

Направленное выделение актиномицетов редких родов из почвы

О. Н. СИНЁВА, Л. П. ТЕРЕХОВА

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

Selective Isolation of Rare Actinomycetes from Soil

O. N. SINEVA, L. P. TEREKHOVA

G. F. Gause Research Institute of New Antibiotics, Moscow

В процессе поиска продуцентов биологически активных соединений, а также в экологических исследованиях применяется большое разнообразие методов селективного выделения актиномицетов. В обзоре рассмотрены методы выделения актиномицетов редких родов из почвы.

Ключевые слова: актиномицеты, редкие роды, методы, выделение.

Many diverse methods for selective isolation of actinomycetes are used in discovery of organisms producing biologically active substances, as well as in ecological studies. Methods for isolation of rare actinomycetes from soil are reviewed.

Key words: actinomycetes, rare genera, methods, isolation.

Актиномицеты — обширная группа грамположительных мицелиальных бактерий, принадлежащая к филуму *Actinobacteria*, порядку *Actinomycetales* [1]. Актиномицеты являются продуцентами биологически активных соединений, среди которых выделены вещества, обладающие антибактериальным, антигрибковым, противоопухолевым действием, и соединения, подавляющие развитие возбудителей паразитарных заболеваний. Изучено более 16000 антибиотиков микробного происхождения, продуцентами более 50% из них являются актиномицеты. Около 74% антибиотиков актиномицетного происхождения выделено из рода *Streptomyces*, остальная часть — из представителей редких родов (*Micromonospora*, *Actinoplanes*, *Saccharopolyspora*, *Streptoverticillium*, *Nocardia*, *Streptosporangium*, *Actinomadura*) [2].

Редкими принято называть актиномицеты, не относящиеся к роду *Streptomyces*. По сравнению со стрептомицетами, культуры редких родов актиномицетов трудно выделяются из природных источников, сложны в культивировании и хранении при обычных условиях. Актиномицеты редких родов продуцируют большое количество разнообразных, уникальных, иногда очень сложных соединений, показывающих высокую антибактериальную активность и часто низкотоксичных [2]. Метаболиты

редких актиномицетов имеют очень важное практическое значение для медицины: антибиотики широкого спектра действия из группы аминогликозидов — гентамицин, сизомицин (*Micromonospora*) и тобрамицин (*Streptoalloteichus*); противотуберкулезный антибиотик рифамицин из группы анзамидов (*Amycolatopsis*); полициклические гликопептиды ристомицин, ванкомицин (*Amycolatopsis*) и тейкопланин (тейхомицин) (*Actinoplanes*); макролидные антибиотики эритромицин (*Saccharopolyspora*) и розамицин (*Micromonospora*); противоопухолевый антибиотик карминомицин (*Actinomadura*) [3, 4]. Такие применяемые в сельском хозяйстве соединения, как зирацин, далбавацин, спинозин, также продукты редких родов актиномицетов [2].

Представители почти всех известных родов актиномицетов выделены из почвы. Знание закономерностей распределения актиномицетов в почвах очень важно для направленного выделения определённых групп актиномицетов. Так, низкие значения pH лесных подзолистых почв способствуют развитию в них представителей рода *Streptosporangium*, наиболее благоприятными местом обитаниями для олигоспоровых актиномицетов (*Actinomadura*, *Saccharopolyspora*, *Saccharomonospora*, *Microbispora*, *Thermomonospora*) в хвойных лесах оказались нижние слои подстилки и верхний горизонт почвы, обогащённые растительными остатками. В почвах степных биогеоценозов доминантами, кроме представителей рода *Streptomyces*, являются представители родов

© О. Н. Синёва, Л. П. Терехова, 2015

Адрес для корреспонденции: 119021 Москва, Большая Пироговская, 11. ФГБНУ НИИНА

Micromonospora, *Actinomadura*, *Nocardia*, меньшую долю составляют представители родов *Saccharopolyspora*, *Saccharomonospora*, *Streptosporangium* [5].

Для выделения представителей редких родов из мест их естественного обитания широко применяются методы селективной изоляции. Эти методы основаны на различиях в питательных потребностях, физиологических свойствах, спектрах чувствительности к антибиотикам и другим ингибиторам роста у разных групп микроорганизмов.

Селективная изоляция с помощью антибиотиков

Антибиотики, добавленные в питательные среды для выделения актиномицетов, ингибируют рост сопутствующих грибов, немикелиальных бактерий и быстро растущих актиномицетов наиболее распространённого рода *Streptomyces* и тем самым создают благоприятные условия для роста и выделения медленно растущих редких культур. В качестве селективных агентов широко используют антибиотики: канамицин, рифампицин, рубомицин, стрептомицин, брунеомицин, новобиоцин, нистатин и др. Установлено, что различные антибиотики, используемые в качестве селективных агентов, обеспечивают преимущественное выделение определённых родов или групп родов актиномицетов. Например, рубомицин наиболее благоприятен для выделения культур рода *Actinomadura*, на среде со стрептомицином преобладают культуры нокардиального типа, новобиоцин способствует преимущественному выделению микромоноспор. Тобрамицин, антибиотик группы аминогликозидов, способствует выделению культур родов *Micromonospora*, *Amiclatopsis*, *Streptosporangium*, *Saccharotrix* [6].

Для выделения редких родов актиномицетов применяют также комбинации различных типов антибиотиков. Использование смеси канамицина, норфлоксацина и налидиксовой кислоты позволило выделить *Microtetraspora* spp. [7] смеси фрадомицина, канамицина, налидиксовой кислоты и триметоприма — *Acinetospora* spp. [8]; смеси канамицина, йозомицина, налидиксовой кислоты и лизоцима — *Actinomadura viridis* [9].

Предварительное изучение чувствительности штаммов различных родов актиномицетов к ингибитору роста (антибиотику) позволяет определить с большой долей вероятности, какие таксономические группы можно выделять с применением данного вещества и в каких концентрациях его необходимо использовать. Так, например, после сравнительного изучения чувствительности к ряду антибиотиков коллекционных и свежевыделенных культур разных видов, относящихся к роду *Actinomadura*, было установлено, что

для направленного выделения лучше всего подходит рубомицин в концентрации 5 мкг/мл [10].

Предварительная обработка природных образцов почвы химическими веществами

Методы предварительной обработки природных образцов почвы химическими веществами широко применяются во всём мире и являются эффективными для селективной изоляции актиномицетов.

Споры стрептомицетов и вегетативные клетки представителей родов *Bacillus* и *Pseudomonas* погибают при действии фенола (1,5%), глюконата хлоргексидина (0,01%) и хлорида бензетония (0,01%) в течение 30 мин при 30°C. В то же время споры культур родов *Micromonospora*, *Microbispora*, *Streptosporangium*, *Microtetraspora* устойчивы к данным веществам. В связи с этим для селективного выделения вышеперечисленных родов предложена предобработка почвенных суспензий фенолом, глюконатом хлоргексидина и хлоридом бензетония [11].

Предобработка почвы 1% раствором хлорамина Т с последующим высевом на HV-агар позволяет селективно выделять актиномицеты родов, принадлежащих семейству *Streptosporangiaceae* (*Microbispora*, *Microtetraspora*, *Streptosporangium*, *Herbidospira*) [12].

Хлорамин Б обладает микробоцидным действием в отношении широкого круга организмов, являясь сильным окислителем. Хлорноватистая кислота, выделяющаяся при реакции хлорамина Б с водой, оказывает дополнительный антимикробный эффект [13]. Для выделения олигоспоровых актиномицетов родов *Microbispora*, *Microtetraspora*, *Actinomadura*, *Saccharomonospora*, *Saccharopolyspora* была предложена предобработка почвенных образцов растворами хлорамина Б [14].

Tsao с соавторами был разработан метод выделения актиномицетов из почвы, который заключался в инкубации образцов почвы с карбонатом кальция [15]. Более поздние исследования показали, что ионы кальция играют значительную роль в дифференциации актиномицетов: они влияют на способность образовывать воздушный мицелий [16]. В научно-исследовательском институте по изысканию новых антибиотиков имени Г. Ф. Гаузе этот метод был модифицирован: глюкозо-соевая среда была заменена органическим агаром 2 Гаузе, так как он прозрачен и на нем развивались более крупные колонии, также был изменён метод посева — с глубинного на поверхностный [17]. Используемый метод обработки почвы карбонатом кальция во влажных условиях позволил увеличить количество выделенных актиномицетов разных родов, в том числе и редких:

Actinomadura, *Micromonospora*, *Amycolatopsis*, *Nocardiosis*, *Nocardoides*, *Promicromonospora*, *Streptosporangium*.

Дрожжевой экстракт и додецилсульфат натрия являются активаторами прорастания спор актиномицетов, а раствор фенола — ингибитором нежелательной микрофлоры. При обработке данными веществами почвенной суспензии существенно увеличивается количество культур рода *Streptosporangium* [18].

Таким образом, различные химические вещества оказывают как стимулирующее, так и ингибирующее действие на микрофлору почвы. Применение комбинаций химических веществ при обработке природных субстратов приводит к высокой селективности выделения определённых таксонов актиномицетов.

Методы, основанные на явлении хемотаксиса

Для культур родов *Actinoplanes*, *Dactylosporangium* и некоторых других характерно наличие подвижных зооспор, на этом основании были разработаны методы химических «приманок». В качестве аттрактантов были использованы аминокислоты, ароматические соединения и сахара. Результаты показали, что γ -коллин является универсальным аттрактантом для выделения актиномицетов, принадлежащих к родам *Actinoplanes* и *Dactylosporangium* [19].

Использование физических факторов для выделения актиномицетов

Для выделения актиномицетов применяют также предварительную обработку природных субстратов физическими факторами.

Среди актиномицетов существуют психрофилы — микроорганизмы устойчивые к низким температурам. Из слоя ледника Антарктиды с глубины 85 метров (имеющего возраст приблизительно 2200 лет) был выделен и описан новый вид *Nocardiosis antarcticus* [20], из антарктического песчаника выделен новый вид *Micromonospora endolithica* [21]. Обнаружены также психротолерантные актиномицеты, принадлежащие к родам *Micromonospora*, *Nocardia*, *Promicromonospora* [22]. Среди методов предварительной обработки при помощи низких температур используют метод замораживания — оттаивания, что позволяет выделять из образцов почвы в 1,2—3,6 раза больше актиномицетов, чем из контроля [23].

Кроме психрофилов существует и большая группа термофильных актиномицетов (*Thermomonospora viridis*, *Thermomonospora curvata*, *Thermomonospora fusca*, *Micromonospora chalybeata*, *Actinomadura* sp. и др.) [24—27]. После предвари-

тельной обработки сухим жаром при 100°C почвенных образцов из пещер северного Тайланда выделено 50 видов редких актиномицетов, принадлежащих к родам *Micromonospora*, *Saccharomonospora*, *Nonomuraea*, *Cetellatospora*, *Spirillospora*, *Microtetraspora* и *Saccharotrix* [28].

Известно, что различные группы актиномицетов обладают неодинаковой чувствительностью к ультрафиолетовому (УФ) облучению. О. А. Галатенко и Л. П. Тереховой был разработан метод предварительной обработки почвенной суспензии УФ-облучением. В результате наблюдалось снижение количества выделенных культур, относящихся к роду *Streptomyces*, в то же время культуры редких родов оказались более устойчивыми к УФ-облучению. Наибольшей устойчивостью обладали культуры рода *Micromonospora* [29].

Стимулирующий эффект на прорастание спор микроорганизмов оказывает действие магнитных полей различной мощности [30]. При длительном выдерживании почвенных образцов в магнитном поле (две недели при 28°C), количество выросших актиномицетов увеличилось по сравнению с контролем, с ростом напряжённости магнитного поля ускорялся и рост актиномицетов [31].

Метод концентрирования образцов воды фильтрацией через мембранные фильтры основан на различии размеров спор актиномицетов, грибов и немицелиальных бактерий [32]. Таким же способом были выделены культуры рода *Thermoactinomyces* [33]. Существуют методы, основанные на способности гиф актиномицетов прорасти через поры малого диаметра [34, 35]. Использование фильтров с порами малого диаметра 0,2 мкм позволило полностью исключить рост сопутствующих грибов без применения противогрибковых агентов. С помощью данного метода были выделены актиномицеты таких редких родов, как *Dactylosporangium*, *Catellatospora*, *Catenulispora*, *Lentzea*, *Streptacidiphilus* [36].

С целью десорбции, экстракции спор и мицелия актиномицетов с поверхности частиц природных субстратов применяют обработку образцов ультразвуком [37].

Обработка почвенных образцов волнами КВЧ оказалась эффективной для выделения редких родов актиномицетов. Было показано, что при обработке почвенных суспензий КВЧ-излучением в диапазоне от 3,8 до 5,8 мм, доля одноклеточных бактерий снижалась в два раза, при этом доля выделенных актиномицетов редких родов возрастала в 2 раза. Обработка КВЧ-излучением в данном диапазоне волн оказалась наиболее благоприятной для выделения актиномицетов группы родов *Actinomadura*, *Saccharothrix*, *Nonomuraea*, *Amycolatopsis*, *Pseudonocardia*. Существенно возросла доля выделенных актиномицетов родов *Actinomadura*, *Microtetraspora* и *Nonomuraea* при

обработке почвенных суспензий КВЧ-излучением в диапазоне волн от 8 до 11,5 мм [38]. При обработке КВЧ почвенных образцов Воронежской области была выделена новая культура *Actinomadura* sp. ИНА 654, которая продуцирует эхиномицин, обладающий противоопухолевым действием. Образование эхиномицина представителем рода *Actinomadura* было обнаружено впервые [39].

Разработаны методы выделения культур редких родов актиномицетов из почвы с применением обработки почвенных образцов СВЧ-волнами и электрическими импульсами. Установлено, что обработка СВЧ-волнами при мощности 80 Вт, времени 30 с приводит к значительному увеличению количества выделенных культур редких родов актиномицетов. К такому же эффекту приводит обработка почвенных образцов электрическими импульсами при напряженности 12 кВ/см в течение 3 мс. Доля актиномицетов в обоих случаях увеличивается в среднем в три раза по сравнению с необработанными образцами [38].

Комплексные методы выделения актиномицетов

Для выделения редких родов актиномицетов в ряде случаев применяют комплексные методы, т. е. предварительную обработку почвенных образцов химическими веществами или физическое воздействие сочетают с последующим высевом образцов на селективные среды.

Олигоспоровые актиномицеты родов *Actinomadura*, *Saccharopolyspora*, *Saccharomonospora*, *Microbispora*, *Thermomonospora* являются минорными, но постоянными представителями почвенных актиномицетных комплексов. Для выделения представителей этой группы актиномицетов в качестве предпосевной обработки почвенных образцов применяли прогревание при 120°C для чернозёма и 105°C для торфа в течение 1 часа. Приготовление почвенных суспензий проводили в растворе хлорамина Б. Инкубация посевов проходила при 28°C в течение 3—4 недель. В качестве селективного приёма для выделения из почвы представителей рода *Microbispora* в питательную среду добавляли левомицетин в концентрации 2,5 мг/мл, что приводило к увеличению численности микробиспор на 3—4 порядка [40].

Обработка почвенного образца сухим жаром при температуре 110°C в течение 15 мин и посев на среду с антибиотиками привели к селективной изоляции актиномицетов рода *Actinobispora* [41].

Для выделения актиномицетов рода *Planomonospora* использовали обработку почвы раствором снятого молока в N-циклогексил-2-амино-этансульфоновой кислоте (рН 9,0) и двукратное центрифугирование [42].

Культуры рода *Actinopolymorpha* были выделены также с использованием комплексного метода: почву помещали в богатую среду с двумя антибиотиками (пенициллином и стрептомицином), затем инкубировали, центрифугировали и промывали [43].

Для выделения зооспор актиномицетов родов *Actinoplanes* и *Dactylosporangium* применяли выдерживание почвенного экстракта в течение 90 мин при температуре 30°C в фосфатном буфере. Последующее центрифугирование при 1500 об/мин в течение 20 мин позволило устранить актиномицеты рода *Streptomyces* и представителей других «неподвижных» родов актиномицетов. Добавление в питательную среду (НВ-агар) налидиксовой кислоты и триметоприма ингибировало рост грамотрицательных бактерии и бактерии рода *Bacillus*. Кроме актиномицетов родов *Actinoplanes* и *Dactylosporangium*, с помощью данного метода были выделены культуры таких родов, как *Actinokineospora*, *Catenuloplanes* и *Kineospora* [44].

Предобработка почвенных суспензий ультразвуком в сочетании с обработкой фенолом (1,5%) и/или сухим жаром (100°C) в течение 1 ч и высевом на питательные среды, содержащие антибиотики (циклогексимид, нистатин, налидиксовая кислота), способствует селективному выделению представителей рода *Micromonospora* [45].

Выделение актиномицетов с использованием биологических факторов

Важной группой методов как для выявления актиномицетов в почве, так и для селективного выделения являются методы с использованием фагов.

Для выделения культур редких родов актиномицетов применяют стрептофаги, лизирующие колонии культур рода *Streptomyces*. Уменьшение количества стрептомицетов приводило к увеличению количества актиномицетов редких родов. Интенсивный лизис стрептомицетальных колоний не изменялся в течение длительного инкубационного периода, который необходим для роста других родов актиномицетов [46]. Кроме фагов, активных в отношении колоний актиномицетов, существуют фаги, лизирующие колонии немицелиальных бактерий, что также позволяет увеличить количество выделяемых актиномицетов [46, 47].

Сукцессионный подход к выделению актиномицетов из почвы

Под сукцессией понимают последовательную смену биогеоценозов, преемственно возникающих в одном и том же биотопе под влиянием как

внешних воздействий, так и накопления внутренних противоречий развития самих биогеоценозов [48]. В почве происходит последовательная смена микробных сообществ, которая имеет сезонный характер. Когда число факторов, определяющих структуру системы, невелико, т. е. система «молодая», в ней преобладает ограниченное количество так называемых R-стратегов, организмов с высокой скоростью размножения. Со временем в действие вступает всё больше экологических факторов, поскольку сама среда в результате развития организмов становится более разнородной. На поздних этапах в «зрелой» системе возрастает разнообразие организмов, выравнивается численность разных популяций за счёт того, что R-стратегов становится меньше, а количество K-стратегов, медленно растущих организмов с повышенной конкурентоспособностью, увеличивается. Эти две стратегии сопоставляются с обилием субстрата [49].

В настоящее время установлено, что на определённых этапах сукцессии редкие роды актиномицетов могут иметь равную со стрептомицетами долю в актиномицетном комплексе, а иногда и доминировать в нём. Сукцессионные изменения в комплексе актиномицетов существенно зависят от влажности почв, т. е. в одной и той же почве микробная сукцессия может развиваться по-разному. Более высокие значения плотности популяции для стрептомицетов зарегистрированы при небольшом увлажнении почвы, тогда как для микромоноспор и сахаромоноспор, в большинстве случаев, относительные максимумы зарегистрированы при полевой влагоёмкости почвы -1 и -5 Мпа. Периоды максимального обилия для представителей постоянно выделяющихся из почвы четырех родов актиномицетов — *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Micromonospora*, *Saccharomonospora* отмечены на разных этапах сукцессии, что позволяет установить наиболее благоприятные периоды и условия для выделения представителей конкретных таксонов [50].

При исследовании динамики олигоспоровых актиномицетов в ходе сукцессии, инициированной увлажнением чернозёма, были выявлены наиболее благоприятные для их выделения временные промежутки и условия сукцессии. Установлено, что представителей родов, предварительно идентифицированных как *Microbispora* и *Saccharopolyspora*, лучше выделять на ранних (7 сут. после инициации сукцессии) и поздних (42 сут.) этапах сукцессии [51].

Следовательно, использование сукцессионного подхода в сочетании с методами посева позволяет обнаружить представителей редких родов актиномицетов и определить временные проме-

жутки, обеспечивающие максимальную плотность их популяций в почве.

Методы выделения с использованием веществ животного и растительного происхождения

Отдельного внимания заслуживают методы выделения с помощью веществ животного и растительного происхождения. В исследовании С. Н. Филипповой с соавторами было показано, что гормональные соединения из группы катехоламинов — дофамин и адреналин стимулируют прорастание спор и стабилизируют популяционный состав штаммов-продуцента эритромицина *Saccharopolyspora erythraea* [52]. Исходя из этих данных, можно было предположить, что адреналин будет оказывать стимулирующее действие на прорастание спор других родов актиномицетов.

В более поздних исследованиях было показано, что добавление в питательную среду веществ из группы катехоламинов (адреналин) и ауксинов (гетероауксин) для активации прорастания спор, существенно увеличивает долю выросших актиномицетов, в том числе возрастает численность и разнообразие выделенных культур редких родов актиномицетов [53].

Как известно, сок и листья алоэ широко используют в народной и традиционной медицине. Сок алоэ содержит эфирные масла, около 20 аминокислот, витамины В, С, Е, бета-каротин, клетчатку и другие питательные ферменты и микроэлементы, кроме того, он обладает бактерицидным и регенерирующим действием. В наших исследованиях было показано, что предварительная обработка в течение 10 мин и 1 ч почвенных суспензий соком алоэ в концентрациях 10 и 50% приводила к увеличению количества выросших актиномицетов в опытных вариантах по сравнению с контролем, в том числе возрастала и доля выросших колоний редких родов актиномицетов [54].

Подводя итог обзору литературы, следует подчеркнуть, что, несмотря на большое количество существующих работ по селективному выделению актиномицетов из почвы, разработка новых методов является актуальной. Исследования, основанные на секвенировании ДНК, экстрагированной из почвенных образцов, показали, что в почве содержится огромное количество бактериальных геномов, которые отличаются и во много раз превышают разнообразие тех организмов, которые выделяются в чистую культуру, т.е. в лабораторных условиях выделена лишь незначительная часть микроорганизмов, существующих в природе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ventura M., Canchaya C., Tauch A., Chandra G., Fitzgerald G. F., Chater K. F. Douve van sinderen genomics of actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiol Molec Biol Reviews* 2007; 71: 3: 495–548.
2. Berdy J. Bioactive microbial metabolites. *J Antibiot* 2005; 58: 1: 1–26.
3. Терехова Л.П., Галатенко О.А., Преображенская Т.П. [2] Антибактериальные антибиотики из культур редких родов актиномицетов. Поиск продуцентов антибиотиков среди актиномицетов редких родов. *Алма-Ата: Гылым*, 1990; 70–75. / Terехova L.P., Galatenko O.A., Preobrazhenskaja T.P. [2] Antibakterial'nye antibiotiki iz kul'tur redkih rodov aktinomycetov. Poisk producentov antibiotikov sredi aktinomycetov redkih rodov. *Alma-Ata: Gylym*, 1990; 70–75. [in Russian]
4. Tiwari K., Gupta R.K. Rare actinomycetes: a potential storehouse for novel antibiotics. *Crit Rev Biotechnol* 2012; 32: 108–132.
5. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.Л., Зенова Г.М. Биология почв. М.: МГУ. 2005; 362. / Zvjaginseva D.G., Bab'eva I.L., Zenova G.M. *Biologija pochv*. M.: MGU 2005; 362. [in Russian]
6. Терехова Л.П., Галатенко О.А., Алферова И.В., Преображенская Т.П. Использование селективных сред для выделения актиномицетов. Поиск продуцентов антибиотиков среди актиномицетов редких родов. *Алма-Ата: Гылым*, 1990; 5–13. / Terехova L.P., Galatenko O.A., Alferova I.V., Preobrazhenskaja T.P. Использование селективных сред для выделения актиномицетов. Поиск продуцентов антибиотиков среди актиномицетов редких родов. *Алма-Ата: Гылым*, 1990; 5–13. [in Russian]
7. Hayakawa M., Momose Y., Yamazaki T. A method for the selective isolation of *Microtetraspora glauca* and related four-spored actinomycetes from soil. *J Appl Bacteriol* 1996; 80: 4: 375–386.
8. Otaguro M., Hayakawa M., Yamazaki T., Jimura Y. An integrated method for the enrichment and selective isolation of *Actinocineospora* spp. In soil and plant litter. *J. Appl. Microbiol.* 2001; 91: 1: 118–130.
9. Hayakawa M., Momose Y., Kajiura T., Yamazaki T., Tamura T., Hatano K., Nonomura H. A selective isolation method for *Actinomadura viridis* in soil. *J Ferment Bioeng* 1995; 79: 287–289.
10. Терехова Л.П., Галатенко О.А., Преображенская Т.П. Образование антибиотиков культурами рода *Actinomadura*. Поиск продуцентов антибиотиков среди актиномицетов редких родов. *Алма-Ата: Гылым*, 1990; 76–82. / Terехova L.P., Galatenko O.A., Preobrazhenskaja T.P. Obrazovanie antibiotikov kul'turami roda *Actinomadura*. Poisk producentov antibiotikov sredi aktinomycetov redkih rodov. *Alma-Ata: Gylym*, 1990; 76–82. [in Russian]
11. Hayakawa M. Selective isolation of rare actinomycete genera using pretreatment techniques. Selective isolation of rare *Actinomycetes* / Eds. Kurtböke I. Australia: Queensland Complete Printing Services, 2003; 56–82.
12. Hayakawa M., Iino H., Takeuchi S., Yamazaki T. Application of method incorporating treatment with chloramine-T for the selective isolation of *Streptosporangiaceae* from soil. *J Ferment Bioeng* 1997; 84: 559–602.
13. Красильников А.П. Справочник по антисептике. Минск: Высшая школа, 1995; 368. / Krasil'nikov A.P. *Spravochnik po antiseptike*. Minsk: Vysshaja shkola, 1995; 368. [in Russian]
14. Михайлова Н.В. Выявление олигоспоровых актиномицетов с применением предобработки хлорамином Б. Проблемы экологии и физиологии микроорганизмов: К 110-летию со дня рож. проф. Е.Е. Успенского. Научн. конф., 21 дек., 1999. Москва, МГУ. М.: 2000; 79. / Mihajlova N.V. Vyjavlenie oligosporovyh aktinomycetov s primeneniem predobrabotki hloraminom B. Problemy ekologii i fiziologii mikroorganizmov: K 110-letiju so dnja rozhd. prof. E.E. Uspenskogo. Nauchn. konf., 21 dek., 1999. Moskva, MGU. M.: 2000; 79. [in Russian]
15. Tsao P.H., Leben C., Keit G.W. An enrichment method for isolation actinomycetes that produce diffusible antifungal antibiotics. *Phytopathology* 1960; 50: 81–91.
16. Natsume M., Yasui K., Marumo S. Calcium ion as a regulator of aerial mycelium formation in actinomycetes. Abstracts 7th International Symposium on Biology of Actinomycetes. Tokyo. 1988; 107.
17. Алферова И.В., Терехова Л.П. Применение метода обогащения почвы карбонатом кальция с целью выделения актиномицетов. Антибиотики и химиотер 1988; 33: 12: 888–889. / Alferova I.V., Terехova L.P. Primenenie metoda obogashhenija pochvy karbonatom kal'cija s cel'ju vydelenija aktinomycetov. Antibiotiki i himioter 1988; 33: 12: 888–889. [in Russian]
18. Agrawal P., Goodfellow M. Selective isolation and characterization of members of the family *Streptosporangiaceae*. *Actinomycetes*. 1990; 1: 2: 48.
19. Hayakawa M., Tamura T., Nonomura H. Selective isolation of *Actinoplanes* and *Dactylosporangium* from soil by using γ -collidine as the chemoattractant. *J Ferment Bioeng* 1991; 72: 6: 426–432.
20. Абызов С.С., Филиппова С.Н., Кузнецов В.Д. *Nocardopsis antarcticus* — новый вид актиномицета, выделенный из толщи ледника Центральной Антарктики. Изв АН СССР. Сер Биол 1983; 4: 559–569. / Abyzov S.S., Filippova S.N., Kuznecov V.D. *Nocardopsis antarcticus* — novyj vid aktinomyceta, vydelennyy iz tolshhi lednika Central'noj Antarktiki. Izv AN SSSR. Ser Biol 1983; 4: 559–569. [in Russian]
21. Hirsch C.F., Christensen D.L. A novel method for selective isolation of actinomycetes. Annual Meeting ASM: Abstr 1982; 112–113.
22. Xu L., Li Q., Jiang C. Diversity of soil actinomycetes in Yunnan, China. *Appl Env Microbiol* 1996; 62: 244–248.
23. Anghelescu L., Dobrota S., Popescu A. Comparative considerations on methods and media used for the isolation of actinomycetes from the soil. *Symp Soil Biol*, 6-th: Abstr. Bucuresti. 1977; 59–66.
24. Takahashi K., Totsuka A., Nakakuki T., Nakamura N. Production and application of a maltogenic amylase by a strain of *Thermomonospora viridis* TF-35. *Starch Staerke* 1992; 44: 96–101.
25. Ethier J.F. Cloning of two xylanase genes from the new isolated actinomycetes *Actinomadura* sp. strain FC 1 and characterization of the gene product. *Canad J Microbiol* 1994; 40: 5: 362–368.
26. Stutzenberger F. Extracellular enzyme production by *Thermomonospora curvata* grown on bagasses. *J Industrial Microbiol* 1994; 13: 1: 35–42.
27. Gallagher J., Winters A., Barron N., Mchale L., Mchale A.P. Production of cellulase and β -glucosidase activity during growth of actinomycete *Micromonospora chalybeata* on cellulose-containing media. *Biotechnol Lett* 1996; 18: 5: 537–540.
28. Lumyong S., Nakaew N., Pathom-agree W., Lumyong P. Phylogenetic analysis of rare actinomycetes from cave soils in northern Thailand and their antimicrobial activity against *Paenibacillus larvae* and MRSA. *Int Symp Biol Actinomycetes*. 14-th: Abstr. 2007; 126.
29. Галатенко О.А., Терехова Л.П., Преображенская Т.П. Применение метода облучения почвенных образцов ультрафиолетом для выделения актиномицетов редких родов. Поиск продуцентов антибиотиков среди актиномицетов редких родов. *Алма-Ата: Гылым*, 1990; 29–35. / Galatenko O.A., Terехova L.P., Preobrazhenskaja T.P., Primenenie metoda obluchenija pochvennyh obrazcov ul'trafioletom dlja vydelenija aktinomycetov redkih rodov. Poisk producentov antibiotikov sredi aktinomycetov redkih rodov. *Alma-Ata: Gylym*, 1990; 29–35. [in Russian]
30. Давидков Д.С., Данилов В.И., Пейкова С.П. Культивирование дрожжей в магнитном экране. Труды Объед. ин-та ядер исслед. Дубна. 1983; 19: 8. / Davidkov D.S., Danilov V.I., Pejкова S.P. Kul'tivirovanie drozhzhev v magnitnom jekrane. Trudy Ob'ed. in-ta jader issled. Dubna. 1983; 19: 8. [in Russian]
31. Павлович С.А. Способ выращивания актиномицетов А.с. СССР. 200122. Б.и. 1979; 36: 43. / Pavlovich S.A. Sposob vyrashhivaniya aktinomycetov A.s. SSSR. 200122. B.i. 1979; 36: 43. [in Russian]
32. Polsinelli, Mazze P.G. Use of membrane filters for the selective isolation of actinomycetes from soil. *FEMS Microbiol Lett* 1984; 22: 79–83.
33. Al-Diwany L.J., Unsworth B.A., Cross T.J. A comparison of membrane filters for counting *Thermoactinomyces endosporus* in spore suspension and river water. *J Appl Bacteriol* 1978; 45: 249–258.
34. Hirsh P., Mevs U., Kroppenstedt R.M., Schumann P., Stackebrandt E. Cryptoeolithophilic actinomycetes from antarctic sandstone rock samples: *Micromonospora endolithica* sp. nov. and two isolates related to *Micromonospora coerulea* Jensen 1932. *Syst Appl Microbiol* 2004; 27: 166–174.
35. Hanka L.J., Schaadt R.D. Method for isolation of *Streptovorticillium* from soil. *J Antibiot* 1988; 44: 4: 576–578.
36. Gavrilish E., Bollmann A., Epstein S., Lewis K. A trap for *in situ* cultivation of filamentous actinobacteria. *J Microbiol Methods* 2008; 72: 3: 257–262.
37. Miquely E., Martin C., Manuel C.H., Manzanal B. Synchronous germination of *Streptomyces antibioticus* spores: Tool for analysis of hyphal growth in liquid cultures. *FEMS Microbiol Lett* 1993; 109: 2–3: 123–130.
38. Terехova L. Isolation of actinomycetes with the use of microwaves and electric pulses. Selective isolation of rare actinomycetes. Ed. Ipek Kurtböke. Queensland. Australia. University of the Sunshine Coast. 2003; 82–101.
39. Галатенко О.А., Терехова Л.П., Ли Ю.В., Малкина Н.Д., Бойкова Ю.В., Зенкова В.А., Катруха Г.С. Образование эхиномицины культурой *Actinomadura* sp. ИНА 654. Антибиотики и химиотер 2006; 51: 3–7. / Galatenko O.A., Terехova L.P., Li Ju.V., Malkina N.D., Bojkova Ju.V., Zenkova V.A., Katruha G.S. Obrazovanie ehinomicina kul'turoj *Actinomadura* sp. INA 654. Antibiotiki i himioter 2006; 51: 3–7. [in Russian]
40. Зенова Г.М., Шульга-Михайлова Н.В., Лихачева А.А., Грядунова А.А. Селективные приёмы выделения из почвы актиномицетов олигоспоровой группы. Почвоведение. 2002; 4: 465–469. / Zenova G.M., Shul'ga-Mihajlova N.V., Lihacheva A.A., Grjadunova A.A. Selektivnye priemy vydelenija iz pochvy aktinomycetov oligosporovoj grupy. *Pochvovedenie*. 2002; 4: 465–469. [in Russian]
41. Suzuki S.I., Okuda T., Komatsubara S. Selective isolation and distribution of *Actinobispora* strains in soil. *Can J Microbiol* 2000; 46: 8: 708–715.

42. Suzuki S.I., Okuda T., Komatsubara S. Selective isolation and distribution of the genus *Planomonospora* in soil. *Can J Microbiol* 2001; 47: 3: 253—263.
43. Wang Y., Zhang Z.S., Ruan J.S., Wang Y.M., All S.M. Investigation of actinomycete diversity in the tropical rainforests of Singapore. *J Ind Microbiol Biotechnol* 1999; 23: 178—187.
44. Hayakawa M., Otaguro M., Takeuchi T., Yamazaki T., Iimura Y. Application of a method incorporating differential centrifugation for selective isolation of motile actinomycetes in soil and plant litter. *Anton Leeuwenhoek Int J Gen M.* 2000; 78: 2: 171—185.
45. Qiu, D., Ruan, J. & Huang, Y. Selective isolation and rapid identification of members of the genus *Micromonospora*. *Appl Environ Microbiol* 2008; 74: 17: 5593—5597.
46. Kurtböke D.I., Chen C.F., Williams S.T. Use of polyvalent phage for reduction of streptomycetes on soil dilution plates. *J Appl Bacteriol* 1992; 72: 2: 103—111.
47. McKenna F., El-Tarabily K.A., Petrie S., Chen C., Dell B. Application of actinomycetes to soil to ameliorate water repellence. *Lett Appl Microbiol* 2002; 35: 5: 107—112.
48. Одум Ю. Экология. М.: Мир. 1986; 1—2: 326, 327. / Odum Ju. *Jekologija*. M.: Mir. 1986; 1—2: 326, 327. [in Russian]
49. Заварзин Г.А., Колотилова Н.Н. Введение в природоведческую микробиологию. М.: Книжный дом Университет. 2001; 256. / Zavarzin G.A., Kolotilova N.N. *Vvedenie v prirovedcheskuyu mikrobiologiju*. M.: Knizhnyj dom Universitet. 2001; 256. [in Russian]
50. Звягинцев Д.Г., Зенова Г.М. Экология актиномицетов. М.: ГЕОС. 2001; 256. / Zvjagincev D.G., Zenova G.M. *Jekologija aktinomicetov*. M.: GEOS. 2001; 256. [in Russian]
51. Зенова Г.М. Михайлова Н.В., Звягинцев Д.Г. Динамика популяций олигоспоровых актиномицетов в чернозёме. *Микробиология*. 2000; 69: 1: 127—131. / Zenova G.M. Mihajlova N.V., Zvjagincev D.G. *Dinamika populjacij oligosporovyh aktinomicetov v chernozeme*. *Mikrobiologija*. 2000; 69: 1: 127—131. [in Russian]
52. Филиппова С.Н., Сургучева Н.А., Касаикина О.Т., Круговов Д.А., Гальченко В.Ф. Индукция роста и стабилизация популяционного состава *Saccharopolyspora erythraea* соединениями из группы катехоламинов. *Микробиология*. 2010; 79: 2: 213—218. / Filippova S.N., Surgucheva N.A., Kasaikina O.T., Krugovov D.A., Gal'chenko V.F. *Indukcija rosta i stabilizacija populjacionnogo sostava Saccharopolyspora erythraea soedinenijami iz grupy kateholaminov*. *Mikrobiologija*. 2010; 79: 2: 213—218. [in Russian]
53. Мачавариани Н.Г., Терехова Л.П. Новый метод выделения актиномицетов из почвы. Сборник научных докладов. Актуальные вопросы в современной науке. Варшава. 2013; 9—12. / Machavariani N.G., Terehova L.P. *Novyj metod vydelenija aktinomicetov iz pochvy*. *Sbornik nauchnyh dokladov. Aktual'nye voprosy v sovremennoj nauke*. Varshava. 2013; 9—12. [in Russian]
54. Синёва О.Н., Иванкова Т.А., Терехова Л.П. Использование сока алоэ для выделения актиномицетов. Материалы III Международной научно-практической конференции. Медицина: актуальные вопросы и тенденции развития. Краснодар. 2013; 105—107. / Sinjova O.N., Ivankova T.A., Terehova L.P. *Ispolzovanie soka aloje dlja vydelenija aktinomicetov*. *Materialy III Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii. Medicina: aktual'nye voprosy i tendencii razvitija*. Krasnodar. 2013; 105—107. [in Russian]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Синёва Ольга Николаевна - младший научный сотрудник, НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва

Терехова Лариса Петровна - д.б.н., профессор, руководитель Отдела микробиологии, НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва