати їх співвідношення в рослині та сприяти підвищенню їхньої стійкості до фітопатогенів. Тому доцільним було проаналізувати вплив саме фітогормонів і стеролів на синтез полієнових і антрациклінових антибіотиків ґрунтовими стрептоміцетами за умов їх екзогенного внесення в середовище культивування в ході експерименту.

За результатами дисперсійного аналізу кількість синтезованої сполуки №4 достовірно залежить від вмісту ситостеролу ($p \leq 0,05$), тоді як синтез сполуки №5, окрім ситостеролу, визначається вмістом ще й ізопентеніла-

денозину, індол-3-карбінолу та індол-3-карбоксилової кислоти (рис. 3). При цьому, ситостерол виявляє позитивну залежність із вмістом обох сполук і вочевидь виступає найбільш вагомим чинником, який визначає кінцеві концентрації сполук №4 і №5. Таким чином, збільшення вмісту ситостеролу призводить до збільшення кількості синтезованих сполук.

Вивчення залежності між біосинтезом антибіотиків, фітогормонів і стероїдних сполук ґрунтовими стрептоміцетами, зокрема, *S. netropsis* IMB Ас-5025 і *S. violaceus* IMB Ас-5027, надає нові можливості для розуміння складних взаємозв'язків, пов'язаних з оптимізацією синтезу промислово важливих метаболітів. Це також допоможе розширити знання умов їх утворення, шляхів біосинтезу і функціонального значення для мікробних клітин.

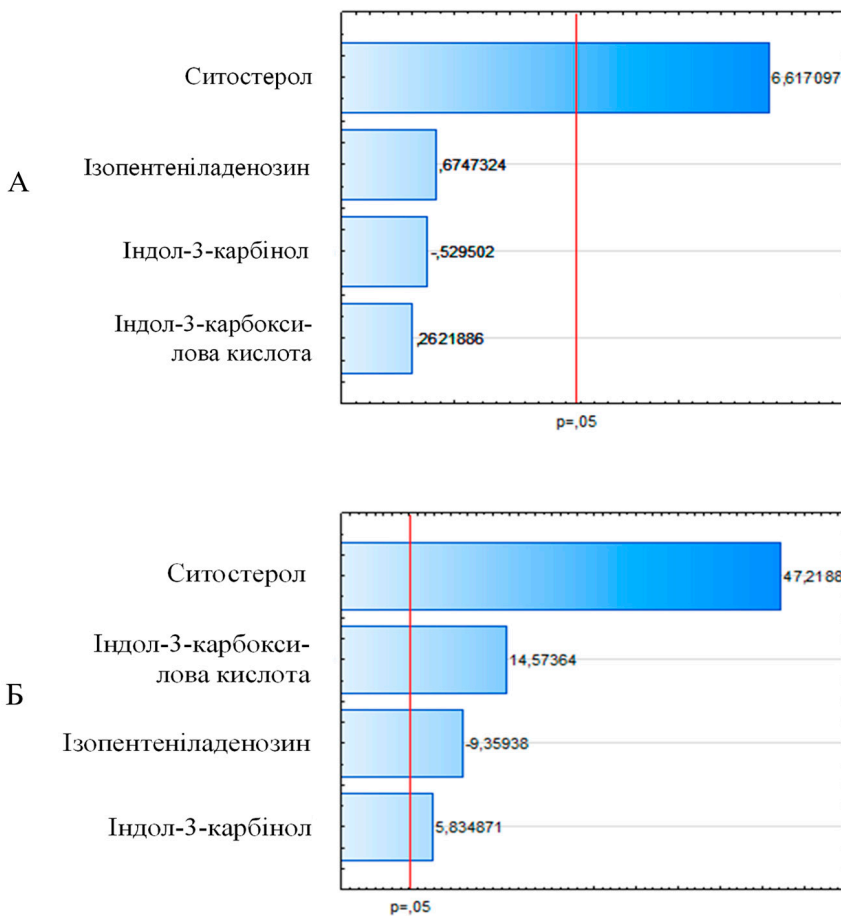


Рис. 3. Вплив досліджених факторів на синтез антибіотичної сполуки №4 (А) і №5 (Б) ґрунтовими стрептоміцетами *S. netropsis* IMB Ас-5025 і *S. violaceus* IMB Ас-5027 (діаграма Парето)

Обговорення. Створення високоактивних штамів-продуцентів антибіотиків неможливе без суттєвих змін у процесах регулювання їх біосинтезу. Аналіз літературних джерел свідчить про те, що для утворення навіть одного класу антибіотиків необхідно враховувати ряд факторів. Виявлення фізіологічних особливостей кожного окремого продуцента і підбір на

цій основі умов для утворення антибіотику є найбільш ефективним. Тому успіхи, досягнуті в області біосинтезу антибіотиків, тісно пов'язані з розвитком фізіолого-біохімічного напрямку досліджень. Значення правильно підібраних умов культивування продуцента надзвичайно велике. Це дає змогу виявити всі потенційні можливості продуцентів, змінити хід біосинтезу в залежності від його цільової направленості, збільшити вихід певних біологічно активних речовин за умов екзогенного регулювання [21, 22].

Вивчення кореляційної залежності між синтезом антибіотичних речовин і інших біологічно активних речовин є важливим напрямом досліджень на сьогодні. Нові експериментальні дані зможуть розширити фундаментальні знання щодо взаємозв'язку утворення певних метаболітів в бактеріальній клітині, а також впливу шляхів синтезу інших біологічно активних речовин, ланки яких не перетинаються.

На сьогодні мало вивченим є питання впливу біологічно активних речовин на синтез антибіотиків. В літературі є дані лише щодо впливу речовин-попередників біосинтезу, зокрема амінокислот і інформація щодо оптимізації умов культивування штаму (підбір оптимального співвідношення мінеральних елементів живлення, а також фізичних параметрів культивування – рН, температури тощо) для збільшення виходу деяких антибіотиків у ґрунтових стрептоміцетів. Оpubліковані дослідження щодо молекулярного регулювання синтезу деяких антибіотиків у стрептоміцетів, де увага зосереджена на вивчення генних кластерів і регуляторних генів [23, 24].

Проте, відсутні узагальнені дослідження щодо впливу широкого спектру біологічно активних метаболітів, таких як фітогормони, стероли, жирні кислоти, фосфоліпіди тощо на синтез антибіотичних речовин. Нами було показано вперше кореляційну залежність біосинтезу антибіотичних речовин з широким спектром інших біологічно активних речовин і визначено величину впливу кожного фактору на процес біосинтезу. Це в майбутньому сприятиме більш широкому вивченню взаємозв'язків біохімічних шляхів утворення біологічно активних речовин у ґрунтових стрептоміцетів і надасть нові можливості для його регулювання в біотехнологіях, оскільки можна буде використовувати саме той чинник, який впливатиме на процес їх утворення найбільшою мірою. За умови внесення екзогенних речовин в середовище культивування відбувається перенаправлення метаболічних шляхів, оскільки ланки первинного і вторинного метаболізму пов'язані через певні речовини.

Факторний аналіз отриманих даних щодо біосинтезу біологічно активних речовин штамами *S. netropsis* IMB Ac-5025 і *S. violaceus* IMB Ac-5027 свідчить про те, що утворення антибіотичних сполук №1-6 знаходиться у підпорядкуванні однакових метаболічних шляхів, однак різних їх ланок, які між собою перетинаються лише стосовно синтезу сполуки №6, а для інших сполук – вони є незалежними. Це дає можливість підібрати умови для контрольованого продукування цільових сполук за рахунок блокування шляхів синтезу фітогормонів, стеролів, жирних кислот, тощо на різних їх ланках. У залежності від того, на якій ланці відбулося блокування, ефект виявлятиметься лише на одних сполуках і не матиме впливу на інші. Проте, синтез сполуки №6 буде пригнічуватися майже в усіх випад-

ках. Встановлена залежність між біосинтезом антибіотиків, фітогормонів і стероїдних сполук ґрунтовими стрептоміцетами, зокрема, *S. netropsis* IMB Ac-5025 і *S. violaceus* IMB Ac-5027, надає нові можливості для розуміння складних взаємозв'язків, пов'язаних з оптимізацією утворення промислово важливих метаболітів.

Відомо, що біосинтез вторинних метаболітів інтенсивно відбувається у стрептоміцетів, які досягли стаціонарної фази росту. Первинний метаболізм значною мірою впливає на вторинний, оскільки первинні метаболіти є попередниками для побудови вторинних метаболітів, які в основному утворюються з центрального вуглецевого обміну. Вивчення утворення вторинних метаболітів, специфічних для тих чи інших мікроорганізмів, є необхідним з ряду причин. По-перше, вивчення метаболізму мікробної популяції у фазі стаціонарного росту є мало дослідженою областю фізіології та біохімії мікроорганізмів, яка цікава тим, що у цій фазі відбуваються інтенсивні процеси синтезу цілого ряду біологічно активних речовин. По-друге, стосовно продукування антибіотиків та індукторів системної стійкості рослин – інтерес біотехнологів пов'язаний з оптимізацією синтезу промислово важливих метаболітів. По-третє, кооперативні зв'язки рослини і мікроорганізмів кореневої зони, що продукують індуктори системної стійкості, залишаються практично не дослідженими. Згідно сучасним уявленням утворення вторинних метаболітів може бути потрібним ґрунтовим стрептоміцетам у трьох випадках: а) за трансформації надлишкових або непотрібних мікроорганізму сполук; б) за біосинтезу речовин, що використовуються ним як метаболічні ефектори. В особливих випадках вторинні метаболіти можуть також використовуватися як запасні речовини [25, 26, 27]. На сьогодні відсутні узагальнюючі теоретичні уявлення щодо умов утворення вторинних метаболітів, шляхів біосинтезу і функціонального значення для мікробних клітин, хоча практичне їх використання різко зростає, тому ця тема потребує подальшого вивчення [28, 29, 30, 31].

КОРРЕЛЯЦИОННАЯ ЗАВИСИМОСТЬ БИОСИНТЕЗА АНТИБИОТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ И ДРУГИХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ У ПОЧВЕННЫХ СТРЕПТОМИЦЕТОВ

Лобода М.И., Войчук С.И., Белявская Л.А.

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, г. Киев, 03143, Украина,
e-mail: bilyuvskal@gmail.com*

Резюме

Известно, что почвенные стрептомицеты являются активными продуцентами широкого спектра биологически активных веществ, в том числе антибиотиков. Поскольку в настоящее время проблема взаимосвязи синтеза антибиотиков и других биологически активных веществ недостаточно изучена, предмет исследования является **актуальным**. **Цель**. Исследовать корреляционную зависимость между биосинтезом антибиотических соединений и других биологически активных веществ, продуцируемых почвенными стрептомицетами. **Методы**. Для установления связи

между синтезом антибиотических соединений и других биологически активных веществ проводили факторный анализ методом выявления главных компонент, определение коэффициентов регрессии и дисперсионного анализа – с применением пакета программ Statistika v.10.0 (StatSoft. Inc., USA) и Matlab v . 6.0; кластерный анализ – с помощью метода Уорда с использованием евклидова расстояния как степени различия (в%) между оцениваемыми переменными. **Результаты.** Выявлены корреляционные связи между синтезом антибиотических веществ штаммами *Streptomyces violaceus* ИМД Ас-5027 и *S. netropsis* ИМБ Ас-5025 и биосинтетическими путями других биологически активных веществ, однако с различными их звеньями. Производство полиеновых и антрациклиновых антибиотиков в значительной степени коррелирует с синтезом фитогормонов (индол-3-карбинолом, индол-3-карбокисловой кислотой, изопентиниладенозином и гиббереллинами) и стеролов (ситостеролом). Образование данных антибиотиков имеет взаимосвязь с синтезом триглицеридов, стеринов и их эфиров и жирных кислот (изопальмитиновой, гептадеценовой, стеариновой, олеиновой, арахидиновой). Синтез штаммами указанных антибиотиков не имеет прямой связи с содержанием аминокислот. **Выводы.** Определена зависимость между биосинтезом антибиотиков, фитогормонов и стероидных соединений почвенными стрептомицетами, *S. netropsis* ИМБ Ас-5025 и *S. violaceus* ИМБ Ас-5027, что предоставляет новые инструменты для понимания сложных взаимосвязей, связанных с оптимизацией производства промышленно важных метаболитов. Это также поможет расширить знания условий их образования, путей биосинтеза и функционального значения для микробных клеток.

Ключевые слова: почвенные стрептомицеты, антибиотики, метаболиты, факторный и дисперсионный анализы.

CORRELATION DEPENDENCE BETWEEN THE ANTIBIOTIC COMPOUNDS BIOSYNTHESIS AND OTHER BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN SOIL STREPTOMYCETES

Loboda M.I., Voichuk S.I., Biliavska L.O.

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine,
154 Acad. Zabolotny str., Kyiv, 03143, Ukraine,
e-mail: bilyuvskal@gmail.com*

Summary

It is known that soil streptomycetes are active producers of a wide range of biologically active substances, including antibiotics. Since the issue of the relationship between the antibiotics synthesis and the ways of other biologically active substances synthesis is not studied in full at present, the research subject is relevant. The question is not fully investigated. The goal of the work was to research the correlation dependence between the biosynthesis of antibiotic and other biologically active substances produced by soil streptomycetes. **Methods.** To determine the relationship between the synthesis of antibiotic compounds and other biologically active substances by soil streptomycetes was held factorial analysis with using the method of the main components; for identification the coefficients of regression and dispersion analysis were used the package Statistika v.10.0 (StatSoft. Inc., USA) and Matlab v . 6.0; cluster analysis was held by using the Ward

method with determination Euclidean distance as the degree of difference (in%) between the estimated variables. **Results.** Correlation relations between the antibiotic synthesis by strains *Streptomyces violaceus* IMV Ac-5027 and *S. netropsis* IMV Ac-5025 with biosynthetic pathways of other biologically active substances, but with different links are identified. Synthesis of polyene and anthracycline antibiotics correlates with the synthesis of phytohormones (indole-3-carbinol, indole-3-carboxylic acid, isopentenyladenosine and gibberellins) and sterols (sitosterol). Production of these antibiotics also shows the dependence in the synthesis of triglycerides, sterols and their esters and fatty acids (isopalmitin, heptadecene, stearic fat acid, oleic fat acid, peanut fat acid). These antibiotics synthesis does not have a direct relationship with the content of amino acids. **Conclusions.** The relationships between biosynthesis of antibiotics, phytohormones and steroid compounds by soil streptomycetes *S. netropsis* IMV Ac-5025 and *S. violaceus* IMV Ac-5027 provides new tools for understanding the complex interconnections associated with the optimization of the synthesis of industrially important metabolites. Thus we can broaden the knowledge about the conditions of their formation, the biosynthesis ways and functional significance for microbial cells.

Keywords: soil streptomycetes, antibiotics, metabolites, factorial and dispersion analyzes.

1. Anderson L.E., Ehrlich J., Huang Sun S., Burkholder P.R. Strains of *Streptomyces*, the sources of alaserine, elaiomycin, griseoviridin, and viridogrisein. *Antibiot. and Chemother.* 1956; 6(2): 100–115.
2. Stevens M., May M.J. Pests, Diseases and weeds review 2009. *British Sugar Beet Review.* 2010; 78(1): 7–10.
3. New plant growth regulators: basic research and technologies of application. Monograph / Ed. S.P. Ponomarenko, G.O. Iutynska. – Kyiv: Nichlava, 2011. – 211.
4. Argoudelis A.D., Reusser F., Whaley H.A. et al. Antibiotics produced by *Streptomyces ficellus*. I. Ficellomycin. *J. Antibiot.* 1976; 29(10): 1001-1006.
5. Biliavska L.O., Efimenko T.A., Efremenkova O.V., Koziritska V.Ye., Iutynska G.O. [Identification and antagonistic properties of the soil streptomycetes *Streptomyces sp.* 100]. *Microbiol. Z.* 2016; 78(2): 61-73. Ukrainian.
6. Genilloud O., Ganzalez I., Salazar O., Martin J., Tormo J.R., Vicente F. Current approaches to exploit actinomycetes as a source of novel natural products. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2011; 38(3): 375–389.
7. Biliavska L.O., Pidlypska V.A., Kozyrtska V.Y., Iutynska G.A. Biosynthetic activity of soil streptomycetes - antagonists of plan-parasitic nematodes and phytopathogens. *Proceedings of the 4th European Conference on Biology and Medical Sciences.* 2015, Vienna, Austria. Austria: East West Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH; 2015; 10–17.
8. Valagurova E.V., Kozyrtskaya V.E., Iutynska G.A. Actinomycetes of *Streptomyces* genus. Description of species and computer program of their identification. Kyiv: Naukova dumka, 2004. 648.
9. Jang J.Y., Kim J.-C., Choi Y.H., Joo Y.-J., Kim H., Jang K.S., Choi G.J., Kim C.-J., Cha B., Park H.W. Characterization of *Streptomyces netropsis* showing a nematocidal activity against *Meloidogyne incognita*. *Research in Plant Disease.* 2015; 21(2): 50-57.

10. Biliavska L.O., Kozyriska V.E., Valagurova O.V., Iutynska G.O. [Biologically active substances of new microbial preparation Avercom]. *Microbiol. Z.* 2012; 74(3): 10-15. Russian.
11. Jin J.-l., Wang C., Lei T., Gao P.-J. Isolation and classification of *Streptomyces netropsis* strain SD-07 which produces polyene macrolide antibiotics with broad-spectrum and high antifungal activity. *Journal of Shandong University. Natural Science.* 2009; 5: 34-48.
12. Biliavska L.O., Galagan T.O., Iutynska G.O. [Antinematicidal activity of metabolites produced by soil streptomycetes]. *Microbiol. Z.* 1993; 78(4): 34-47. Russian.
13. Biliavska L.O., Kozyriska V.E., Kolomiets Y.V., Babych O.G., Iutynska G.O. [Phytochemical and rhegulatory properties of metabolic preparations on the basis of soil streptomycetes]. In: Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine; 2015. № 1. - p. 131-137. Russian.
14. Savinsky SV, Dragovoz I.V, Pedchenko V.K. [Determination of zeatine, indolyl-3-acetic and abscisic acids from a single plant test by a method of high-performance liquid chromatography]. *Physiology and biochemistry of plants.* 1991; 23(6):606-614. Russian.
15. Palaniraj R., Nagarajan, P. Statistical analysis of experimental variables for the production of lactic acid using *Lactobacillus casei* from waste potato starch by Box- Behnken design. *Int J Chem Tech Res.* 2012; 4(3):1049–1064.
16. Kozhevnikova M.F., Levenets V.V., Dioritsa V.A. [Chemometric approach to the processing of data obtained from the use of nuclear physics methods of substance analysis]. *Complex systems and processes.* 2008; (1): 48–54. Russian.
17. Palaniraj R., Nagarajan, P. Statistical analysis of experimental variables for the production of lactic acid using *Lactobacillus casei* from waste potato starch by Box- Behnken design. *Int J Chem Tech Res.* 2012; 4(3):1049–1064.
18. N.T.J. Bailey *Statistical methods in biology.* 3rd ed. xiii, Cambridge University Press. 1995; 75(2): 515-516.
19. Lakin G.F. *Biometrics.* 4th ed. Ex. School: Moscow; 1990.
20. K.-S. Hwang et al. *Biotechnology Advances.* 2014; 32 (12): 255–268.
21. Baral B., Akhgari A., Metsä-Ketela M. Activation of microbial secondary metabolic pathways: Avenues and challenges. *Synth Syst Biotechnol.* 2018; 3(3): 163–178.
22. Gokulan, K., Khare K., Cerniglia S. Metabolic pathways: Production of secondary metabolites of bacteria. *Encyclopedia of Food Microbiology.* 561–569.
23. Gang Liu., Keith F., Govind Chandra, Guoqing Niu, Huarong Tan. Molecular regulation of antibiotic biosynthesis in *Streptomyces*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2013; 77(1): 112–143.
24. Chater K.F. Genetic regulation of secondary metabolic pathways in *Streptomyces*. *Ciba Found Symp.* 1992; 171:144-56: discussion 156–62.
25. Stefan Rokem J., Eliasson A. L., Nielsen J. Systems biology of antibiotic production by microorganisms. *Nat. Prod. Rep.*, 2007; 24 (12): 1262–1287.
26. Pieterse C.M.J., Leon-Reyes A., Van der Ent S., and Van Wees S.C.M. Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nat Chem Biol.* 2009; 5(5): 308–316.
27. Srividya S., Adarshana T., Deepika V.B., Kajingailu G., Nilanjan D. *Streptomyces* sp. as effective biocontrol against chilli soilborne fungal phytopathogens. *Eur. J. Exp. Biol.* 2012; 2(1): 163–173.

28. Ventura M., Canchaya C., Tauch A., Chandra G., Fitzgerald G.F., Chater K.F., van Sinderen D. Genomics of *Actinobacteria*: tracing the evolutionary of an ancient phylum. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2007; 71(3): 495–548.
29. Valli S., Suvathi S.S., Aysha O., Nirmala P., Vinoth K.P., Reena A. Antimicrobial potential *Actinomycetes* species isolated from marine environment. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2012; 2(6): 469–473.
30. Ruanpanun P., Tangchitsomkid N., Hyde K.D., Lumyong I. Actinomycetes and fungi isolated from plant-parasitic nematode infested soils: screening of the effective biocontrol potential, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World J Microbiol Biotechnol.* 2010; 26: 1569–1578.
31. Berdy J. Bioactive Microbial Metabolites. *J. Antibiot.* 2005; 58(1): 1–26.