

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

МІКРОБІОЛОГІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ
MICROBIOLOGY & BIOTECHNOLOGY

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

№ 3(65)
2025

Одеса
ОНУ
2025

Засновник
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Ідентифікатор у Реєстрі суб'єктів у сфері медіа: R30-01955
(Рішення Національної ради України з питань телебачення і радіомовлення № 1548 від 23.11.2023 р.)

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

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

Науковий редактор випуску В. О. Іваниця

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

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

Видання реферується та індексується у таких базах даних: «Україніка наукова»,
Наукова періодика України (Національна бібліотека України імені В. І. Вернадського),
Index Copernicus International Journals Master List, Ulrich's Periodicals Directory,
Електронний архів-репозитарій Одеського національного університету імені
І. І. Мечникова, Наукова періодика України (journal.uran.ua), Google Академія, BASE
Search, CiteFactor, Advanced Sciences Index, ResearchBib, Наукова електронна бібліотека
e-LIBRARY, InfoBase Index.

Редактори: Т. В. Іваниця, І. В. Райко

Адреса редакції:
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Змієнка Всеволода, 2, м. Одеса, 65082, Україна.
Тел.: +38 (048) 731-71-51, e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua
<http://mbt.onu.edu.ua>

© Одеський національний університет
імені І. І. Мечникова, 2025

Establisher

Odesa I. I. Mechnikov National University.

Identifier in the Registry of Media: R30-01955

(Resolution of the National Council of Television and Radio Broadcasting of Ukraine No 1548 dated 23.11.2023)

EDITOR-IN-CHIEF

V. O. Ivanytsia (Odesa, Ukraine)

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

T. O. Filipova (Odesa, Ukraine)

EXECUTIVE SECRETARY

T. V. Burlaka (Odesa, Ukraine)

EDITORIAL BOARD MEMBERS

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

Scientific Editor V. O. Ivanytsia

All articles accepted for publishing are subject to peer review

Approved for publishing by the Academic Council of

Odesa I. I. Mechnikov National University

As per Order of the Ministry of Education and Science of Ukraine No 1301 dated 15.10.2019 the journal is included in the List of Specialist Scientific Publications of Ukraine (Category "B").

The journal is abstracted and indexed in the following databases: "Ukrainica Scientific", Scientific Periodicals of Ukraine (V. I. Vernadskyi National Library of Ukraine), Index Copernicus International Journals Master List, Ulrich's Periodicals Directory, Scientific Periodicals of Ukraine (journal.uran.ua), Odesa I. I. Mechnikov National University's Electronic Archive-Repository, Google Scholar, BASE Search, CiteFactor, Advanced Sciences Index, ResearchBib, e-LIBRARY, InfoBase Index.

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

A d d r e s s:

Odesa I. I. Mechnikov National University,

2 Zmianka Vsevoloda St, Odesa, 65082, Ukraine.

Tel.: +38 (048) 731-71-51, e-mail: journal.mbt@onu.edu.ua

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

© Odesa I. I. Mechnikov
National University, 2025

ЗМІСТ

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ПРАЦІ

К. С. Онищенко, О. Ю. Зінченко, Б. С. Жуков РЕТРОСПЕКТИВНЕ МАТЕМАТИЧНЕ МОДЕЛЮВАННЯ СВІТОВОГО МОНІТОРИНГУ ДИНАМІКИ ЛІНІЙ <i>BETACORONAVIRUS</i> <i>PANDEMICUM</i> ЯК ІНСТРУМЕНТ НАГЛЯДУ ЗА НОВІТНІМИ МЕДИЧНИМИ ЗАГРОЗАМИ	6
Б. С. Жуков, Є. В. Демедюк, Т. В. Гудзенко МОНІТОРИНГ ГЕНЕТИЧНОЇ РІЗНОМАНІТНІСТІ ПОПУЛЯЦІЇ <i>RHYTORHORA INFESTANS</i> – ЗБУДНИКА ФІТОФТОРОЗУ КАРТОПЛІ НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ	21
Г. В. Ямборко, І. В. Страшнова, С. І. Ракитська ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗБЕРІГАННЯ ШТАМІВ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ ГІДРОБІОНТІВ ЧОРНОГО МОРЯ, РІЗНИМИ МЕТОДАМИ	38

ОГЛЯДОВІ ПРАЦІ

М. Ю. Бідник, А. М. Остапчук БІАРИЛПТИДИ ЯК УЛЬТРАКОРОТКІ РИБОСОМАЛЬНІ ПЕПТИДИ АКТИНОБАКТЕРІЙ	54
В. Ю. Іваніца, І. В. Страшнова МОРСЬКІ МІКСОБАКТЕРІЇ – УНІКАЛЬНА ГРУПА З ВИСОКИМ БІОСИНТЕТИЧНИМ ПОТЕНЦІАЛОМ	78
ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ	112

CONTENTS

EXPERIMENTAL WORKS

K. S. Onyshchenko, O. Yu. Zinchenko, B. S. Zhukov
RETROSPECTIVE MATHEMATICAL MODELING OF GLOBAL
BETACORONAVIRUS PANDEMICUM LINEAGES DYNAMIC MONITORING
AS AN INSTRUMENT FOR THE SURVEILLANCE
OF EMERGING MEDICAL THREATS 6

B. S. Zhukov, E. V. Demediuk, T. V. Gudzenko
MONITORING OF GENETIC DIVERSITY OF *PHYTOPHTHORA INFESTANS*
POPULATIONS – THE CAUSATIVE AGENT OF POTATO LATE BLIGHT
ACROSS UKRAINIAN TERRITORY 21

G. V. Yamborko, I. V. Strashnova, S. I. Rakytska
EFFECTIVENESS OF STORAGE OF LACTIC ACID BACTERIA STRAINS
ISOLATED FROM HYDROBIONTS OF THE BLACK SEA
BY VARIOUS METHODS 38

OBSERVATION ARTICLES

M. Yu. Bidnyk, A. M. Ostapchuk
BIARYLITIDES AS ULTRA-SHORT RIBOSOMAL PEPTIDES
OF ACTINOBACTERIA 54

V. Y. Ivanitsa, I. V. Strashnova
MARINE MYXOBACTERIA – A UNIQUE GROUP WITH HIGH
BIOSYNTHETIC POTENTIAL 78

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS 112

УДК 578.834

К. С. Онищенко¹, О. Ю. Зінченко², Б. С. Жуков³

¹Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова,
вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Вінницька область, 21018,
e-mail: cat.medichka@gmail.com

²Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Змієнка Всеволода, 2, м. Одеса, Одеська область, 65082,
e-mail: ozinchenko@onu.edu.ua

³Одеський національний технологічний університет,
вул. Канатна, 112, м. Одеса, Одеська область, 65039,
e-mail: brs.alchemist@gmail.com

**РЕТРОСПЕКТИВНЕ МАТЕМАТИЧНЕ
МОДЕЛЮВАННЯ СВІТОВОГО МОНІТОРИНГУ
ДИНАМІКИ ЛІНІЙ *BETACORONAVIRUS*
PANDEMICUM ЯК ІНСТРУМЕНТ НАГЛЯДУ
ЗА НОВІТНІМИ МЕДИЧНИМИ ЗАГРОЗАМИ**

Мета. Оцінити параметри профілів ліній SARS-CoV-2 (*Betacoronavirus pandemicum*) та встановити залежності між обсягами секвенування, часовими характеристиками моніторингу та різноманіттям ліній. **Методи.** Проаналізовано дані 11,33 млн. сіквенсів та 2703 ліній *B. pandemicum* із 176 країн за номенклатурою Rango. Визначали індекси концентрованості (ННІ), різноманіття (Н, НММ), рівномірності (J), тривалість спостереження (D) та інтенсивність секвенування (I). Застосовані методи кореляційного і регресійного аналізу із використанням відповідних бібліотек *python*. **Результати.** Виявлено сильні зв'язки між тривалістю та інтенсивністю моніторингу й числом ідентифікованих ліній. Визначені порогові значення для досягнення охоплення 90%, 95% і 99% різноманіття становили відповідно ~239, 321 і 411 сіквенсів. Після ~400–500 сіквенсів спостерігалось зниження ефективності, що відображало мінімальний приріст нових ліній. Маржинальна віддача секвенування знижувалася до <1 нової лінії на 1000 додаткових сіквенсів. **Висновки.** Часові параметри та інтенсивність секвенування визначають ефективність генетичного нагляду, тоді як рівномірність профілю залежить переважно від дизайну відбору зразків. Запропонована модель дозволяє встановлювати пороги секвенування та оптимізувати моніторинг.

Ключові слова: COVID-19, *Betacoronavirus pandemicum*, лінії, дизайн-модель, секвенування, різноманіття, моніторинг.

Поява *Betacoronavirus pandemicum* та подальша пандемія COVID-19 (COrona Virus Disease 2019) виявили масштабну вразливість глобальних систем охорони здоров'я та економіки до новітніх вірусних загроз. Окрім значного епідемічного тиску, пандемія продемонструвала виняткову здатність вірусу

© К. С. Онищенко, О. Ю. Зінченко, Б. С. Жуков, 2025



швидко формувати генетичне різноманіття й специфічні лінії, що відрізнялися біологічними властивостями, епідемічною динамікою, вірулентністю та чутливістю до імунної відповіді [7, 8]. Значна генетична мінливість, що є характерною для *Coronaviridae*, дозволяє представникам цієї родини випадково набувати нових конфігурацій поверхневих білків, надаючи їм здатність ефективно зв'язуватися з клітинними рецепторами інших біологічних видів. Свого часу спалахи *SARS* та *MERS* [1, 14] наочно продемонстрували наслідки долання міжвидового бар'єру цією родиною вірусів, однак *B. pandemicum* переважив за впливом усі попередні варіанти. Така варіабельність зумовила нагальну потребу у створенні оперативних, стандартизованих і високочутливих інструментів молекулярно-генетичного нагляду, здатних забезпечувати раннє виявлення ключових варіантів та підтримувати прийняття управлінських рішень у сфері громадського здоров'я на глобальному рівні [6].

Важливим результатом глобальної мобілізації стало формування системи номенклатури Rango – єдиної та динамічної структури класифікації ліній *B. pandemicum*, яка інтегрує дані тисяч лабораторій у різних країнах та забезпечує уніфіковане відстеження еволюційних процесів вірусу в реальному часі. Використання Rango стало основою сучасного генетичного епіднагляду, яка підтримує ідентифікацію варіантів, оцінку ефективності протиепідемічних заходів, таргетований відбір зразків, коригування вакцинних стратегій і проведення філогенетичного аналізу на міжнародному рівні [10, 11].

Для систем охорони здоров'я існування цієї платформи забезпечує можливість розробки практичних рішень, що включають раннє попередження про потенційно особливо небезпечні VOC (Variant of Concern; варіанти, що викликають занепокоєння) та VOI (Variant of Interest; варіанти, що викликають інтерес) варіанти, коригування алгоритмів тестування й секвенування, оцінювання ефективності вакцин і терапевтичних стратегій, підтримку таргетованих протиепідемічних заходів і планування ресурсів. Крім того, Rango створює прозорий канал комунікації між дослідниками та органами громадського здоров'я, тим самим підвищуючи швидкість та обґрунтованість протиепідемічних і профілактичних заходів на національному й міжнародному рівнях [2, 9, 11].

Попри значну кількість накопичених сіквенсів та широке використання інструментів генетичного моніторингу, сьогодні залишається недостатньо вивченим питання кількісної оцінки ефективності таких програм у просторі та часі. Поза увагою часто лишається визначення оптимального обсягу секвенувань, вплив часової структури на якість виявлення ліній, роль різних метрик різноманіття у формуванні репрезентативного профілю та пороги, після яких збільшення секвенувань перестає істотно підвищувати інформативність. Не менш важливою є проблема дизайн-ефекту, коли неоднорідність відбору зразків та кластеризація потоків суттєво змінюють ефективний розмір вибірки та точність оцінки переважання варіантів.

Ретроспективний аналіз світового моніторингу ліній *B. pandemicum* дає можливість сформувавши математично обґрунтовану модель, яка описує ключові характеристики найбільших національних програм секвенування. Такий підхід дозволяє встановити порогові значення валового обсягу сіквенсів та



інтенсивності моніторингу, визначити динаміку кривої накопичення ліній та оцінити параметри, необхідні для надійного виявлення рідкісних варіантів. На основі отриманих метрик можливе формування узгодженого критерію якості, що здатний слугувати основою для проектування майбутніх систем нагляду та оптимізації розподілу ресурсів, підвищуючи ймовірність раннього виявлення VOC та VOI.

Мета цієї роботи – здійснити ретроспективне математичне моделювання глобальної стратегії геномного моніторингу ліній *V. pandemicum* із використанням даних номенклатури Pango та визначити кількісні параметри ефективності, порогові значення секвенування, вплив часових компонент і дизайн-ефекту на якість профілю ліній. Особливу увагу приділено аналізу метрик концентрованості, різноманіття й рівномірності; сублінійній динаміці накопичення ліній; оцінці інтенсивності секвенування, необхідної для ідентифікації варіантів низької частоти; а також формуванню рекомендацій стосовно оптимізації національних і глобальних програм генетичного епіднагляду.

Представлена модель має потенціал для практичного застосування у сценарному плануванні майбутніх пандемічних загроз, особливо з боку вірусів родини *Coronaviridae*, та може бути адаптована до інших вірусних патогенів із високою швидкістю еволюції.

Матеріали і методи

Джерела даних. Для моделювання використано відкриту базу даних *pango-designation* (GitHub, <https://github.com/cov-lineages/pango-designation>), яка містить повний реєстр визначених ліній *V. pandemicum* та відповідні метадані ідентифікації. У дослідження включено дані за період від 24.12.2019 до 09.10.2024, актуальний стан яких фіксовано на 10.08.2025.

До аналізу увійшли 11 330 064 сіквенсів з 176 країн-учасниць моніторингу, 2703 епідеміологічні лінії *V. pandemicum*.

Відбір даних був тотальним, без виключення країн, незалежно від масштабів національних програм секвенування або їхньої регулярності.

Підготовка даних та формування профілів країн. Для кожної країни формували індивідуальний профіль ліній, який включав: 1) загальну кількість наданих сіквенсів; 2) кількість ідентифікованих ліній; 3) розподіл часток кожної лінії в межах національного набору; 4) часові межі першого та останнього зразка для кожної лінії; 5) часовий обсяг спостереження у межах країни.

Оскільки країни істотно відрізнялися за обсягом секвенувань, профілі були нормовані для забезпечення міжкраїнової порівнюваності.

Метрики профілю ліній. Для оцінки структури різноманіття застосовували три взаємодоповнювальні метрики:

1. Індекс Герфіндаля-Гіршмана (ННІ)

Відображає концентрованість профілю та переважання окремих ліній:

$$ННІ = \sum_{i=1}^k p_i^2,$$

де p_i – частка i -тої лінії.



2. Ентропія Шеннона (H) та коригована ентропія Міллера-Медоу (НММ)

Використовували для оцінки генетичного різноманіття. Для компенсації систематичного зсуву ентропії за умов нерівнозначних обсягів секвенувань і ідентифікованих ліній між країнами ентропію коригували поправкою Міллера-Медоу.

$$НММ = H + \frac{k - 1}{2N},$$

де (k) – кількість ліній, (N) – кількість сіквенсів.

3. Рівномірність Пілоу (J)

Характеризує рівномірність розподілу часток ліній:

$$J = \frac{H}{\ln k}.$$

Підбір метрик здійснювали на основі аналізу джерел літератури [3, 4, 5, 12, 13].

Часові показники моніторингу. На основі часових міток сіквенсів визначали дві узагальнені часові характеристики:

1. Тривалість активного спостереження (D)

Різниця між датами першого та останнього отриманого зразка в країні.

2. Інтенсивність секвенування (I)

Середня кількість сіквенсів на добу у межах індивідуального календарного вікна:

$$I = \frac{N_{total}}{D}.$$

Ці метрики дозволяють оцінити безперервність та щільність генетичного моніторингу.

Моделі регресійної апроксимації. Для аналізу залежності кількості сіквенсів від параметрів профілю оцінювали 12 математичних моделей, серед яких представлено лінійну, логарифмічну, ступеневу, експоненційну, поліном 2-го та 3-го ступенів, обернену, кореневу, кубічну кореневу, квадратично лог-поліномну, Міхаеліса-Ментен та логіт-лог залежності. Моделі порівнювали за коефіцієнтом детермінації (R²), стандартною похибкою апроксимації та адекватністю опису кривої накопичення.

Оцінка порогів виявлення різноманіття. Для кожної країни визначали мінімальний обсяг секвенувань (n), необхідний для досягнення заданої частки спостережуваного різноманіття (90%, 95%, 99%) на основі моделі:

$$E[L_i(n)] = \sum_{l:k_{iL}>0} (1 - (1 - p_{iL})^n)$$

де $E[S_i(n)]$ – очікуване число унікальних ліній у вибірці з n сіквенсів;

$1 - (1 - p_{iL})^n$ – імовірність хоч раз ідентифікувати конкретну лінію L у n сіквенсах;

$p_{iL} = k_{iL}/N_i$ – вага лінії у потоці зразків, що представляє собою частку лінії в реально спостереженій сумі країн.



За таким розрахунком сума за всіма лініями, що мають відмінну від нуля частоту, дає очікуване покриття набору різноманіття. Для аналізу мінімальної кількості секвенувань, яке досягає частки від спостереженого різноманіття, використовували наступний підхід:

$$n_q = \min\{n \in N: E[S_i(n)] \geq qS_i\}, \quad q \in \{0,90; 0,95; 0,99\}$$

Запропонована модель не вимагає однакового обсягу вибірки ліній між різними країнами, оскільки здійснює індивідуальне оцінювання порогу ідентифікації відносно конкретного профілю і часток ліній у потоці. Окрім цього, модель спирається виключно на фактичні спостереження ідентифікації ліній, які ілюструють динаміку змін профілю ліній *B. pandemicum*, а отже умовно не залежать від конкретного показника швидкості еволюційного процесу.

Оцінка маржинальної віддачі секвенування.

Маржинальну віддачу визначали як:

$$MR = \frac{dS}{dn},$$

де (S) – очікувана кількість унікальних ліній.

Оцінку проводили чисельно для кожної країни, нормуючи результат на 1000 додаткових сіквенсів.

Дизайн-ефект та сценарний аналіз. Оскільки реальні національні програми секвенування часто містять кластеризований відбір (спалахи, лікарні, таргетовані групи), у моделювання включено сценарний аналіз впливу дизайн-ефекту.

Використовували мультиплікативні коефіцієнти: 1,2, 1,5, 2,0, 3,0, які моделюють збільшення дисперсії та зменшення ефективного розміру вибірки.

Програмне забезпечення та статистичні методи. Обробку даних здійснено з використанням Python 3.11, бібліотек pandas, NumPy, openruhl.

Для оцінки кореляцій застосовували ранговий коефіцієнт Спірмена, оскільки розподіли були нелінійними та неоднорідними.

Результати досліджень та їх обговорення

Описові статистики профілів країн. За результатами аналізу даних 176 країн сформовано глобальний медіанний профіль ліній *B. pandemicum*. Описові статистики параметрів різноманіття наведено у таблиці 1.

Медіанні значення характеристик профілю вказували на помірно різноманіття ліній ($HMM \approx 1,27$), помірну концентрованість ($HNI \approx 0,38$), нерівномірний розподіл часток ($J \approx 0,61$).

Розподіли HNI , HMM та J характеризувалися значним розкидом і асиметрією, що відображало різну глибину генетичного моніторингу між країнами. Згідно з отриманими результатами, у кластері країн із мінімальними обсягами секвенувань спостерігався високий HNI та низькі значення HMM , що свідчило про штучну монопереважальність, зумовлену малим розміром вибірки.

Правостороннє зміщення HNI демонструє вплив джерел з низькою кількістю секвенувань, які формували профілі з вузьким переліком іденти-



Таблиця 1

Описові статистики параметрів модельного світового профіля ліній *Betacoronavirus pandemicum* згідно з базою даних Pango

Table 1

Descriptive statistics of the parameters of the model global lineage profile of *Betacoronavirus pandemicum* according to the Pango database

Параметр	Індекс Герфіндаля-Гіршмана, <i>HHI</i>	Ентропія Шеннона, <i>H</i>	<i>H</i> Міллера-Медоу, <i>HMM</i>	Нормалізація Пілоу, <i>J</i>
Середнє	0,4538	1,4128	1,4262	0,5930
Медіана	0,3844	1,2597	1,2702	0,6116
Мінімум	0,0327	0,0000	0,0000	0,0679
Максимум	1,0000	4,3359	4,3361	0,9977
Розкид	0,9673	4,3359	4,3361	0,9298
Стандартне відхилення	0,3058	1,0632	1,0599	0,1887

фікованих ліній та зміщували глобальну оцінку. Кластер країн з найбільшим значенням *HHI* значною мірою перекривався з найнижчими значеннями *HMM*, що відображало прогнозовану сильну обернену асоціацію концентрованості та різноманіття. Діапазон *HMM* охопив спектр від майже монопереважальних до високо деконцентрованих профілей, що характеризувалося зміною ефективної кількості ліній від $\approx 3,6$ за медіанним до ≈ 76 за максимальним значенням. Найвищі значення даного показника формувалися переважно за рахунок масштабних та тривалих програм секвенування, здійснених окремими країнами, обсяг яких охоплював від мільйонів до сотень тисяч наданих сіквенсів. Кластер країн з високим *HMM* був очікувано асоційованим з низьким рівнем *HHI* $\approx 0,03-0,09$ та помірним значенням *J* $\approx 0,57-0,79$ з великою кількістю ідентифікованих ліній. Встановлене лівостороннє зміщення *J* також формувалося за рахунок нерівномірних профілей з малим обсягом вибірки. Максимальне значення даного показника спостерігалось у країнах з низьким обсягом вибірки та небагатьма лініями. Аналіз полярної вибірки продемонстрував конфігурації профілів з переважанням однієї або кількох ліній з охопленням ~ 500 сіквенсів на країну та виявленим спектром у 2–4 лінії. Комбінація високого рівня *HHI* з низьким *HMM* та *J* зазвичай відповідали монопереважальному профілю, що не завжди було зумовлено критично малим обсягом секвенувань. Практично це свідчило, що високі значення *HMM* на тлі низького *HHI* є надійним маркером системного розгорнутого геномного нагляду. Натомість високе значення *J*, особливо з обмеженим обсягом вибірки, відображає неповноту охоплення, а не реальну рівномірність. Такими чином, всі три показники доцільно використовувати у комбінації для коректної оцінки різноманіття.

Регресійні моделі залежності якості профілю від валової кількості секвенувань.

Для здійснення аналізу теоретичного впливу обсягу секвенувань на якість формування профілів країн здійснено регресійну апроксимацію, що



було спрямовано на пошук оптимальної моделі взаємозв'язку даного показника з характеристиками профілів з використанням 12 моделей.

Згідно з отриманими результатами, залежність між валовим обсягом секвенувань та числом ідентифікованих ліній описується кореневою моделлю з високою пояснювальною здатністю ($R^2 \approx 0,96$) (табл. 2). У цій зв'язці спостерігалася сублінійна крива накопичення, де приріст нових ліній був різким на малих обсягах секвенувань, коли перші 50–200 сіквенсів дають різке зростання виявлених ліній, і поступово сповільнювався через перехід до ідентифікації більш рідкісних варіантів *B. pandemicum*.

Таблиця 2

Оптимальні моделі зв'язку валового обсягу секвенувань з параметрами профілів 176 країн за моніторингом динаміки ліній *Betacoronavirus pandemicum*

Table 2

Optimal models linking total sequencing volume with profile parameters across 176 countries in the monitoring of *Betacoronavirus pandemicum* lineage dynamics

Параметр	Модель	R^2	Помилка	Рівняння
Кількість секвенувань ~ кількість ідентифікованих ліній	Коренева	0,9639	33,807205	$k = -7,49 + 0,74 \times \sqrt{n}$
Кількість секвенувань ~ НММ	Квадратичний лог-поліном	0,71013	0,567696	$H_{MM} = -0,01 + 0,15 \ln(n) + 0,01(\ln(n))^2$
Кількість секвенувань ~ ННІ	Квадратичний лог-поліном	0,518354	0,210271	$H_{NI} = 0,99 - 0,10 \ln(n) + 0,0025(\ln(n))^2$
Кількість секвенувань ~ J	Обернена	0,094319	0,179037	$J = 0,58 + \frac{1,38}{n}$

Зв'язок із різноманіттям ~ НММ найкраще описувався квадратичною лог-поліноміальною моделлю, що демонструвало зростання різноманіття зі збільшенням масштабу спостережень відповідно до \ln кількості секвенувань ($R^2 \approx 0,71$). У такому сценарії нарощування валової кількості секвенувань подовжує хвіст низькочастотних варіантів, розширюючи спектр ідентифікованих ліній та частково, сублінійно відносно кількості сіквенсів, вирівнюючи рівномірність.

Зв'язок із концентрованістю (ННІ) також найкраще описувався квадратичною лог-поліноміальною моделлю ($R^2 \approx 0,52$), однак з меншою пояснювальною силою. Взаємозв'язок вказує, що збільшення валового обсягу секвенувань розширює «довгий хвіст» рідкісних варіантів, ріст різноманіття є нелінійним і сповільнюється на великих вибірках.

Зі збільшенням кількості секвенувань переважання окремих ліній слабшає, а розподіл часток стає менш нерівномірним.



Жодна з моделей не продемонструвала прийнятної пояснювальної сили для рівномірності Пілоу (J) ($R^2 < 0,10$), що свідчить про те, що рівномірність профілю значною мірою залежить від дизайну вибірки, а не від валового обсягу секвенувань.

Отже, незважаючи на істотну роль валової кількості секвенувань у формуванні якісного профілю ліній для переважальності та рівномірності вищу значущість мають інші чинники, що можуть включати в себе географічні та часові неоднорідності епідемічного процесу, селективні або логістичні характеристики зразків. У інших випадках наявність сублінійної динаміки описує розширення спектру нових ліній, що виявляються, на малих обсягах секвенувати із подальшим сповільненням, оскільки рідкісні варіанти трапляються дедалі рідше.

Враховуючи багатофакторність впливів, що зумовлюють якість профілів, до моделі включено часову компоненту. Відповідно до специфіки даних, що фіксує база RangoLin, зокрема час отримання першого та останнього зразку в межах певної країни та певної лінії, в процесі моделювання враховували відсутність прямого зв'язку між цими даними та фактичними часовими межами циркуляції збудника і необхідність досягнення порогу аналітичної чутливості стратегії генетичного моніторингу. Згідно з цим, часовий параметр задіяно як проксі показник тривалості активного спостереження (D) та інтенсивності (I), що представляла собою кількість сіквенсів на добу в межах календарного вікна. Для аналізу було здійснено розрахунок рангової кореляції Спірмена з метою виявити монотонну залежність без припущення лінійності та нормального розподілу.

Результати показали узгоджену та статистично переконливу картину кореляції тривалості моніторингового вікна (D) з кількістю ідентифікованих ліній ($\rho = 0,885$; $p < 10^{-59}$), високий зв'язок D з різноманіттям ($\rho = 0,824$). Це підтверджує, що довгі періоди моніторингу відображають більш реалістичну еволюцію вірусу і «висвітлюють» рідкісні варіанти (табл. 3).

Таблиця 3

Результати кореляційного аналізу часових метрик моделі з параметрами профілів 176 країн за моніторингом динаміки ліній *Betacoronavirus pandemicum*

Table 3

Results of the correlation analysis between temporal model metrics and profile parameters across 176 countries in the monitoring of *Betacoronavirus pandemicum* lineage dynamics

Характеристики	$D \sim$		$I \sim$	
	ρ	p -значення	ρ	p -значення
\sim обсяг секвенувань	0,885	$< 1,0 \times 10^{-59}$	0,888	$< 1,0 \times 10^{-59}$
\sim НММ	0,824	$1,7 \times 10^{-44}$	0,768	$2,3 \times 10^{-35}$
\sim ННІ	-0,773	$5,6 \times 10^{-36}$	-0,715	$9,6 \times 10^{-29}$
\sim J	-0,112	0,16	-0,286	$3,0 \times 10^{-4}$



Для взаємодії D з концентрованістю HNI виявлено значущий негативний зв'язок ($\rho = -0,773$), що свідчить про зменшення переважання ліній, пов'язане з розширенням різноманіття та перерозподілом часток кожного окремого варіанту. Рангова кореляція між D та J не виявила статистично значущого зв'язку, відповідно загальний часовий масштаб сам по собі не є вирішальним чинником формування рівномірності між частками ідентифікованих ліній.

Згідно з цим, довжина вікна спостереження є значним чинником, однак при тлумаченні необхідно здійснювати контроль конфаундерів, які відповідають дійсному контексту, включно з врахуванням стратегії відбору, що може здійснюватися у вигляді рутинного скринінгу або як таргетоване спорадичне розслідування. Ці дві стратегії реалізують свій вплив на часову компоненту моделі за рахунок різного рівня безперервності отримання зразків в межах вікна моніторингу. Саме безперервність може зумовлювати охоплення коротких інтервалів циркуляції, а короткі вікна та фрагментарні періоди скринінгу схильні до демонстрації хибного переважання однієї або групи варіантів, що може сприяти неефективним епідеміологічним та медичним заходам.

За результатами оцінювання наявності монотонного зв'язку між інтенсивністю секвенувань (I) та характеристиками профілю виявлено статистично значущу кореляцію між збільшенням I , різноманіттям HMM ($\rho = 0,768$) та числом ліній ($\rho = 0,888$).

Така кореляція демонструє витягування довгого хвоста низькочастотних варіантів *SARS-CoV 2* у відповідності зі збільшенням інтенсивності секвенувань. Асоціація між I та концентрованістю HNI ($\rho = -0,715$) свідчить про послаблення переважання окремих ліній на тлі більшого охоплення моніторингу, отже, підвищення інтенсивності зменшує шанси хибної монопреважальності. Значущої кореляції між I та J виявлено не було.

Результати демонструють, що якість профілю майже однаково зумовлена обома часовими чинниками. Це підкреслює ключову роль обґрунтованого поєднання календарного покриття та щільності випробовувань для отримання репрезентативної картини генетичного різноманіття ліній збудника в межах програми моніторингу. Показник J продемонстрував лише слабкі кореляції з тривалістю спостереження ($\rho = -0,286$) та інтенсивністю секвенування ($\rho = -0,112$). Це свідчить про те, що рівномірність розподілу ліній практично не залежить від часових чи кількісних параметрів програми моніторингу та визначається передусім особливостями дизайну відбору зразків.

З огляду на практичну роль типування та моніторингу ліній у стратегії подолання пандемій та її економічну вагу, здійснено аналіз типового кумулятивного діапазону обсягу секвенувань, в межах якого стратегія моніторингу є найбільш ефективною. Охоплення різноманіття моделювали як співвідношення між очікуваною кількістю унікальних ліній у вибірці та імовірністю принаймні однієї ідентифікації заданої лінії з врахуванням її частки у реальному потоці зразків окремої країни. Оцінювали досягнення порогових значень 90, 95 та 99% від спостереженого різноманіття у кожній країні відносно її індивідуального профілю.

Як видно з таблиці 4, досягнення 90% різноманіття потребувало медіанно ~ 239 сіквенсів, тоді як збільшення охоплення лише на наступні 5% (до



95%) вже вимагало додаткових ~ 82 сіквенсів. Подальше розширення до 99% різноманіття потребувало ще ~ 90 сіквенсів, тобто зіставного додаткового обсягу, але давало лише +4% приросту. Таке співвідношення між збільшенням обсягу секвенувань та мінімальним приростом охоплення свідчить, що після $\sim 400\text{--}500$ сіквенсів система входить у зону насичення, де ефективність додаткового секвенування різко знижується.

Таблиця 4

Порогові обсяги секвенувань, необхідні для виявлення 90–99% різноманіття ліній *Betacoronavirus pandemicum*, в межах часового вікна моніторингу

Table 4

Threshold sequencing depths required to detect 90–99% of the diversity of *Betacoronavirus pandemicum* lineages within the monitoring time window

Покриття	Медіана валової кількості секвенувань	Середня валової кількості секвенувань	Медіана сіквенсів на добу	Середнє сіквенсів на добу
90% ліній	239	16161,337	0,275641	9,417386
95% ліній	321	34291,954	0,354254	19,893142
99% ліній	411	64699,840	0,445217	37,348114

Перехід від 95 до 99% охоплення досягався за рахунок інтенсивності секвенування в інтервалі 9,42–37,35 сіквенсів на добу в межах часового вікна моніторингу. Отже, подальше нарощування обсягів для виконання лише мети моніторингу може бути економічно недоцільним.

Це є ключовим результатом створеної моделі.

Окремо оцінювали ефективний обсяг секвенування та інтенсивності для 95% ймовірності ідентифікації принаймні однієї рідкісної лінії. Оцінку наведено в таблиці 5. Для ймовірності виявлення 0,95 мінімальні обсяги складають: при частці 1,0% – 299 сіквенсів, при частці 0,1% – 2995 сіквенсів, при частці 0,01% – 29956 сіквенсів.

Згідно з отриманими результатами, вимоги до необхідного обсягу секвенувань зростають обернено пропорційно та кратно до рідкості цільових ліній. Незважаючи на модельний статус, такі результати підкреслюють, що зниження порогу детекції до лінії з малою часткою за підтримкою рівня 95% ймовірності виявлення стає можливим лише за умов суттєвого нарощування пропускнуої спроможності, подовження вікна моніторингу або суттєвого перегляду дизайну відбору зразків для секвенування.

Оскільки кластеризація у дизайні відбору зразків зменшує ефективний розмір вибірки ідентифікованих ліній за фіксованої кількості сіквенсів і збільшує дисперсію відносно багатоміальної схеми, для адаптації даної моделі є необхідним введення дизайн-ефекту. Однак, оскільки база даних не містила інформації про внутрішні агрегати джерел сіквенсів у країнах-учасниках та часовий розподіл надходження зразків, емпірична оцінка кореляції для кожної країни є неможливою. Для аналізу впливу дизайн-ефекту задіяно сценарний аналіз чутливості з фіксованими множинниками у 1,2, 1,5, 2,0 та 3,0. За



Таблиця 5

Порогова інтенсивність секвенувань, що є необхідною для ідентифікації рідкісних ліній *Betacoronavirus pandemicum* протягом часового вікна моніторингу

Table 5

Threshold sequencing intensity required for the detection of rare *Betacoronavirus pandemicum* lineages within the monitoring time window

Частка лінії в потоці секвенування	Мінімальна валова кількість сіквенсів за інтервал спостережень	Мінімальна середня добова інтенсивність сіквенсів для виявлення за 7 діб	Мінімальна середня добова інтенсивність сіквенсів для виявлення за 14 діб	Мінімальна середня добова інтенсивність сіквенсів для виявлення за 30 діб
1,0% (0,0100)	299	42,714	21,357	9,967
0,5% (0,0050)	598	85,429	42,714	19,933
0,1% (0,0010)	2995	427,857	213,929	99,833
0,05% (0,0005)	5990	855,714	427,857	199,667
0,01% (0,0001)	29956	4279,429	2139,714	998,533

умов подібності зразків у межах кластерів зростає міжкластерна кореляція, і додаткові сіквенси, що походять з того самого кластера, додають меншу кількість нових ліній, а отже цільовий загальний обсяг та добова інтенсивність у такому сценарії масштабуються пропорційно внеску дизайн-ефекту. Найбільш відчутний вплив цієї поправки відчувається на рівні 95% ймовірності хоча б одноразової ідентифікації лінії з часткою 0,1%, що в межах 14-денного вікна зростає з 428 сіквенсів на добу до рівня 500–800 сіквенсів на добу. Це вчергове підкреслює гостру необхідність гармонізації дизайну відбору зразків в межах програми моніторингу.

Для встановлення верхньої раціональної межі секвенувань здійснено аналіз маржинальної віддачі, яка формує очікуваний приріст кількості унікальних ліній при збільшенні обсягу секвенувань на одиницю. Аналіз здійснювали за допомогою оцінювання миттєвої маржинальної віддачі на базі формування похідної з результатів оцінювання загальних порогових рівнів секвенування та перераховували у вигляді віддачі як кількості нових ліній, що вдається ідентифікувати на кожні 1000 додаткових секвенувань.

Агреговано для 176 країн (див. Додаток) отримано медіанне значення близько 0,64 нових ліній на кожні 1000 секвенувань. Таким чином, для типової країни додаткові тисяча сіквенсів на рівні ідентифікації, що наближалася до 09.10.2024, приносили менш ніж одну нову унікальну лінію. Водночас, деякі країни що не входять до 95 перцентилію, все ще здатні ідентифікувати близько 23,55 нових ліній при збільшенні валової кількості секвенувань на 1000.

Враховуючи результати, світову модель молекулярно-генетичного моніторингу слід коригувати в режимі реального часу з встановленням динамічного критерію ефективності, який має враховувати конкретну інтенсивність



детекції унікальних ліній для конкретної країни, та її вклад у загальну картину змін генетичної структури збудника. Такий підхід дозволить оптимізувати витрати з встановленням пріоритетів інвестування.

За результатами ретроспективного моделювання світового моніторингу динаміки ліній *B. pandemicum* встановлено, що для ефективної протидії ймовірним наступним пандемічним інцидентам необхідною є оптимізація глобальної стратегії. У першу чергу слід врахувати необхідність встановлення обґрунтованих метрик контролю якості програми. Узгоджений потоковий аналіз показників концентрованості, різноманітності та рівномірності профілів з обов'язковими поправками на дизайн-ефект і контекст відбору має високий потенціал підвищення ефективності за допомогою впровадження відповідних коригувань як у програму моніторингу, так і у її матеріальне забезпечення. Моніторинг таких метрик зумовлює можливість введення тригерів реагування, наприклад, раптове зростання переважання, стає падіння різноманітності за незмінної інтенсивності секвенувань, поява і короткочасна персистентність низькочастотних кластерів у різних регіонах тощо. Такі тригери мають істотне значення у питанні зміни пріоритезації ресурсів.

Необхідним є не лише безперервне календарне покриття, а й його поєднання з достатньою інтенсивністю секвенувань, яке має спиратися на аналіз індивідуального профілю. Такий підхід дозволить ідентифікувати рідкісні варіанти на ранніх етапах та знизити хибне переважання окремих ліній, що має суттєвий вплив на вакцинальну кампанію. Окрім цього, стратегія моніторингу повинна враховувати формування кривої накопичення, яке на ранніх стадіях моніторингу не дозволяє ефективно ідентифікувати як спектр ліній так і їх переважальність, що формує необхідність максимально швидкого виходу на оптимальні рівні валової кількості сіквенсів, оскільки основну прогностичну цінність мають не миттєві показники, а динаміка метрик, що має здатність відрізняти еволюційну новизну від шумових ефектів.

Додаток до статті можна переглянути в електронній версії журналу за посиланням: <http://mbt.onu.edu.ua/article/view/345238>



K. S. Onyshchenko¹, O. Yu. Zinchenko², B. S. Zhukov³

¹National Pirogov Memorial Medical University,
56 Pyrohova St, Vinnytsia 21018, Ukraine,
e-mail: cat.medichka@gmail.com

²Odesa I. I. Mechnikov National University,
2 Zmiiienka Vsevoloda St, Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: ozinchenko@onu.edu.ua

³Odesa National University of Technology,
112 Kanatna St, Odesa 65039, Ukraine,
e-mail: brs.alchemist@gmail.com

RETROSPECTIVE MATHEMATICAL MODELING OF GLOBAL *BETACORONAVIRUS PANDEMICUM* LINEAGES DYNAMIC MONITORING AS AN INSTRUMENT FOR THE SURVEILLANCE OF EMERGING MEDICAL THREATS

Summary

Aim. To assess the parameters of SARS-CoV-2 (*Betacoronavirus pandemicum*) lineage profiles and to determine the relationships between sequencing depth, temporal monitoring characteristics, and lineage diversity. **Methods.** A dataset of 11.33 million sequences and 2,703 *B. pandemicum* lineages from 176 countries were analyzed using the Pango nomenclature. Concentration (HHI), diversity (H , HMM), evenness (J), observation duration (D), and sequencing intensity (I) indices were calculated. Correlation and regression analyses were performed using appropriate Python libraries. **Results.** Strong associations were identified between monitoring duration, sequencing intensity, and the number of detected lineages. Threshold sequencing depths required to reach 90%, 95%, and 99% lineage diversity coverage were ~239, 321, and 411 sequences, respectively. After ~400–500 sequences, the efficiency of sequencing decreased, reflected by a minimal increase in newly detected lineages. The marginal yield fell below one new lineage per 1,000 additional sequences. **Conclusions.** Temporal parameters and sequencing intensity determine the effectiveness of genomic surveillance, whereas profile evenness depends mainly on sampling design. The proposed model enables determination of sequencing thresholds and optimization of monitoring strategies.

Key words: COVID-19, *Betacoronavirus pandemicum*, design-model, sequencing, diversity, surveillance.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Brainard J., Jones N., Harrison F., et al. Super-spreaders of novel coronaviruses that cause SARS, MERS and COVID-19: a systematic review // *Annals of Epidemiology*. – 2023. – V. 82. – P. 66–76. – <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2023.03.009>
2. Colquhoun R., Jackson B., O'Toole A., et al. SCORPIO: a utility for defining and classifying mutation constellations of virus genomes // *Bioinformatics*. – 2023. – V. 39(10). – 4 p. – <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btad575>
3. Du S., Tong X., Lai A., et al. Highly host-linked viromes in the built environment possess habitat-dependent diversity and functions for potential



- virus-host coevolution // *Nature Communications*. – 2023. – V. 14(2676). – 16 p. – <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38400-0>
4. *Herrera A., Riera R., Rodríguez R.* Alpha species diversity measured by Shannon's H-index: some misunderstandings and underexplored traits, and its key role in exploring the trophodynamic stability of dynamic multiscapes // *Ecological Indicators*. – 2023. – V. 156. – 10 p. – <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.111118>
 5. *Kvalseth T.* Measurement of market (industry) concentration based on value validity // *PLoS ONE*. – 2022. – V. 17(7). – 24 p. – <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264613>
 6. *Li Q., Shah T., Wang B., et al.* Cross-species transmission, evolution and zoonotic potential of coronaviruses // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2023. – 13 p. – <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1081370>
 7. *Liu D., Chen C., Chen D., et al.* Mouse models susceptible to HCoV-229E and HCoV-NL63 and cross protection from challenge with SARS-CoV-2 // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. – 2023. – V. 120(4). – 12 p. – <https://doi.org/10.1073/pnas.2202820120>
 8. *Lopez-Cortes G., Palacios-Perez M., Hernandez-Aguilar M.* Human Coronavirus Cell Receptors Provide Challenging Therapeutic Targets // *Vaccines*. – 2023. – V. 11(1). – 23 p. – <https://doi.org/10.3390/vaccines11010174>
 9. *O'Toole A., Pybus O., Abram M., et al.* Pango lineage designation and assignment using SARS-CoV-2 spike gene nucleotide sequences // *BMC Genomics*. – 2022. – V. 23. – 121 p. – <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08358-2>
 10. *O'Toole A., Scher E., Underwood A., et al.* Assignment of epidemiological lineages in an emerging pandemic using the pangolin tool // *Virus Evolution*. – 2021. – V. 7(2). – P. 1–9. – <https://doi.org/10.1093/ve/veab064>
 11. *Rambaut A., Holmes E., O'Toole A., et al.* A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology // *Nature Microbiology*. – 2020. – V. 5. – P. 1403–1407. – <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0770-5>
 12. *Roswell M., Dushoff J., Winfree R.* A conceptual guide to measuring species diversity // *Oikos*. – 2021. – V. 130(3). – P. 321–487. – <https://doi.org/10.1111/oik.07202>
 13. *Spiegel Y.* The Herfindahl-Hirschman Index and the Distribution of Social Surplus // *The Journal of Industrial Economics*. – 2021. – V. 69(3). – P. 561–594. – <https://doi.org/10.1111/joie.12253>
 14. *Zumla A., Peiris M., Memish Z., et al.* Anticipating a MERS-like coronavirus as a potential pandemic threat // *Lancet*. – 2024. – V. 4(403). – P. 1729–1731. – [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)00641-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)00641-X)

REFERENCES

1. Brainard J, Jones N, Harrison F, et al. Super-spreaders of novel coronaviruses that cause SARS, MERS and COVID-19: a systematic review. *Ann Epidemiol*. 2023;82:66–76. <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2023.03.009>



2. Colquhoun R, Jackson B, O'Toole A, et al. SCORPIO: a utility for defining and classifying mutation constellations of virus genomes. *Bioinformatics*. 2023;39(10):1–4. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btad575>
3. Du S, Tong X, Lai A, et al. Highly host-linked viromes in the built environment possess habitat-dependent diversity and functions for potential virus-host coevolution. *Nat Commun*. 2023;14(2676):1–16. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38400-0>
4. Herrera A, Riera R, Rodríguez R. Alpha species diversity measured by Shannon's H-index: some misunderstandings and underexplored traits, and its key role in exploring the trophodynamic stability of dynamic multiscapes. *Ecol Indic*. 2023;156:111118. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.111118>
5. Kvalseth T. Measurement of market (industry) concentration based on value validity. *PLoS One*. 2022;17(7):e0264613. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264613>
6. Li Q, Shah T, Wang B, et al. Cross-species transmission, evolution and zoonotic potential of coronaviruses. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;13:1081370. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.1081370>
7. Liu D, Chen C, Chen D, et al. Mouse models susceptible to HCoV-229E and HCoV-NL63 and cross protection from challenge with SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2023;120(4):e2202820120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2202820120>
8. Lopez-Cortes G, Palacios-Perez M, Hernandez-Aguilar M. Human coronavirus cell receptors provide challenging therapeutic targets. *Vaccines*. 2023;11(1):1–23. <https://doi.org/10.3390/vaccines11010174>
9. O'Toole A, Pybus O, Abram M, et al. Pango lineage designation and assignment using SARS-CoV-2 spike gene nucleotide sequences. *BMC Genomics*. 2022;23(1):121. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08358-2>
10. O'Toole A, Scher E, Underwood A, et al. Assignment of epidemiological lineages in an emerging pandemic using the pangolin tool. *Virus Evol*. 2021;7(2):veab064. <https://doi.org/10.1093/ve/veab064>
11. Rambaut A, Holmes E, O'Toole A, et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol*. 2020;5:1403–1407. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0770-5>
12. Roswell M, Dushoff J, Winfree R. A conceptual guide to measuring species diversity. *Oikos*. 2021;130(3):321–487. <https://doi.org/10.1111/oik.07202>
13. Spiegel Y. The Herfindahl-Hirschman Index and the distribution of social surplus. *J Ind Econ*. 2021;69(3):561–594. <https://doi.org/10.1111/joie.12253>
14. Zumla A, Peiris M, Memish Z, et al. Anticipating a MERS-like coronavirus as a potential pandemic threat. *Lancet*. 2024;403:1729–1731. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)00641-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)00641-X)

Стаття надійшла до редакції 01.12.2025 р.



Б. С. Жуков¹, Є. В. Демедюк², Т. В. Гудзенко²

²Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Змієнка Всеволода, 2, м. Одеса, 65082, Україна,
e-mail: tgudzenko@ukr.net

¹Випробувальний центр ІП «СЖС Україна»,
вул. Чорноморського Козацтва, 103, м. Одеса, 65059, Україна,
e-mail: tgudzenko@ukr.net

МОНІТОРИНГ ГЕНЕТИЧНОЇ РІЗНОМАНІТНОСТІ ПОПУЛЯЦІЇ *PHYTOPHTHORA INFESTANS* – ЗБУДНИКА ФІТОФТОРОЗУ КАРТОПЛІ НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ

Знання генетичної структури популяцій таких фітопатогенів як *Phytophthora infestans* є невід'ємною частиною успішного контролю фітофторозу – широко розповсюдженої найбільш руйнівної хвороби картопляних культур, яка завдає величезних економічних збитків у всіх країнах світу. **Мета.** Встановити генетичну різноманітність популяції *P. infestans* – збудника фітофторозу картоплі на території України. **Методи.** Ізоляцію чистих культур *P. infestans* проведено методом блоттерів на картопляних дисках з наступним послідовним пересіванням на житній агар з додаванням рифампіцину (RAB-R) та картопляно-декстрозний агар (PDA). Генетичне типування ліній вітчизняних *P. infestans* проводили за допомогою SSP ПЛР аналізу. Аналітичні дендрограми формували за допомогою програмного забезпечення MEGA 1. **Результати.** У результаті проведеного молекулярно-генетичного аналізу з використанням 10 мікросателітних маркерів, 35 вітчизняних ізолятів *P. infestans* розподілилися на 17 генотипів, що свідчить про високий рівень поліморфності у популяції, яка не пов'язана ні з регіоном виділення, ні з сортом ураженої картоплі. Частота генотипів коливалася від 2,86 до 11,43%. Найбільш розповсюдженими на Україні генотипами виявилися С, F та G. Найменшу генетичну різноманітність було виявлено у популяції *P. infestans* Львівської області. Зразки, що отримано з інших областей, демонструють високу гетерогенність. Кореляції між регіонами та сортами картоплі, з яких отримано зразки *P. infestans*, та їх генотипами не спостерігається. **Висновки.** Встановлено генетичну різноманітність популяції збудника фітофторозу картоплі на території України – 35 вітчизняних ізолятів *P. infestans* розподілилися на 17 генотипів без значного зміщення в бік певного варіанту, що свідчить про високий рівень поліморфності у популяції.

Ключові слова: фітофтороз картоплі, генотипи *Phytophthora infestans*, кластерний аналіз, Україна.

Фітофтороз, спричинений ооміцетом *Phytophthora infestans*, є найбільш руйнівною хворобою картопляних культур, яка завдає величезних економічних збитків, які оцінюються від 1 до 10 мільярдів євро в країнах, що розвива-



ються, і в розвинених країнах, відповідно, без урахування додаткових наслідків для суспільства та навколишнього середовища [9]. У наш час, у країнах, що розвиваються, уражена площа становить 2–3 мільйони гектарів з 13 мільйонів світової площі посіву картоплі. За консервативними оцінками на частку фітофторозу приходиться 15% втрат фактичної та 25% досяжної врожайності [5, 6, 14].

Популяція *P. infestans* у Європі характеризується високою динамічністю. Одним з прикладів суттєвих зрушень стала поява типу спарювання A2, що призвела до витіснення лінії *US-1* та насичення популяції новими варіантами, зокрема *EU_13_A2*, з більшою вірулентністю та резистентністю до металаксилу. Сьогодні популяція *P. infestans* формується з широкого розмаїття генотипів, деякі з яких є панівними клоновими лініями, а інші є рідкісними або навіть унікальними для року чи місця. Такі зміни становлять значну загрозу для картоплярства через зростання потенціалу формування нових більш агресивних генотипів, здатних долати сортову стійкість, набувати резистентність до фунгіцидів та швидко замішувати раніше сформовані популяції.

P. infestans de Bary це вид грибів ооміцетів, який як і культурна картопля, мають спільне південно-американське походження з регіону Анд або Мексики. Картопля є важливою продовольчою культурою, яку може уражувати *P. infestans*, окрім картоплі цей фітопатоген може зустрічатися і на інших культурах з пасльонових, наприклад на томатах (*Solanum lycopersicum*) та баклажанах (*Solanum melongena*).

Фітофтороз, спричинений *P. infestans*, викликає загнивання та відмирання листя. На черешку і стеблі уражених рослин можуть розвинутися плями, які розширюються і мають довгу форму, шкірка заражених бульб картоплі виглядає нерівномірно бляклою, викривленою та злегка водянистою, м'якоть бульби картоплі стає коричневою [10].

Дане захворювання характеризується регулярними рецидивами, а патоген є надзвичайно вірулентним [5]. Еволюція патогену спостерігається неспинно, вже починаючи з його першої реєстрації у 1840-их роках [12]. Лише за останні десятиріччя збудник фітофторозу зазнав значних генетичних перетворень через внутрішньопопуляційні зміни частоти генотипів та міжпопуляційні схрещування. Це спричинило значні проблеми у зонах вирощування картоплі по всьому світу [13].

Боротьба з фітофторозом ускладнюється змішаною репродуктивною системою, що сприяє еволюції *P. infestans*. Даний патоген є гетероталічним організмом, який для статевого процесу вимагає контакту міцелію сформованого представниками A1 та A2 типів спарювання. Будучи самостерильними, при контакті у спільній популяції вони здатні формувати стійкі ооспори, що формують нову генетичну лінію *P. infestans*. У зв'язку з цим, міграції обох типів спарювання в Європу збільшило генетичне різноманіття збудника [1]. У більшості країн світу популяції *P. infestans* дотримуються переважно нестатевого життєвого циклу, і збудник мігрує через повітряне розповсюдження або глобальну торгівлю насінням картоплі. Цей спосіб призводить до безперервного та повторюваного впровадження нових генотипів, які зазнають селекційного тиску в умовах місцевого середовища та агрономічної практики, що при-



зводить до генетичної реструктуризації популяцій і створює проблеми для виробництва сільськогосподарських культур [4, 14]. Серед одних з головних сучасних європейських генетичних ліній, що викликають занепокоєння є лінія EU_13_A2 (Blue 13), та EU_33_A2 (Green 33) [8]. За таких умов, зростання генетичного різноманіття у популяції сприяє підвищенню загрози формування нових загрозливих ліній з непередбачуваними характеристиками.

Знання генетичної структури популяцій патогенів є невід'ємною частиною успішного контролю. Послідовні повтори, також відомі як мікросателітні маркери (SSR), дуже варіабельні, розподілені по геному, інформативні та надійні в експериментальних умовах, і, отже, широко визнані як «золотий стандарт» для генетичного дослідження популяцій *P. infestans* [11].

Таким чином, молекулярно-генетичне дослідження місцевих популяцій *P. infestans* дозволяє здійснювати моніторинг змін з метою раннього виявлення процесів адаптації в популяції *P. infestans* у певному регіоні. Моніторинг надасть змогу вчасно адаптувати заходи контролю та агротехнології спрямовані на запобігання втрати врожаїв, зниження шкоди навколишньому середовищу, що виникає у зв'язку з масштабним застосуванням пестицидів, та запобігти утворенню на території України ареалів стійких популяцій *P. infestans*.

Мета роботи: встановити генетичну різноманітність популяції *P. infestans* – збудника фітофторозу картоплі на території України.

Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження були 35 зразків картопляного листа з ознаками ураження фітофторозом, отримані з господарств які розташовані в різних регіонах України. Перелік зразків надано у таблиці 1.

Загалом досліджували 22 сорти картоплі, що вирощувалися на ділянках які охоплювали 10 областей України. Перелік сортів та кількість зразків надано у таблиці 2.

Ізоляцію чистих культур *P. infestans* було проведено за допомогою методу блоттерів на картопляних дисках з наступним послідовним пересіванням на житній агар з додаванням ріфампіцину (RAB-R) та картопляно-декстрозний агар (PDA) [12].

Зрізи з переднього краю ураженого листа було вирізано за допомогою стерильного скальпелю, та перенесено на скибочки картоплі. Сформовані блоти інкубовано протягом 5 діб при температурі 18 ± 1 °C у темних умовах. Осередки споруутворення переносили на поверхню живильного середовища RAB-R з додаванням ріфампіцину у концентрації 25 мкг/мл [12]. Посіви інкубовано протягом 7 діб при температурі 15 ± 1 °C у темних умовах.

Чистоту культури *P. infestans* підтверджували типуванням спор за допомогою мікроскопії у світлому полі.

Географічне покриття та кількість ізолятів, що отримано з означених вище зразків, відображено на рисунку 1.

Накопичення біомаси чистих культур *P. infestans* для проведення подальших етапів дослідження було здійснено пересівання на поверхню поживного середовища PDA, з наступною інкубацією протягом 7 діб при температурі 15 ± 1 °C у темних умовах. Екстракцію геномної ДНК проводили за допо-



Таблиця 1

Table 1

Перелік зразків картопляного листя, що було взято в дослідження

List of potato leaf samples taken for the study

№	Область та район походження	Сорт	№	Область та район походження	Сорт	№	Область та район походження	Сорт
1	Херсонська обл., с. Чумаківка	Інара	13	Львівська обл., с. Вирів	ВГ 808	25	Київська обл., с. Шпильки	Верді
2	Херсонська обл., с. Чумаківка	Карпена	14	Львівська обл., с. Вирів	Леді Клер	26	Київська обл., с. Шпильки	Тоскана
3	Херсонська обл., с. Чумаківка	Леді Клер	15	Львівська обл., с. Вирів	Леді Клер	27	Житомирська обл., с. Гальчин	Агаг
4	Чернігівська обл., с. Пльохів	Тоскана	16	Львівська обл., с. Вирів	ВГ 808	28	Житомирська обл., с. Межирічка	Пікасо
5	Чернігівська обл., с. Пльохів	Наташа	17	Волинська обл., с. Торчин	Лагона	29	Тернопільська обл., м. Дворіччя	Скарлет
6	Чернігівська обл., с. Понорниця	Сифра	18	Хмельницька обл., с. Великі Калетинці	Пікасо	30	Тернопільська обл., с. Васильківці	Астерікс
7	Чернігівська обл., с. Понорниця	Белароса	19	Житомирська обл., с. Тупольці	Гала	31	Тернопільська обл., с. Новий Нижбірок	Скарлет
8	Чернігівська обл., с. Виблі	Белароса	20	Київська обл., с. Пухівка	Піраль	32	Дніпропетровська обл., с. Котовка	Романа
9	Чернігівська обл., пгт. Сосниця	Белароса	21	Житомирська обл., с. Брусилів	Пікасо	33	Дніпропетровська обл., с. Котовка	Монарт
10	Чернігівська обл., с. Городниця	Белароса	22	Київська обл., с. Городниця	Зіфра	34	Дніпропетровська обл., с. Котовка	Сифра
11	Полтавська обл., с. Комишня	Рів'єра	23	Київська обл., с. Красилівка	Тоскана	35	Тернопільська обл., с. Капустинці	Астерікс
12	Полтавська обл., с. Комишня	Лабела	24	Київська обл., с. Маковиця	Аладін			



Таблиця 2

Перелік сортів картоплі, взятих у дослідження

Table 2

List of potato varieties included in the study

№	Сорти картоплі	Кількість зразків	№	Сорти картоплі	Кількість зразків
1	Агат	1	12	Латона	1
2	Аладін	1	13	Леді Клер	3
3	Астерікс	2	14	Моцарт	1
4	Белароса	4	15	Нагаша	1
5	ВГ 808	2	16	Пікасо	3
6	Верді	1	17	Піраль	1
7	Гала	1	18	Рів'єра	1
8	Зіфра	1	19	Романа	1
9	Інара	1	20	Сифра	2
10	Карпена	1	21	Скарлет	2
11	Лабела	1	22	Тоскана	3



Рис. 1. Географічне покриття дослідження, та кількість ізолятів *P. infestans*, отриманих зі зразків по регіонах України

Fig. 1. Geographical coverage of the study and the number of isolates of *P. infestans* obtained from samples by regions of Ukraine

могою комерційних наборів згідно з інструкцією виробника, з врахуванням вимог ISO 21571 [7].

Кількість та якість отриманої ДНК оцінювали за допомогою спектрофотометрії, з метою досягнення оптимальної концентрації з порівняним значенням більше 30 нг/мкл у всіх зразках.

Висновок щодо придатності ДНК для подальшого дослідження здійснювали на підставі аналізу відношення поглинання розчином на довжинах хвиль 260/280 та 260/230 нм. Дані співвідношення демонстрували наявність чи відсутність у розчині ДНК речовин, що мають здатність негативно впливати на проходження ПЛР. До таких речовин відносяться протеїни, феноли та інші. Максимальне досягнення необхідного співвідношення 260/280 та 260/230, що дорівнює приблизно 1,7 та 1,9 відповідно, є необхідною умовою для прийняття екстрагованого матеріалу для реалізації ПЛР. Для поліпшення контролю якості, нами було прийнято діапазони приємності для чистоти на довжинах хвиль 260/280 рівним 1,8–2,1, а на довжинах 260/230 – 2,0–2,2.

За результатами аналізу джерел літератури було відібрано 10 пар мікросателітних локусів які характеризуються найбільшою диференціальною здатністю. Перелік праймерів [2, 9], за допомогою яких було проведено генетичне типування ліній вітчизняних *P. infestans*, надано у таблиці 3.

Таблиця 3

Перелік праймерів, що було використано у дослідженні [2, 9]

Table 3

List of primers used in the study [2, 9]

Маркер	SSR Праймер 5'-3'	Мотив	Маркер	SSR Праймер 5'-3'	Мотив
G11	F: tgctatttatcaagcgtgg R: tacaatctgcagccgtaaga	TC	SSR3	F: acttgcaactaccgccc R: gtttcagaactaccgccc	GT
Pi4B	F: aaaataaagcctttggtca R: gcaagcaggttttagatt	TC	SSR4	F: tcttgctcagatgacgacg R: gttcactcgggagaaaggcttc	CT
Pi63	F: atgacgaagatgaaagtgagg R: cgtatttctgtttatctaacc	GAG	SSR6	F: gtttggtgggctgaagtttt R: tcgccacaagattattccg	AT
Pi70	F: atgaaaatacgtcaatgctcg R: cgttgatatttctattctcg	AAG	SSR8	F: aatctgatcgcaactgagg R: gtttacaatacacacgtcgctcc	AC
SSR2	F: cgacttctacatcaaccggc R: gtttgcttgactgcgttttagc	CT	SSR11	F: ttaagccacgatgatgctg R: gtttagacaattggttggtcgc	AG

Для проведення SSR ПЛР аналізу було використано комерційний набір реактивів та програма ампліфікації, з врахуванням рекомендацій EusaBlight та EuroBlight з наступними умовами: 1 цикл – 95 °С 2 хвилини; 30 циклів: 58 °С 25 секунд, 72 °С 60 секунд, 95 °С 20 секунд, 72 °С 20 хвилин. Зберігання зразків здійснювали при 4 °С [16].

Розподіл та візуалізацію фрагментів проводили за допомогою електрофорезу у ПААГ. Для проведення електрофорезу, використовували 7% ПААГ що складався з наступних реактивів, з врахуванням приготування смужки для



герметизації скла: – ТВЕ буфер х10 – 3,55 мл; 10,8 г трис; 5,5 г борна кислота; 0,75 г трилон Б; 100 мл дистильована вода; – акриламід 30% – 8,22 мл; 29 г акриламід; 1 г бісакриламід; 100 мл дистильована вода; – дистильована вода – 23,22 мл; – ТЕМЕД – 45 мкл; – персульфат амонію – 450 мкл. Розділення продуктів ампліфікації проводили за напруги 280В протягом 2 годин. Забарвлення результатів електрофорезу здійснювали впродовж 20 хвилин інкубацією гелю у розчині інтеркаляційного агенту – бромистого етидію. Оцінювання результатів проводили за допомогою приладу UVP.

Аналітичні дендрограми формували за допомогою програмного забезпечення MEGA 11 [16]. Конструювання дендрограми проводили відносно одного з отриманих генотипів, який приймали як відправну точку кластеризації за алгоритмом Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (UPGMA).

Результати та їх обговорення

За результатами ПЛР аналізу, який було проведено з використанням праймерів до десяти мікросателітних локусів, було отримано дані відносно поліморфізму 35 ізолятів *P. infestans*. Результати представлено у таблиці 4.

Таблиця 4

Алельний стан мікросателітних локусів *P. infestans*, що встановлено за допомогою ПЛР аналізу

Table 4

Allelic status of microsatellite loci of *P. infestans* determined by PCR analysis

№	g11	pi4b	pi63	pi70	ssr2	ssr3	ssr4	ssr6	ssr8	ssr11
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	162	205/217	285	192	170	260	320	260	256	352/341
2	162	205/217	285	192	170	260	320	260	256	352/341
3	162	205/217	285	192	173	260	320	260	256	352/341
4	162	205/217	285	192	173	260	320	260	256	352/341
5	162	205/217	285	192	173	260	294	260	256	352/341
6	162	205/217	285	192	173	260	294	260	256	352/341
7	162	205/217	285	192	173	260	294	260	256	341
8	162	205/217	285	192	173	260	294	260	256	352/341
9	162	205/217	285	192	173	260	294	260	256	352/341
10	162	205/217	285	192	165	260	294	260	256	352/341
11	162	205/217	285	192	165	260	294	260	256	352/341
12	162	205/217	285	192	165	260	294	260	256	352/341
13	162	205/217	285	192	165	266	292	260	256	352/341
14	162	205/217	285	192	165	266	292	260	256	352/341
15	162	205/217	285	192	165	266	292	260	256	352/341
16	162	205/217	285	192	165	266	292	260	256	352/341
17	162	205/217	285	192	165	275	292	260	256	352/341



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
18	162	205/217	285	192	165	275	292	260	256	352/341
19	162	205/217	285	192	165	275	292	260	256	352/341
20	162	205/217	285	192	165	260	292	260	256	352/341
21	162	205/217	285	192	165	260	292	260	256	352/341
22	162	205/217	285	192	173	260	292	260	256	352/341
23	162	205/217	285	192	170	260	284	260	256	352/341
24	162	205/217	285	192	170	260	284	260	256	352/341
25	162	205/217	285	192	170	260	284	260	256	341
26	162	205/217	285	192	170	260	292	260	256	352/341
27	162	205/217	285	192	165	275	292	260	256	352/341
28	162	205/217	285	192	165	260	292	260	256	352/341
29	162	205/217	285	192	170	260	292	260	256	341
30	162	205/217	285	192	170	260	284	260	256	352
31	162	205/217	285	192	165	275	287	260	256	352/341
32	162	205/217	285	192	165	260	284	260	256	352/341
33	162	205/217	285	192	165	260	287	260	256	352/341
34	162	205/217	285	192	165	260	287	260	256	352/341
35	162	205/217	285	192	165	260	287	260	256	352/341

Найбільш інформативними були маркери *ssr2*, *ssr3*, *ssr4* та *ssr11*. На відміну від *g11*, *pi4b*, *pi63*, *pi70* та *ssr8*, що продемонстрували відсутність поліморфізму, ці маркери надали змогу диференціювати вітчизняні ізоляти за генотипом. Отриманий поліморфізм та частота алелів продемонстровано у таблиці 5.

Таблиця 5

Варіанти довжин та частоти фрагментів ампліфікації зразків *P. infestans*

Table 5

Variants of lengths and frequencies of amplification fragments of *P. infestans* samples

Локус	Довжина фрагменту, п.н.	Частота, %	Локус	Довжина фрагменту, п.н.	Частота, %
<i>g11</i>	162	100	<i>ssr6</i>	260	100
<i>pi4b</i>	205/217	100	<i>ssr8</i>	256	100
<i>pi63</i>	285	100	<i>ssr4</i>	284	14,29
<i>pi70</i>	192	100		287	11,40
<i>ssr2</i>	165	54,29		292	40,00
	170	22,86		294	22,86
	173	22,86	320	11,43	
<i>ssr3</i>	260	74,29	<i>ssr11</i>	341	9,09
	266	11,43		352	3,03
	275	14,29		352/341	93,94



Таким чином, за допомогою 10 мікросателітних маркерів було виявлено 17 генотипів (А-Q), що є характерними для проаналізованих зразків вітчизняної популяції *P. infestans*. Мікросателітні комбінації даних генотипів продемонстровано у таблиці 6.

Таблиця 6

**Варіанти генотипів українських ізолятів *P. infestans*
за мікросателітними маркерами**

Table 6

**Genotype variants of Ukrainian *P. infestans* isolates determined
by microsatellite markers**

№ генотипу	g11	pi4b	pi63	pi70	ssr2	ssr3	ssr4	ssr6	ssr8	ssr11
A	162	205/217	285	192	170	260	320	260	256	352/341
B	162	205/217	285	192	173	260	320	260	256	352/341
C	162	205/217	285	192	173	260	294	260	256	352/341
D	162	205/217	285	192	173	260	294	260	256	341
E	162	205/217	285	192	165	260	294	260	256	352/341
F	162	205/217	285	192	165	266	292	260	256	352/341
G	162	205/217	285	192	165	275	292	260	256	352/341
H	162	205/217	285	192	165	260	292	260	256	352/341
I	162	205/217	285	192	173	260	292	260	256	352/341
J	162	205/217	285	192	170	260	284	260	256	352/341
K	162	205/217	285	192	170	260	284	260	256	341
L	162	205/217	285	192	170	260	292	260	256	352/341
M	162	205/217	285	192	170	260	292	260	256	341
N	162	205/217	285	192	170	260	284	260	256	352
O	162	205/217	285	192	165	275	287	260	256	352/341
P	162	205/217	285	192	165	260	284	260	256	352/341
Q	162	205/217	285	192	165	260	287	260	256	352/341

Згідно з отриманими даними, частота генотипів коливалася від 2,86 до 11,43%. Найбільш розповсюдженими генотипами виявилися С, F та G. Однак їх частоти не дозволяють різко відокремити їх від загальної групи, у зв'язку з порівняно низькою варіативністю за середньої частоти $5,88\% \pm 3,42\%$ з модальним значенням 2,86%.

Частоту генотипів українських ізолятів *P. infestans* за мікросателітними маркерами представлено у таблиці 7.

Розподіл даних генотипів по областях, що були охоплені проведеним дослідженням, продемонстровано на рисунку 2.

Незважаючи на невеликий обсяг вибірки, використання мікросателітних маркерів дозволив виявити генотипи, що є спільними для деяких регіонів України. Матриця перехрестя генотипів наведена у таблиці 8.



Таблиця 7

Частота генотипів українських ізолятів *P. infestans* за мікросателітними маркерами

Table 7

Frequency distribution of Ukrainian *P. infestans* isolates' genotypes based on microsatellite markers

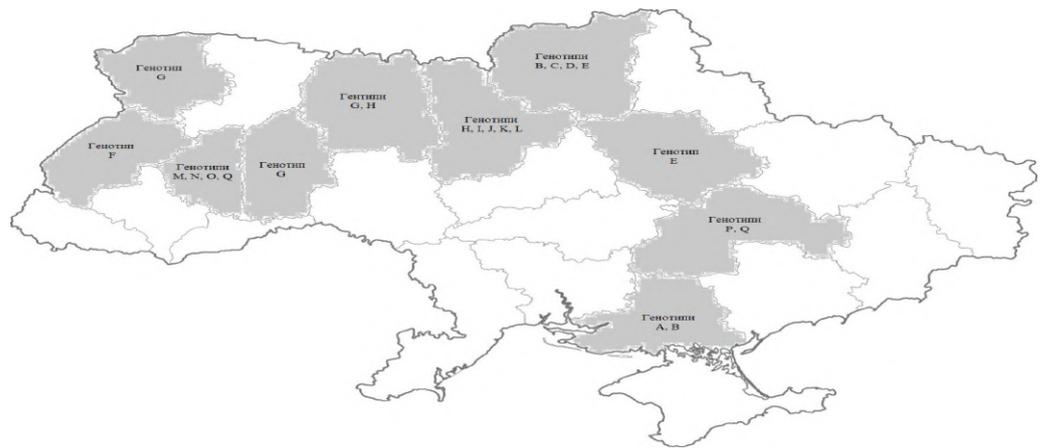
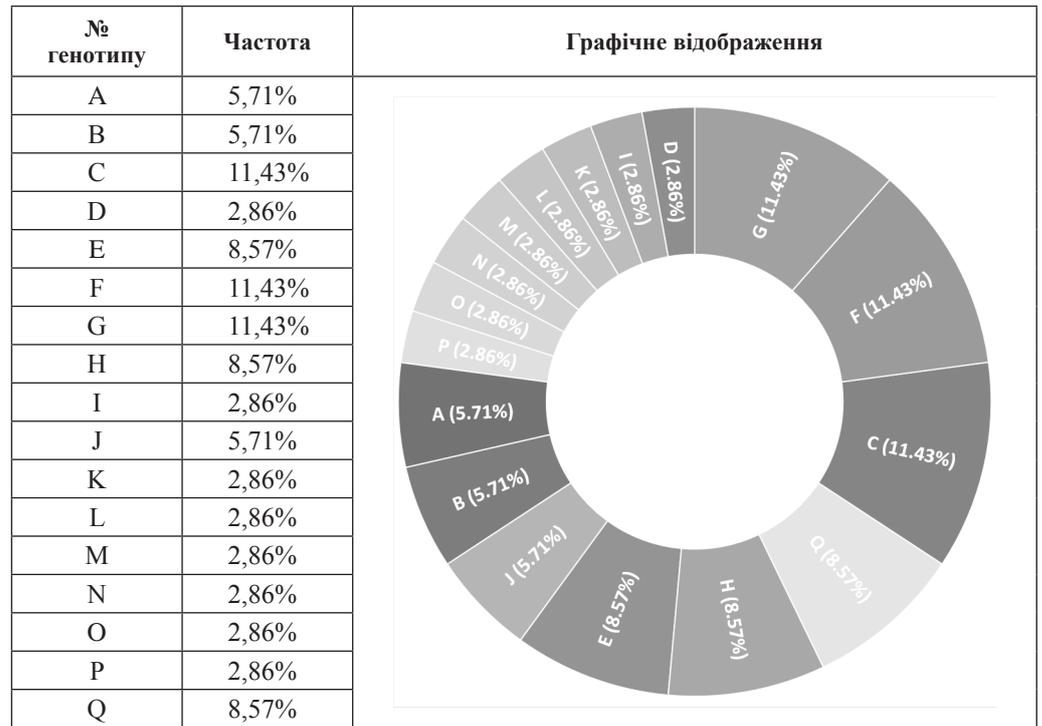


Рис. 2. Географічне розташування встановлених генотипів *P. infestans* по регіонах України

Fig. 2. Regional geographic distribution of detected *P. infestans* genotypes in Ukraine



Таблиця 8

Розподіл встановлених генотипів *P. infestans* за регіонами України

Table 8

Distribution of identified *P. infestans* genotypes across regions of Ukraine

Область походження	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
Волинська							+										
Дніпропетровська																+	+
Житомирська обл							+	+									
Київська								+	+	+	+	+					
Львівська						+											
Полтавська					+												
Тернопільська													+	+	+		+
Херсонська	+	+															
Хмельницька							+										
Чернігівська		+	+	+	+												

Хоча, деякі варіанти генотипів, такі як G та E, мали спільну регіональну межу, більшість з них не продемонстрували регіональної залежності.

Для детальнішого дослідження ймовірних зв'язків або тенденцій, було сформовано графічне відображення регіонального розподілу встановлених генотипів *P. infestans* за допомогою формування дендрограми. Дендрограму сконструйовано відносно генотипу A. Слід відмітити, що дана дендрограма не містить інформації у довжині та чергуванні гілок (рис. 3).

Ізоляти *P. infestans*, що отримано з Дніпропетровської та Житомирської областей виявляли значну гетерогенність, але в межах одного кластеру.

Згідно з цим, чіткої кореляції між регіонами, з яких отримано зразки *P. infestans*, та їх генотипами, встановленими за допомогою 10 означених молекулярних маркерів, не спостерігається.

Для визначення ймовірного зв'язку між генотипом *P. infestans* та сортом картоплі, з якого він був виділений, дендрограму інтерпретовано у відповідності до зразків картоплі (рис. 4).

Згідно з проведеним аналізом, об'єднання в кластери або субкластери не пояснюється сортом картоплі. Наприклад, сорт Белароса, що концентрується у субкластері 2.2.2, також спостерігається у субкластері 1.1.1.1 та вражається генотипами E, C та D.

Таким чином, у результаті проведеного молекулярно-генетичного аналізу з використанням 10 мікросателітних маркерів, 35 вітчизняних ізолятів *P. infestans* розподілилися на 17 генотипів, що свідчить про високий рівень поліморфності у популяції, яка не пов'язана а ні з регіоном виділення, а ні з сортом ураженої картоплі. Частота генотипів коливалася від 2,86 до 11,43%. Найбільш розповсюдженими на Україні генотипами виявилися C, F та G. Найменшу генетичну різноманітність було виявлено у популяції *P. infestans* Львівської області. Зразки, що отримано з інших областей демонструють високу гетерогенність. Кореляції між регіонами та сортами картоплі, з яких отримано зразки *P. infestans*, та їх генотипами не спостерігається.



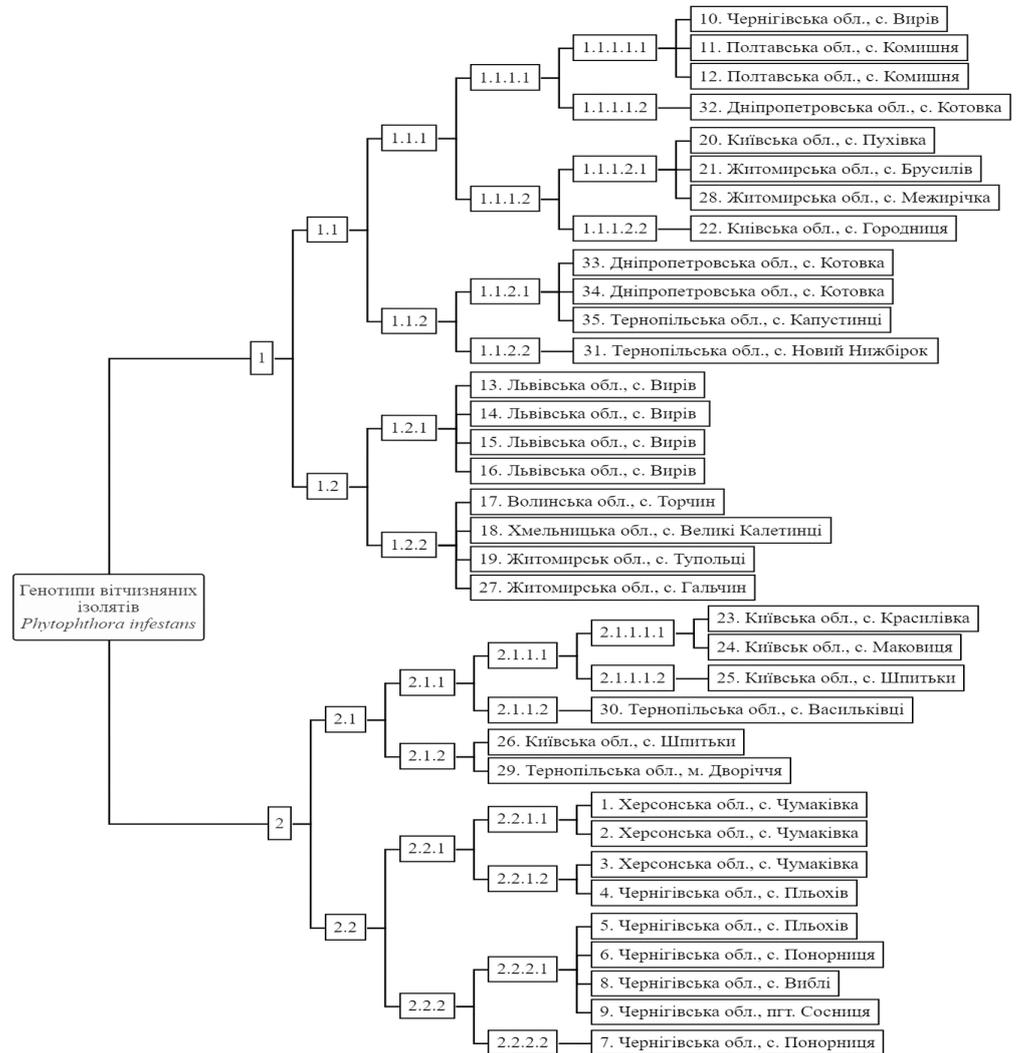


Рис. 3. Дендрограма розподілу українських ізолятів *P. infestans* за регіонами України
 1, 2 – кластери, що поєднують ізоляти *P. infestans* із спільними рисами SSR-профілю;
 1.n, 2.n – субкластери, що агрегують ізоляти за збільшенням різноманіття та групуються за спільними рисами в межах кластерів більш глибокого рівня

Fig. 3. Clustering dendrogram of Ukrainian *P. infestans* isolates by Ukrainian regions
 1, 2 – clusters combining *P. infestans* isolates with common SSR profile features;
 1.n, 2.n – subclusters aggregating isolates by increasing diversity and grouped by common features within deeper-level clusters

Продовження даного дослідження має перспективи сформувати fingerprint-бібліотеку вітчизняних рас патогенів, відібрати найбільш показові молекулярні маркери та розробити структуру моніторингу, що надасть змогу здійснення обґрунтованого, економічно та екологічно доцільного контролю даного захворювання. Саме довгострокові дослідження на конкретних ділянках, що описують зміни у фенотипічній мінливості популяцій *P. infestans*, дозволяють прогнозувати поширення патогену і можливі спалахи інфекції.



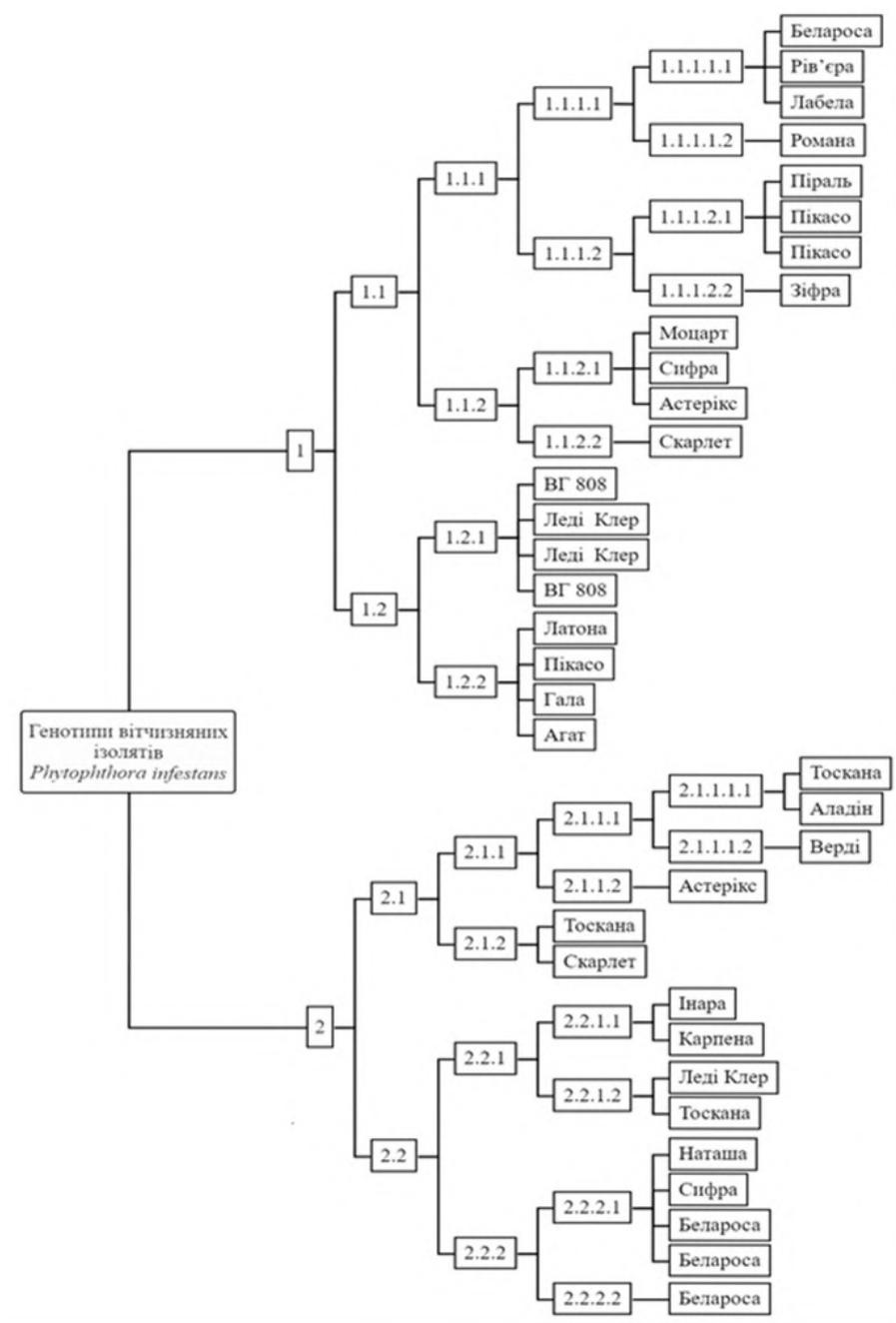


Рис. 4. Дендрограма розподілення українських ізолятів *P. infestans* за сортами картоплі, з яких вони були виділені

1, 2 – кластери, що поєднують ізоляти *P. infestans* із спільними рисами SSR-профілю;
 1.n, 2.n – субкластери, що агрегують ізоляти за збільшенням різноманіття та групуються за спільними рисами в межах кластерів більш глибокого рівня

Fig. 4. Clustering dendrogram of Ukrainian *P. infestans* isolates by potato variety origin

1, 2 – clusters combining *P. infestans* isolates with common SSR profile features;
 1.n, 2.n – subclusters aggregating isolates by increasing diversity and grouped by common features within deeper-level clusters

Таким чином, встановлено генетичну різноманітність популяції збудника фітофторозу картоплі на території України – 35 вітчизняних ізолятів *P. infestans* розподілилися на 17 генотипів без значного зміщення в бік певного варіанту, що свідчить про високий рівень поліморфності у популяції.

B. S. Zhukov², E. V. Demediuk¹, T. V. Gudzenko¹

¹Odesa I. I. Mechnikov National University,
2 Zmiienska Vsevoloda St, Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: tgudzenko@ukr.net

²Testing Center of IP "SZHS Ukraine",
103 Chornomorskooho Kozatstva St, Odesa, 65059, Ukraine,
e-mail: tgudzenko@ukr.net

MONITORING OF GENETIC DIVERSITY OF *PHYTOPHTHORA INFESTANS* POPULATIONS – THE CAUSATIVE AGENT OF POTATO LATE BLIGHT ACROSS UKRAINIAN TERRITORY

Summary

*Knowledge of the genetic structure of *Phytophthora infestans* populations is essential for effective late blight management—the most widespread and destructive potato disease, causing substantial economic losses worldwide. **Aim.** To assess the genetic diversity of *P. infestans* populations—the causative agent of potato late blight in Ukraine. **Methods.** Pure cultures of *P. infestans* were isolated using the blotter method on potato leaf discs, followed by sequential subculturing on rye agar with rifampicin (RAB-R) and potato dextrose agar (PDA). Genetic typing of Ukrainian *P. infestans* isolates was performed using SSR-PCR analysis with 10 microsatellite markers. Analytical dendrograms were constructed using MEGA 11 software. **Results.** Molecular genetic analysis of 35 Ukrainian *P. infestans* isolates using 10 microsatellite markers revealed 17 distinct genotypes, indicating high population polymorphism independent of isolation region or host potato variety. Genotype frequencies ranged from 2.86% to 11.43%, with genotypes C, F, and G being most prevalent across Ukraine. The lowest genetic diversity was observed in Lviv region isolates, while samples from other regions showed high heterogeneity. No correlations were found between isolate genotypes and either geographic origin or potato cultivars. **Conclusions.** The *P. infestans* population causing potato late blight in Ukraine exhibits high genetic diversity, with 35 isolates distributed across 17 genotypes without dominance of any particular variant, confirming substantial population polymorphism.*

Key words: potato late blight; *Phytophthora infestans*; genotypes; SSR markers; cluster analysis; Ukraine.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Cooke D.E.L., Kessel G.J.T., Lassen P., Hansen J.G. The European population of *Phytophthora infestans* in a global context // Proceedings of the seventeenth EuroBlight workshop. WUR-special report. – 2019. – V. 9. – P. 35–36. https://agro.au.dk/fileadmin/euroblight/Workshops/York/Presentations_and_posters/Proceedings/2._David_Cooke-p35-36.pdf



2. *El-Ganainy S.M., Iqbal Z., Awad H.M., Sattar M.N., Tohamy A.M. et al.* Genotypic and Phenotypic Structure of the Population of *Phytophthora infestans* in Egypt Revealed the Presence of European Genotypes // *J. Fungi*. – 2022. – V. 8 (5). – P. 468. <https://doi.org/10.3390/jof8050468>
3. *EuroBlight 12-plex SSR genotyping of Phytophthora infestans*. – 2020. – 25 p.
https://agro.au.dk/fileadmin/euroblight/Protocols/12plex_genotyping_Protocol_Apr_2020.pdf
4. *Fry W.E.* *Phytophthora infestans*: the itinerant invader; “late blight” the persistent disease // *Phytoparasitica*. – 2020. – V. 48. – P. 87–94. DOI:10.1007/s12600-019-00778-3
5. *Ghislain M., Byarugaba A.A., Magembe E., Njoroge A. et al.* Stacking three late blight resistance genes from wild species directly into African highland potato varieties confers complete field resistance to local blight races // *Plant Biotechnology Journal*. – 2019. – V. 17. – P. 1119–1129. doi: 10.1111/pbi.13042.
6. *Holiachuk Y., Kosylovych H.* Spread of Quarantine Plant Diseases and Phytonematodes in Ukraine // *Quarantine and plant protection*. – 2025. – № 1(280). – P. 20–28. <https://doi.org/10.36495/2312-0614.2024.2.21-28>
7. *ISO 21571:2005 Foodstuffs — Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products — Nucleic acid extraction [Чинний від 2013-03].* Видання офіційне International Standard Organisation. – 2013. – 10 p.
<https://cdn.standards.iteh.ai/samples/56166/eff265102d8345bda8ad40161fa73886/ISO-21571-2005-Amd-1-2013.pdf>
8. *Janiszewska M., Sobkowiak S., Stefanczyk E., Sliwka J.* Population structure of *Phytophthora infestans* from a single location in Poland over a long period of time in context of weather conditions // *Microb. Ecol.* – 2021. – V. 81. – P. 746–757 <https://link.springer.com/article/10.1007/s00248-020-01630-6>
9. *Loukas I., Kanetis L.I., Pittas L., Nikoloudakis N. et al.* Characterization of *Phytophthora infestans* Populations in Cyprus, the Southernmost Potato-Producing European Country // *Plant Disease*. – 2021. – V. 11. – P. 3407–3417. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-20-2694-RE>
10. *Lubis Y.F., Hasanuddin Y., Safni I.* The effectively test of the metalaxyl on different concentrations and application intervals to *Phytophthora infestans* that caused potato late blight in the wet season in the Karo highlands // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. – 2021. – V. 782. – Issue 4. DOI:10.1088/1755-1315/782/4/042021
11. *Maurice S., Montes M.S., Nielsen B.J. et al.* Population genomics of an outbreak of the potato late blight pathogen, *Phytophthora infestans*, reveals both clonality and high genotypic diversity // *Mol. Plant Pathol.* – 2019. – V. 20. – P. 1134–1146. DOI: 10.1111/mpp.12819
12. *Nobuyuki S., Hisashi O., Seishi A., Akiha U. et al.* An Easy Direct Zoospore Sampling Method for Collecting *Phytophthora infestans* Isolates // *J.Res. Fac.Agr. Hokkaido Univ.* – 2019. – Vol. 74. – P. 1–5. <http://hdl.handle.net/2115/73697>



13. Saville A.C., La Spada F., Faedda R., Migheli Q. et al. Population structure of *Phytophthora infestans* collected on potato and tomato in Italy. *Plant Pathol.* – 2021. – V. 70. – P. 2165–2178 <https://dx.doi.org/10.1111/ppa.13444>
14. Shchetina S., Mostoviyak I., Fedorenko V. Phytosanitary state of open-field vegetable crop agroecosystems of the genus *Solanum*, *Raphanus*, *Brassica* in the central part of the Right-Bank Forest-Steppe of Ukraine // *Quarantine and plant protection.* – 2023. – № 4(275). – P. 32–38.
DOI: <https://doi.org/10.36495/2312-0614.2023.4.32-38>
15. Stroud J.A., Shaw D.S., Hale M.D., Steele K.A. SSR assessment of *Phytophthora infestans* populations on tomato and potato in British gardens demonstrates high diversity but no evidence for host specialization // *Plant Pathol.* – 2016. – V. 65. – P. 334–341. DOI:10.1111/ppa.12407
16. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11 // *Molecular Biology and Evolution.* – 2021. – V. 38. – P. 3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>

REFERENCES

1. Cooke DEL, Kessel GJT, Lassen P, Hansen JG The European population of *Phytophthora infestans* in a global context. *Proceedings of the seventeenth EuroBlight workshop. WUR-special report.* 2019;9:35–36.
https://agro.au.dk/fileadmin/euroblight/Workshops/York/Presentations_and_posters/Proceedings/2._David_Cooke-p35-36.pdf
2. El-Ganainy SM, Iqbal Z, Awad HM, Sattar MN, Tohamy AM et al. Genotypic and phenotypic structure of the population of *phytophthora infestans* in Egypt revealed the presence of European genotypes. *J. Fungi.* 2022;8(5):468. <https://doi.org/10.3390/jof8050468>
3. EuroBlight 12-plex SSR genotyping of *Phytophthora infestans*. 2020;25.
https://agro.au.dk/fileadmin/euroblight/Protocols/12plex_genotyping_Protocol_Apr_2020.pdf
4. Fry WE *Phytophthora infestans*: the itinerant invader; “late blight” the persistent disease. *Phytoparasitica.* 2020;48:87–94.
<https://doi.org/10.1007/s12600-019-00778-3>
5. Ghislain M, Byarugaba AA, Magembe E, Njoroge A et al. Stacking three late blight resistance genes from wild species directly into African highland potato varieties confers complete field resistance to local blight races. *Plant Biotechnology Journal.* 2019;17:1119–1129. <https://doi.org/10.1111/pbi.13042>
6. Holiachuk Y, Kosylovyh H Spread of Quarantine Plant Diseases and Phytonematodes in Ukraine. *Quarantine and plant protection.* 2025;1(280):20–28. <https://doi.org/10.36495/2312-0614.2024.2.21-28>
7. ISO 21571:2005 Foodstuffs – Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products – Nucleic acid extraction [Valid from 2013-03]. Official Edition International Standard Organisation. 2013; 10. <https://cdn.standards.iteh.ai/samples/56166/eff265102d8345bda8ad40161fa73886/ISO-21571-2005-Amd-1-2013.pdf>
8. Janiszewska M, Sobkowiak S, Stefanczyk E, Sliwka J Population structure of *Phytophthora infestans* from a single location in Poland over a long period



- of time in context of weather conditions. *Microb. Ecol.* 2021;81:746–757. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00248-020-01630-6>
9. Loukas I, Kanetis LI, Pittas L, Nikoloudakis N et al. Characterization of *Phytophthora infestans* Populations in Cyprus, the Southernmost Potato-Producing European Country. *Plant Disease.* 2021;11:3407–3417. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-20-2694-RE>
 10. Lubis YF, Hasanuddin Y, Safni I The effectively test of the metalaxyl on different concentrations and application intervals to *Phytophthora infestans* that caused potato late blight in the wet season in the Karo highlands. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.* 2021;782(4). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/782/4/042021>
 11. Maurice S, Montes MS, Nielsen BJ et al. Population genomics of an outbreak of the potato late blight pathogen, *Phytophthora infestans*, reveals both clonality and high genotypic diversity. *Mol. Plant Pathol.* 2019;20:1134–1146. <https://doi.org/10.1111/mpp.12819>
 12. Nobuyuki S, Hisashi O, Seishi A, Akiha U et al. An easy direct zoosporangia sampling method for collecting *Phytophthora infestans* isolates. *J. Res. Fac. Agr. Hokkaido Univ.* 2019;74:1–5. <http://hdl.handle.net/2115/73697>
 13. Saville AC, La Spada F, Faedda R, Migheli Q et al. Population structure of *Phytophthora infestans* collected on potato and tomato in Italy. *Plant Pathol.* 2021;70:2165–2178. <https://doi.org/10.1111/ppa.13444>
 14. Shchetina S, Mostoviak I, Fedorenko V Phytosanitary state of open-field vegetable crop agroecosystems of the genus *Solanum*, *Raphanus*, *Brassica* in the central part of the Right-Bank Forest-Steppe of Ukraine. *Quarantine and plant protection.* 2023;4(275):32–38. <https://doi.org/10.36495/2312-0614.2023.4.32-38>
 15. Stroud JA, Shaw DS, Hale MD, Steele KA SSR assessment of *Phytophthora infestans* populations on tomato and potato in British gardens demonstrates high diversity but no evidence for host specialization. *Plant Pathol.* 2016;65:334–341. <https://doi.org/10.1111/ppa.12407>
 16. Tamura K, Stecher G, Kumar S MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution.* 2021;38:3022–3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>

Стаття надійшла до редакції 21.11.2025 р.



Г. В. Ямборко, І. В. Страшнова, С. І. РакитськаОдеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Змієнка Всеволода, 2, м. Одеса, 65082, Україна,
e-mail: jamborkoann@ukr.net**ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗБЕРІГАННЯ ШТАМІВ МОЛОЧНО-
КИСЛИХ БАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ ІЗ ГІДРОБІОНТІВ
ЧОРНОГО МОРЯ, РІЗНИМИ МЕТОДАМИ**

Широке використання молочнокислих бактерій (МКБ) у харчовій, фармацевтичній та біотехнологічній промисловості актуалізує проблему вибору оптимальних методів їх тривалого зберігання з мінімальною втратою життєздатності та цінних біотехнологічних властивостей. **Мета роботи** – порівняти ефективність різних методів зберігання штамів МКБ морського походження, виділених із губок *Haliclona* sp. та мідій *Mytilus galloprovincialis* Чорного моря. **Матеріали і методи.** Досліджено 14 штамів МКБ (*Lentilactobacillus parabuchneri*, *Loigolactobacillus bifermantans*, *Leuconostoc mesenteroides*), які зберігали трьома методами: субкультивуванням, під шаром вазелінової олії та методом низькотемпературного заморожування у MRS-бульйоні з 30% гліцерином. Життєздатність (КУО/см³) та основні біологічні властивості оцінювали на початку та через 3, 6, 9 і 12 місяців зберігання. **Результати.** Початкова кількість життєздатних клітин становила $34,2 \times 10^9$ – $96,3 \times 10^9$ КУО/см³. Упродовж 12 місяців для всіх способів фіксували поступове зниження життєздатності, проте метод низькотемпературного заморожування забезпечував збереження не менше ніж 10^7 КУО/см³ усіх штамів. Після 9–12 місяців зберігання відмічали зворотні зміни морфології й тінкторіальних властивостей та подовження терміну культивування до 48 год. Активність кислотоутворення при сквашуванні молока знижувалася: рН змінювався з 5,4–6,0 до 5,9–6,6, титрована кислотність – із 42,6–68,2 до 32,5–52,4 °Т. **Висновки.** Для тривалого лабораторного зберігання МКБ морського походження найбільш ефективним є низькотемпературне заморожування, яке забезпечує збереження життєздатності, біологічних властивостей і кислотоутворювальної активності штамів.

Ключові слова: методи зберігання, молочнокислі бактерії, морські штами, біологічні властивості, активність кислотоутворення.

Зберігання мікроорганізмів у колекціях забезпечують збереження ресурсів мікробної різноманітності та роблять їх доступними для використання в наукових дослідженнях. Для тривалого зберігання мікроорганізмів без втрати цінних властивостей застосовують методи, які забезпечують суттєве гальмування життєвих процесів. При цьому потрібно враховувати максимально можливий час зберігання культури та надійність методів [11, 14].

© Г. В. Ямборко, І. В. Страшнова, С. І. Ракитська, 2025



У своїй роботі бактеріологи щодня стикаються із потребою зберігати мікроорганізми протягом тривалого часу для забезпечення життєдіяльності мікробних клітин та чистоти культур, попередження змін їх властивостей і мутацій. Практика консервації та розконсервації мікроорганізмів дала змогу напрацювати низку емпіричних заходів, заснованих на знанні механізмів занурення клітин у анабіотичний стан та виходу з нього. Однак ефективна консервація з повним збереженням популяцій і геномів різноманітних мікроорганізмів є поки що не вирішеною проблемою, яка потребує подальшого вивчення [4, 11, 15].

Актуальним залишається питання збереження життєздатності й активності досить численної групи молочнокислих бактерій (МКБ). Здавна ці бактерії були і залишаються об'єктами науково-практичних досліджень мікробіологів і біотехнологів. МКБ використовуються у багатьох галузях харчової і фармацевтичної промисловості як заквасочні та/або пробіотичні культури [9, 10].

Окрім молочної кислоти, як основного продукту метаболізму, молочнокислі бактерії синтезують інші цінні метаболіти, що зумовлює їх використання у біотехнологіях. Однак ці бактерії є досить вибагливими як щодо культивування, так і до збереження життєздатності й метаболічної активності в лабораторних умовах. Тому дослідження наявних і розробка нових методів для забезпечення життєздатності та розширеної функціональності культур молочнокислих бактерій у лабораторних умовах має дуже важливе значення [16, 17].

Серед МКБ багатообіцяючими є перспективи використання культур, ізольованих з морського середовища. Ці бактерії, адаптовані до екстремальних умов морського середовища (висока солоність, низькі температури, високий тиск), характеризуються значною генетичною та біохімічною різноманітністю та є потенційним джерелом унікальних біоактивних сполук, які не продукують їхні наземні аналоги [12].

Метою роботи було дослідити ефективність зберігання штамів молочнокислих бактерій, виділених із гідробіонтів Чорного моря, різними методами. В завдання дослідження входило:

1. Визначити кількість життєздатних клітин молочнокислих бактерій видів *Lentilactobacillus parabuchneri*, *Loigolactobacillus bif fermentans* і *Leuconostoc mesenteroides* на початку і протягом 12 місяців зберігання методами субкультивування, під шаром вазелінової олії та низькотемпературного заморожування.

2. Дослідити культуральні, морфологічні, тінкторіальні і фізіолого-біохімічні властивості бактерій штамів молочнокислих бактерій на початку і протягом 12-місячного періоду зберігання.

3. Визначити активність кислотоутворення у досліджуваних штамів молочнокислих бактерій на початку і через 12 місяців зберігання методом низькотемпературного заморожування.

Матеріали і методи

Матеріалом дослідження були 14 штамів молочнокислих бактерій із Колекції морських та корисних для екологічної біотехнології штамів мікроорганізмів Одеського національного університету імені І. І. Мечникова. МКБ були виділені із морського середовища у 2019 р.: 12 штамів – із губок *Haliclona sp.*, 2 штами – із мідій *Mytilus galloprovincialis*. На основі вивчення біологічних властивостей культури виділених бактерій віднесено до видів 7 штамів *Lentilactobacillus parabuchneri* (*L. parabuchneri* МЛБ 8_2а, МЛБ 10_1, МЛБ 19_2б, МЛБ 25_1, МЛБ 25_2, МЛБ 39_1а, МЛБ 52_2а), 5 штамів *Loigolactobacillus bifermentans* (*L. bifermentans* МЛБ 10_2, МЛБ 19_2а, МЛБ 52_1б, МЛБ 53_1, МЛБ 68_1а) [6] і 2 штами *Leuconostoc mesenteroides* (*L. mesenteroides* LM 30, LM 31) [1, 6].

Штами МКБ закладено на зберігання: 1) методом субкультивування (періодичних пересівів на скошене свіжоприготоване живильне середовище MRS у пробірках) при 4 °С; 2) під шаром вазелінової олії у стовпчику середовища MRS у пробірках при 4 °С; 3) у рідкому середовищі MRS з гліцерином (кінцева концентрація гліцерину 30,0%) у кріопробірках при -84 °С.

Життєздатність та біологічні властивості культур досліджували на початку зберігання, через 3, 6, 9 і 12 місяців.

Для визначення кількості життєздатних клітин МКБ при зберіганні усіма зазначеними методами готували суспензії бактерій відповідних штамів за стандартом мутності Макфарланда ($1,5 \times 10^8$ КУО/см³), потім, використовуючи метод серійних розведень, готували робочі розведення (10^{-6} , 10^{-5}), 0,1 см³ яких висівали на чашки із агаризованим середовищем MRS. Посіви культивували при 37 °С протягом 24–48 год. Облік результатів проводили, підраховуючи кількість колонієутворювальних одиниць [2, 3].

Кожного разу, визначаючи життєздатність закладених на зберігання культур, визначали їх бактеріологічну чистоту. Для цього досліджували однотипність і морфологічні ознаки колоній, що виростили на агаризованому середовищі MRS; характер росту у рідкому середовищі MRS; тінкторіальні властивості при забарвлюванні за методом Грама; біохімічні властивості (каталазну та оксидазну активності, здатність до утворення індолу, сірководню, нітратредукції, окиснення/ферментації глюкози).

Здатність утворювати органічні кислоти оцінювали за активною і граничною кислотністю [3].

Визначення граничної кислотності проводили титриметричним методом і виражали у градусах Тернера. Культури досліджуваних штамів засівали в стерильне знежирене молоко (0,25 см³ суспензії культури відповідного штаму у титрі 10^8 КУО/см³ у 5,0 см³ молока) та інкубували 24 год при температурі 37 °С. Визначення було засноване на титруванні кислот, що виділяються МКБ у середовище культивування, розчином NaOH. Точку еквівалентності встановлювали за допомогою індикатора фенолфталеїну. Один °Т відповідав 1 см³ 0,1 М розчину NaOH, що використано на нейтралізацію суміші. Кількість луку, яка пішла на титрування, визначали за поділками бюретки та розраховували кислотність за стандартною формулою [3].



Визначення активної кислотності проводили потенціометричним методом з використанням рН-метра SX811. Вимірювання рН проводили після 24 годинного культивування досліджуваних штамів у стерильному знежиреному молоці при 37 °С.

Дослідження виконувалися у трикратному повторі. Достовірність результатів оцінювали за критерієм Стьюдента з вірогідністю $p < 0,05$. Для аналізу результатів проведено описову статистику, яку здійснювали за допомогою програми Microsoft Office Excel-2016.

Результати та їх обговорення

Із урахуванням специфічних джерел виділення (гідробіонти Чорного моря) досліджуваних штамів МКБ доцільним було з'ясувати, які методи зберігання дозволяють забезпечити виживання значної кількості їх клітин у лабораторних умовах.

Усі штами МКБ були закладені на зберігання трьома методами: субкультивуванням і під шаром вазелінової олії на MRS-агарі при 4 °С; у MRS-бульйоні з гліцерином при -84 °С.

Перед початком зберігання вивчали основні біологічні властивості штамів МКБ і кількість життєздатних клітин.

У таблиці 1, як приклад, наведено результати вивчення морфологічних і культуральних властивостей бактерій штамів *Lentilactobacillus parabuchneri* МЛБ 25_1, *Loigolactobacillus bifermentans* МЛБ 52_16 і *Leuconostoc mesenteroides* LM 30, які є представниками трьох досліджених видів.

Штами виду *Lentilactobacillus parabuchneri* (*L. parabuchneri* МЛБ 8_2а, МЛБ 10_1, МЛБ 19_2б, МЛБ 25_1, МЛБ 25_2, МЛБ 39_1а, МЛБ 52_2а) на агаризованому живильному середовищі MRS утворювали невеликі до 2 мм діаметром слизові, білі або напівпрозорі округлі колонії. Клітини цих штамів мали форму паличок, що суттєво відрізнялися за довжиною (від довгих до коротких, що нагадували кокобацили) і розташуванням у препаратах (від поодиноких клітин до скупчень). Клітини забарвлювалися у фіолетовий колір при забарвленні за Грамом (тобто були грампозитивними), не утворювали спор, цист і капсул. Ріст штамів цього виду у рідкому середовищі MRS був добре вираженим в усьому об'ємі середовища і характеризувався значним помутнінням.

Так само як штами *L. parabuchneri*, представники виду *Loigolactobacillus bifermentans* (штами *L. bifermentans* МЛБ 10_2, МЛБ 19_2а, МЛБ 52_16, МЛБ 53_1, МЛБ 68_1а) добре росли як на щільному, так і у рідкому середовищі MRS, утворюючи на MRS-агарі, як правило, округлі (до 2,5 мм діаметром) блискучі напівпрозорі або білі колонії; у MRS-бульйоні – значне помутніння та осад.

Клітини досліджених штамів *L. bifermentans* також характеризувалися вираженим поліморфізмом. За даними літературних джерел [16, 17], морфологічне різноманіття є досить поширеним явищем серед представників родини *Lactobacillaceae*. Клітини досліджених штамів були грампозитивними, але з віком інтенсивність забарвлення зменшувалася, у порівнянні з молодими культурами.

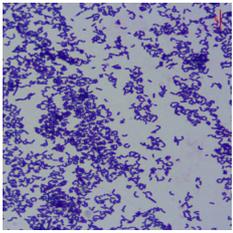
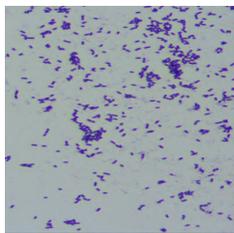
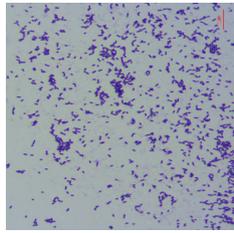
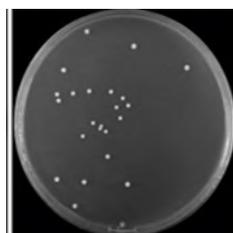
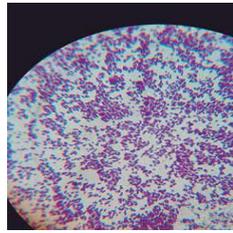


Таблиця 1

Table 1

Морфологічні та культуральні властивості досліджених МКБ

Morphological and cultural properties of the studied LAB

Штам	Ознаки/Властивості	Колонії на середовищі MRS	Морфологія клітин (збільшення x1000)
<i>Lentilactobacillus parabuchneri</i> МЛБ 25_1	Колонії 1,5–2 мм, округлі, білі, блискучі. Клітини – паличкоподібні (0,8–1,0 × 1,5–2,5 мкм), грампозитивні, в препаратах зустрічалися поодинокі, парами або ланцюжками.		
<i>Loigolactobacillus bifementans</i> МЛБ 52_16	Колонії 1,8–2,3 мм, округлі, блискучі, білі. Клітини – грампозитивні нерухомі палички неправильної форми з закругленими або звуженими кінцями (0,5–1,0 × 1,3–2,0 мкм), розташовувалися поодинокі, парами або скупченнями.		
<i>Leiconostoc mesenteroides</i> ЛМ 30	Колонії 0,8–1,0 мм, округлі, блискучі, кремові. Клітини – нерухомі коки (0,5–0,8 мкм), грампозитивні, розташовувалися попарно чи короткими ланцюжками.		

Штами *L. parabuchneri* і *L. bifermentans* мали схожі досліджені біохімічні властивості: були каталазо- і оксидазонегативними; не відновлювали нітрати; споживали глюкозу в аеробних і анаеробних умовах; не утворювали індол і сірководень.

При дослідженні штамів *Leuconostoc mesenteroides* (*L. mesenteroides* LM 30, LM 31) встановлено, що вони добре ростуть на MRS-агарі, утворюючи дрібні до 1,2 мм діаметром молочні, блискучі колонії, і завдяки утворенню летких сполук (за даними літератури [5, 8, 19], швидше за все, це може бути діацетил) мали приємний запах вершкового масла. У MRS-бульйоні спостерігали рівномірне помутніння дещо слизової консистенції. У забарвлених за методом Грама препаратах відзначали наявність грампозитивних клітин, кулястої або лінзовидної форми, розташованих попарно чи короткими ланцюжками, що нагадували ланцюжки стрептококів. Не утворювали спор, цист і капсул. Визначені біохімічні властивості показали відсутність каталазної, оксидазної і нітратредуктазної активності, здатність до окиснення і ферментації глюкози з утворенням газу, не спроможність до утворення індолу і сірководню.

Кількість життєздатних бактерій усіх досліджених штамів була високою і коливалася від $34,2 \pm 6,9 \times 10^9$ КУО/см³ (визначено для штаму *L. parabuchneri* МЛБ 39_1а) до $96,3 \pm 5,1 \times 10^9$ КУО/см³ (визначено для штаму *L. bifermentans* МЛБ 68_1а) (табл. 2).

Таблиця 2

Кількість життєздатних клітин штамів МКБ на початку зберігання

Table 2

Quantity of viable cells of LAB strains at the beginning of storage

Штам	Кількість життєздатних клітин ($\times 10^9$, КУО/см ³)	Штам	Кількість життєздатних клітин ($\times 10^9$, КУО/см ³)
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 8_2а	41,2 ± 3,5	<i>L. bifermentans</i> МЛБ 10_2	61,6 ± 2,9
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 10_1	54,2 ± 4,1	<i>L. bifermentans</i> МЛБ 19_2а	74,4 ± 5,1
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 19_2б	37,8 ± 7,8	<i>L. bifermentans</i> МЛБ 52_1б	59,7 ± 4,9
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 25_1	43,4 ± 5,1	<i>L. bifermentans</i> МЛБ 53_1	59,4 ± 5,2
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 25_2	52,5 ± 4,6	<i>L. bifermentans</i> МЛБ 68_1а	96,3 ± 5,1
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 39_1а	34,2 ± 6,9	<i>L. mesenteroides</i> LM 30	60,7 ± 4,3
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 52_2а	39,8 ± 3,5	<i>L. mesenteroides</i> LM 31	59,8 ± 4,7

Порівнюючи показник життєздатних клітин для штамів трьох видів МКБ, зауважимо, що кращу життєздатність в однакових (уніфікованих) лабораторних умовах (температура і час культивування – 37 °С, 24 год, середовище для культивування – MRS) проявили штамми виду *L. bifermentans*.



Кількість життєздатних бактерій штамів цього виду коливалася від $59,4 \pm 5,2 \times 10^9$ КУО/см³ (визначено для *L. bif fermentans* МЛБ 53_1) до $96,3 \pm 5,1 \times 10^9$ КУО/см³ (визначено для *L. bif fermentans* МЛБ 68_1a). Досить високу життєздатність проявили також штами виду *L. mesenteroides*. При чому кількість життєздатних бактерій обидвох штамів була приблизно 60×10^9 КУО/см³. Найменша життєздатність в лабораторних умовах встановлена для штамів *L. parabuchneri*. Кількість життєздатних бактерій штамів цього виду не перевищувала $54,2 \pm 4,1 \times 10^9$ КУО/см³ (у *L. parabuchneri* МЛБ 10_1).

Через 3 місяці зберігання усіма використаними методами кількість життєздатних клітин усіх штамів МКБ дещо знизилася (табл. 3). Але якщо кількість життєздатних клітин паличкоподібних МКБ (представники родів *Lentilactobacillus* і *Loigolactobacillus*) з використанням усіх методів встановлена на рівні 10^9 КУО/см³, то кулеподібні бактерії (*Leuconostoc mesenteroides*) життєздатність на такому рівні демонстрували при збереженні методами субкультивування і низькотемпературного заморожування.

При зберіганні під шаром вазелінової олії вже через 3 місяці кількість життєздатних клітин *L. mesenteroides* LM 30 і LM 31 зменшувалася на 2 порядки, у порівнянні з цим показником перед початком зберігання. Зауважимо, що через цей проміжок часу усі штами МКБ зберегли незмінними основні біологічні властивості.

Через 6 місяців зберігання методами субкультивування і низькотемпературного заморожування кількість життєздатних клітин бактерій видів *L. parabuchneri* і *L. bif fermentans* несуттєво зменшилася, порівнюючи з цим показником на початку зберігання і через 3 місяці зберігання (табл. 2, 3). Значно гірші показники були отримані при визначенні кількості життєздатних клітин МКБ при зберіганні під шаром вазелінової олії. Так, для штамів виду *L. parabuchneri* цей показник визначений у межах $44,6 \pm 4,2 \times 10^8$ КУО/см³ (*L. parabuchneri* МЛБ 10_1) – $47,1 \pm 3,9 \times 10^6$ КУО/см³ (*L. parabuchneri* МЛБ 39_1a); для штамів виду *L. bif fermentans* – у межах $12,7 \pm 2,9 \times 10^8$ КУО/см³ (*L. bif fermentans* МЛБ 10_2) – $16,6 \pm 2,9 \times 10^7$ КУО/см³ (*L. bif fermentans* МЛБ 19_2a). При цьому, незважаючи на збільшення терміну культивування (до 48 год), основні біологічні властивості залишилися незмінними.

Досить показовими були результати, отримані через 9 місяців зберігання штамів МКБ. При зберіганні субкультивуванням через 9 місяців кількість життєздатних бактерій визначена на рівні 10^8 КУО/см³.

Найменшу кількість життєздатних клітин визначено для штаму *L. parabuchneri* МЛБ 39_1a ($44,5 \pm 5,1 \times 10^7$ КУО/см³). Відмічали як подовжений термін культивування (для окремих штамів більше 48 год), так і певні зміни морфологічних ознак у бактерій видів *L. parabuchneri* і *L. bif fermentans*.

Значно зменшилася кількість життєздатних клітин бактерій усіх штамів при зберіганні під шаром вазелінової олії. У найбільш чутливих штамів (*L. parabuchneri* МЛБ 25_1, МЛБ 39_1a, МЛБ 52_2a, *L. bif fermentans* МЛБ 19_2a, МЛБ 52_16, МЛБ 53_1 і *L. mesenteroides* LM 30) кількість бактерій, що вижили, була на рівні 10^5 КУО/см³. Попри те, що життєздатність бактерій усіх штамів суттєво знизилася при зберіганні цим способом, од-



Таблиця 3

Table 3

Кількість життєздатних клітин МКБ (КУО/см³) у процесі зберігання різними способамиQuantity of viable LAB cells (CFU/cm³) during storage using different methods

Штам	Субкультивування				Під шаром вазелінової олії				Низькотемпературне заморожування			
	3 міс.	6 міс.	9 міс.	12 міс.	3 міс.	6 міс.	9 міс.	12 міс.	3 міс.	6 міс.	9 міс.	12 міс.
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 8_2а	40,3±3,6 x 10 ⁹	32,8±2,7 x 10 ⁹	42,4±3,6 x 10 ⁸	23,1±4,0 x 10 ⁶	43,6±4,8 x 10 ⁸	37,3±3,8 x 10 ⁷	30,1±2,6 x 10 ⁶	23,7±2,6 x 10 ⁵	40,5±2,7 x 10 ⁹	40,4±3,2 x 10 ⁸	38,6±4,0 x 10 ⁸	65,6±3,2 x 10 ⁷
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 10_1	54,0±4,0 x 10 ⁹	24,8±3,6 x 10 ⁹	9,3±3,6 x 10 ⁹	12,4±4,8 x 10 ⁸	11,2±3,0 x 10 ⁹	44,6±4,2 x 10 ⁸	86,8±4,4 x 10 ⁶	14,8±2,6 x 10 ⁶	54,2±3,8 x 10 ⁹	49,2±4,1 x 10 ⁹	49,4±3,9 x 10 ⁹	67,5±4,3 x 10 ⁷
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 19_26	35,5±4,3 x 10 ⁹	66,9±2,8 x 10 ⁸	21,7±2,9 x 10 ⁸	23,3±4,2 x 10 ⁶	35,6±4,5 x 10 ⁸	44,1±3,9 x 10 ⁷	12,6±3,3 x 10 ⁶	53,9±2,9 x 10 ⁵	38,0±4,4 x 10 ⁹	36,8±4,0 x 10 ⁹	55,6±4,7 x 10 ⁸	45,8±3,2 x 10 ⁷
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 25_1	36,2±4,2 x 10 ⁹	9,4±3,8 x 10 ⁹	47,5±3,9 x 10 ⁸	33,0±3,6 x 10 ⁶	34,7±5,1 x 10 ⁸	45,6±4,4 x 10 ⁷	97,2±4,8 x 10 ⁵	44,5±4,3 x 10 ⁵	43,0±2,9 x 10 ⁹	40,8±3,4 x 10 ⁹	32,1±4,2 x 10 ⁹	58,3±2,9 x 10 ⁷
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 25_2	46,2±4,0 x 10 ⁹	34,5±4,4 x 10 ⁹	67,7±4,8 x 10 ⁸	10,3±3,9 x 10 ⁸	49,2±4,9 x 10 ⁸	62,1±3,3 x 10 ⁷	42,9±4,4 x 10 ⁶	34,3±3,6 x 10 ⁵	52,1±4,0 x 10 ⁹	44,4±2,3 x 10 ⁹	42,9±2,3 x 10 ⁹	61,8±3,8 x 10 ⁷
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 39_1а	24,6±4,7 x 10 ⁹	12,7±4,4 x 10 ⁹	44,5±5,1 x 10 ⁷	9,3±6,5 x 10 ⁷	35,9±7,0 x 10 ⁸	47,1±3,9 x 10 ⁶	26,8±5,1 x 10 ⁵	34,8±4,9 x 10 ⁴	30,1±5,6 x 10 ⁹	23,7±4,6 x 10 ⁹	56,9±5,6 x 10 ⁸	37,8±5,4 x 10 ⁷
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 52_2а	35,5±2,9 x 10 ⁹	7,6±3,3 x 10 ⁹	43,1±3,6 x 10 ⁸	13,9±3,9 x 10 ⁷	25,5±3,4 x 10 ⁸	69,4±3,8 x 10 ⁶	44,7±3,2 x 10 ⁵	39,1±2,8 x 10 ⁴	38,2±3,9 x 10 ⁹	35,0±3,7 x 10 ⁹	28,7±3,5 x 10 ⁹	44,1±4,6 x 10 ⁷
<i>L. bifementans</i> МЛБ 10_2	59,4±2,9 x 10 ⁹	10,3±3,6 x 10 ⁹	78,6±5,2 x 10 ⁸	15,9±4,5 x 10 ⁸	37,2±2,9 x 10 ⁹	12,7±2,9 x 10 ⁸	19,3±5,2 x 10 ⁶	81,6±2,9 x 10 ⁴	54,4±2,1 x 10 ⁹	53,1±3,4 x 10 ⁹	50,4±3,39 x 10 ⁹	68,8±3,7 x 10 ⁷
<i>L. bifementans</i> МЛБ 19_2а	57,8±3,4 x 10 ⁹	92,4±3,6 x 10 ⁸	11,9±3,6 x 10 ⁸	86,2±3,1 x 10 ⁷	67,5±2,4 x 10 ⁸	16,6±2,5 x 10 ⁷	43,1±4,7 x 10 ⁵	9,2±3,5 x 10 ⁴	72,3±2,7 x 10 ⁹	68,7±3,1 x 10 ⁹	64,9±2,3 x 10 ⁹	87,7±3,3 x 10 ⁷
<i>L. bifementans</i> МЛБ 52_16	44,2±4,8 x 10 ⁹	20,7±3,9 x 10 ⁹	31,5±3,9 x 10 ⁸	30,9±4,5 x 10 ⁷	36,3±4,9 x 10 ⁸	44,7±2,6 x 10 ⁷	16,6±4,1 x 10 ⁵	34,7±3,8 x 10 ⁴	55,9±3,7 x 10 ⁹	50,7±4,0 x 10 ⁹	46,2±3,6 x 10 ⁹	44,3±4,1 x 10 ⁷
<i>L. bifementans</i> МЛБ 53_1	36,8±2,6 x 10 ⁹	10,5±3,1 x 10 ⁹	35,4±2,8 x 10 ⁸	27,4±3,3 x 10 ⁷	30,6±3,8 x 10 ⁸	42,9±3,5 x 10 ⁷	88,5±4,1 x 10 ⁵	16,9±3,8 x 10 ⁴	57,7±2,1 x 10 ⁹	51,6±3,4 x 10 ⁹	50,2±2,5 x 10 ⁹	50,9±4,8 x 10 ⁷
<i>L. bifementans</i> МЛБ 68_1а	70,2±4,3 x 10 ⁹	28,6±3,2 x 10 ⁹	43,5±3,4 x 10 ⁸	28,4±2,9 x 10 ⁷	8,9±3,9 x 10 ⁹	91,2±2,8 x 10 ⁷	17,7±4,3 x 10 ⁶	97,8±3,8 x 10 ³	94,0±3,4 x 10 ⁹	84,7±4,5 x 10 ⁹	63,8±2,7 x 10 ⁹	77,4±2,3 x 10 ⁷
<i>L. mesenteroides</i> LM 30	23,7±2,3 x 10 ⁹	57,8±3,6 x 10 ⁸	12,2±3,7 x 10 ⁸	61,0±3,7 x 10 ⁷	44,1±4,1 x 10 ⁷	60,9±3,7 x 10 ⁶	49,4±2,9 x 10 ⁵	68,8±3,0 x 10 ⁴	54,9±3,9 x 10 ⁹	51,6±2,2 x 10 ⁹	48,5±4,8 x 10 ⁹	15,1±2,7 x 10 ⁷
<i>L. mesenteroides</i> LM 31	32,7±2,8 x 10 ⁹	15,4±3,1 x 10 ⁹	44,1±4,3 x 10 ⁸	46,7±2,9 x 10 ⁷	23,7±2,3 x 10 ⁷	51,4±2,9 x 10 ⁶	10,1±3,4 x 10 ⁶	12,7±2,5 x 10 ⁵	50,6±3,2 x 10 ⁹	47,7±2,7 x 10 ⁹	38,1±2,7 x 10 ⁹	5,3±4,6 x 10 ⁷



нак показник кількості життєздатних клітин бактерій видів *L. bifementans* і *L. mesenteroides* був меншим, ніж у *L. parabuchneri*.

На наш погляд, це пов'язано із фізіологічними властивостями представників цих видів. Будучи анаеробами представники виду *L. parabuchneri* краще зберігаються під шаром вазелінової олії, ніж факультативно-анаеробні бактерії видів *L. bifementans* і *L. mesenteroides*, у яких життєві процеси при такому способі зберігання або дуже гальмуються, або взагалі найбільш слабкі клітини, які є в кожній популяції бактерій, гинуть. При значному зменшенні кількості життєздатних клітин мова не може йти про аутентичність популяції клітин певного штаму, оскільки відбувається свого роду селекція, коли виживають найсильніші/найбільш життєздатні, а інші, слабші, члени мікробної популяції відмирають.

При низькотемпературному зберіганні через 9 місяців лише у двох штамів (*L. parabuchneri* МЛБ 8_2а і *L. parabuchneri* МЛБ 19_2б) кількість життєздатних бактерій зменшилася до рівня 10^8 КУО/см³, життєздатність інших штамів зменшилася мало у порівнянні із життєздатністю до початку зберігання, і визначена на рівні 10^9 КУО/см³. Гарний ріст усіх бактерій усіх штамів відмічали через 48 год культивування, морфологічні, культуральні і фізіолого-біохімічні властивості були подібні до таких на початку культивування.

Через 12 місяців зберігання методом субкультивування кількість життєздатних бактерій усіх штамів коливалася від $23,1 \pm 4,0 \times 10^6$ КУО/см³ (визначено для *L. parabuchneri* МЛБ 8_2а) до $15,9 \pm 4,5 \times 10^8$ КУО/см³ (для *L. bifementans* МЛБ 10_2). Порівнюючи із показником кількості життєздатних клітин на початку зберігання, через 12 місяців при зберіганні субкультивуванням цей показник для більшості штамів зменшився на 1–2 порядки, для трьох штамів *L. parabuchneri*: МЛБ 8_2а, МЛБ 10_1 і МЛБ 25_1 – на 3 порядки. Щодо основних біологічних властивостей, то спостерігали таку ж картину, як і після 9 місяців: тобто відмічали певні зміни морфологічних і тінкторіальних властивостей. Окрім цього, відзначали уповільнення протікання біохімічних реакцій з інколи варіабельними результатами. Варто зазначити, що усі досліджені властивості відновлювалися, тобто поверталися до початкових, після декількох пересівів на свіжі живильні середовища.

При зберіганні під шаром вазелінової олії кількість життєздатних клітин бактерій усіх штамів суттєво зменшилася, навіть порівнюючи із кількістю живих клітин через 9 місяців. Більш ніж для половини штамів показник життєздатності не перевищував 10^4 КУО/см³, а для штаму *L. bifementans* МЛБ 68_1а був ще меншим і склав $97,8 \pm 3,8 \times 10^3$ КУО/см³.

Досить високою залишилася кількість життєздатних клітин бактерій усіх штамів через 12 місяців при низькотемпературному заморожуванні. Для усіх штамів цей показник визначений на рівні 10^7 КУО/см³. Однак, порівнюючи отримані дані з результатами попередніх перевірок (через 3, 6 і 9 місяців), відзначимо зниження життєздатності: кількість життєздатних клітин зменшилася на 2 порядки. На наш погляд, причиною цього стали часті випадки відключення світла у період досліджень, яке призвело до значних коливань температур у холодильнику, що згубно позначилося на життєздатності клітин і призвело до загибелі частини найбільш слабких із них. Коливання темпе-



ратури, коли показники багаторазово підіймаються до критичних значень і знову опускаються, призводить до постійної зміни стану води в мікробній клітині при внутрішньоклітинному утворенні льоду, який руйнує/травмує структурні компоненти клітин. Тим не менше, даний спосіб зберігання навіть в критичних умовах таких примхливих бактерій, як МКБ, зарекомендував себе як найбільш сприятливий та прийнятний. Отримані нами результати підтверджуються даними інших дослідників, які свідчать про ефективність даного способу при довготривалому зберіганні мікроорганізмів різних систематичних груп, у тому числі МКБ [14, 16].

Отже, для тривалого зберігання МКБ, виділених із морського середовища, в лабораторних умовах, можемо рекомендувати метод низькотемпературного заморожування; для нетривалого зберігання (наприклад, при проведенні експериментальних досліджень) – метод субкультивування.

Одними із основних продуктів метаболізму МКБ є органічні кислоти, і передусім, молочна, які відіграють значну, а часто визначальну, роль у прояві антагоністичних властивостей. Активність кислотоутворення в досліджуваних штамів МКБ визначали за показниками активної і титрованої кислотності, використовуючи стерильне знежирене молоко як субстрат. Отримані результати наведено у таблиці 4.

Таблиця 4

Активність кислотоутворення штамми МКБ на початку і через 12 місяців зберігання

Table 4

Acid-forming activity of LAB strains at the beginning and after 12 months of storage

Штам	На початку зберігання		Через 12 місяців зберігання	
	pH	°T	pH	°T
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 8_2a	5,5	63,0 ± 0,2	6,0	44,1 ± 0,1
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 10_1	5,4	63,2 ± 0,2	6,0	46,2 ± 0,2
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 19_26	5,4	63,3 ± 0,1	6,1	43,7 ± 0,2
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 25_1	5,6	58,6 ± 0,2	6,5	37,5 ± 0,2
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 25_2	5,5	62,7 ± 0,2	6,3	41,5 ± 0,2
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 39_1a	6,0	42,6 ± 0,1	6,6	32,7 ± 0,1
<i>L. parabuchneri</i> МЛБ 52_2a	5,4	64,0 ± 0,1	5,9	47,0 ± 0,2
<i>L. bifermantans</i> МЛБ 10_2	5,8	47,6 ± 0,1	6,6	32,5 ± 0,1
<i>L. bifermantans</i> МЛБ 19_2a	5,4	61,8 ± 0,1	5,9	46,8 ± 0,1
<i>L. bifermantans</i> МЛБ 52_16	5,5	62,9 ± 0,1	5,9	48,0 ± 0,1
<i>L. bifermantans</i> МЛБ 53_1	5,4	64,5 ± 0,2	5,7	52,1 ± 0,2
<i>L. bifermantans</i> МЛБ 68_1a	5,5	59,7 ± 0,2	6,3	41,9 ± 0,1
<i>L. mesenteroides</i> LM 30	5,5	68,2 ± 0,2	6,0	45,6 ± 0,2
<i>L. mesenteroides</i> LM 31	5,4	63,7 ± 0,2	5,8	52,4 ± 0,2



На початку зберігання значення активної кислотності (рН) при збродженні молока бактеріями усіх досліджених штамів визначено у межах 5,4–6,0. Значення титрованої кислотності згустку складало від $42,6 \pm 0,1$ °Т до $68,2 \pm 0,2$ °Т в залежності від досліджуваного штаму. Отримані дані узгоджуються із даними науковців ОНУ при дослідженні властивостей МКБ (зокрема і цих штамів) відразу після виділення із морських гідробіонтів [6]. За даними О. Й. Цісарик та колег [2018], показники титрованої кислотності від 40 °Т до 70 °Т свідчать про незначну кислотоутворювальну активність продуцентів [7].

Найбільша кислотоутворювальна активність встановлена для штаму *L. mesenteroides* LM 30: при сквашуванні молока активна кислотність становила 5,5, титрована – $68,2 \pm 0,2$ °Т. Це може бути пов'язано з його високою початковою швидкістю росту та ефективним гетероферментативним метаболізмом.

З урахуванням кількості життєздатних клітин МКБ після 12 місяців зберігання різними способами для визначення активності кислотоутворення були використані культури МКБ, що зберігалися при низькотемпературному заморожуванні. Значення активної кислотності молока при культивуванні у ньому МКБ підвищилися і визначено у межах 5,7 (для штаму *L. bifermantans* МЛБ 53_1) – 6,6 (для штаму *L. bifermantans* МЛБ 10_2). Загалом рН молока, ферментованого МКБ, підвищилося на 0,3–0,9 одиниць в залежності від дослідженого штаму. Натомість, зменшилися показники титрованої кислотності згустку. В залежності від штаму МКБ, цей показник коливався від $32,5 \pm 0,1$ °Т до $52,4 \pm 0,2$ °Т. З літературних джерел відомо, що кислотоутворювальна активність у МКБ варіює у широких межах і залежить від багатьох причин, серед яких, окрім виду і навіть штаму, значний вплив мають умови і способи зберігання [10, 11].

Так, при дослідженні штамів МКБ, виділених із гідробіонтів Чорного моря, що зберігаються у колекції культур мікроорганізмів ОНУ імені І. І. Мечникова, встановлено, що основні біологічні властивості відповідають як таким, що притаманні представникам видів *Lentilactobacillus parabuchneri*, *Loigolactobacillus bifermantans*, *Leuconostoc mesenteroides*.

При зберіганні у лабораторних умовах методами субкультивування, під шаром вазелінової олії і низькотемпературного заморожування протягом 12 місяців деякі властивості зазнавали зворотних змін. Через 9 місяців зберігання методами субкультивування і під шаром вазелінової олії спостерігали зміну морфології клітин паличкоподібних МКБ (штами видів *L. parabuchneri* і *L. bifermantans*) і дещо менше виражені тінкторіальні властивості. Через 12 місяців зберігання, окрім морфологічних і тінкторіальних варіацій відзначено уповільнення протікання біохімічних реакцій. Втім, декількаразові пересіви бактерій усіх штамів на свіжоприготоване живильне середовище MRS сприяли відновленню змінених властивостей.

Визначена кількість активних клітин на початку зберігання коливалася у межах $34,2 \pm 6,9 \times 10^9$ – $96,3 \pm 5,1 \times 10^9$ КУО/см³ в залежності від штаму і є свідченням їх високої життєздатності. Протягом 12-ти місячного зберігання



зазначеними методами кількість життєздатних клітин бактерій усіх штамів поступово зменшувалася. З урахуванням і аналізом даних, отриманих при оцінці життєздатності МКБ протягом 12-ти місячного періоду зберігання в лабораторних умовах, найбільш ефективним є метод низькотемпературного заморожування.

Досить важливою характеристикою МКБ є активність кислотоутворення. При культивуванні у молоці МКБ на початку і через 12 місяців зберігання низькотемпературним заморожуванням показало коливання активної кислотності від 5,4–6,0 до 5,9–6,6; титрованої кислотності від 42,6–68,2 °Т до 32,5–52,4 °Т, в залежності від штаму. Найбільш активними кислотоутворювачами були штами виду *L. mesenteroides*.

Таким чином, проведені дослідження показали, що найбільш ефективним методом зберігання в лабораторних умовах МКБ, виділених з гідробіонтів, є метод низькотемпературного заморожування, який забезпечує збереження життєздатності, біологічних властивостей і кислотоутворювальної активності.

Перспективи використання досліджених штамів молочнокислих бактерій морського походження є надзвичайно значними та після проведення низки досліджень (зокрема, стійкості до чинників травного тракту, токсикологічної оцінки на лабораторних тваринах тощо) будуть зосереджені у сферах аквакультури (пробіотики для гідробіонтів), харчової промисловості (біоконсерванти, стартерні культури) та медицини (антимікробні агенти, імуномодулятори).

Висновки

1. Кількість життєздатних клітин молочнокислих бактерій усіх досліджених штамів коливалася від $34,2 \pm 6,9 \times 10^9$ КУО/см³ (*L. parabuchneri* МЛБ 39_1a) до $96,3 \pm 5,1 \times 10^9$ КУО/см³ (*L. bifermentans* МЛБ 68_1a) з тенденцією до поступового зменшення цього показника протягом 12-місячного періоду зберігання різними методами.

2. Метод низькотемпературного заморожування забезпечує збереження великої кількості життєздатних клітин (не менше, ніж 10^7 КУО/см³) МКБ усіх штамів протягом 12 місяців.

3. Досліджені біологічні властивості на початку зберігання характеризували штами МКБ як представників видів *Lentilactobacillus parabuchneri*, *Loigolactobacillus bifermentans*, *Leuconostoc mesenteroides*. Через 9–12 місяців зберігання відбувалися зворотні зміни морфологічних і тінкторіальних властивостей і подовжувався термін культивування до 48 год.

4. На початку зберігання значення активної і титрованої кислотності молока, ферментованого дослідженими МКБ, становило, відповідно, 5,4–6,0 і $42,6 \pm 0,1$ – $68,2 \pm 0,2$ °Т, в залежності від штаму. Через 12 місяців зберігання методом низькотемпературного заморожування активність кислотоутворення бактеріями усіх штамів знизилась.



G. V. Yamborko, I. V. Strashnova, S. I. Rakytska

Odesa I. I. Mechnikov National University,
2 Zmiiienka Vsevoloda St, Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: jamborkoann@ukr.net

EFFECTIVENESS OF STORAGE OF LACTIC ACID BACTERIA STRAINS ISOLATED FROM HYDROBIONTS OF THE BLACK SEA BY VARIOUS METHODS

Summary

*The wide industrial use of lactic acid bacteria (LAB) makes the choice of optimal long-term storage methods crucial for maintaining their viability, taxonomically important traits, and biotechnological properties. **Aim.** To evaluate the effectiveness of different storage methods for LAB strains isolated from Black Sea hydrobionts. **Materials and methods.** Fourteen LAB strains isolated from sponges *Haliclona* sp. and mussels *Mytilus galloprovincialis* (7 *Lentilactobacillus parabuchneri*, 5 *Loigolactobacillus bif fermentans*, 2 *Leuconostoc mesenteroides*) were stored using three approaches: periodic subculturing on agar medium, storage under a layer of vaseline oil, and low-temperature freezing in MRS broth with 30% glycerol. Viability (CFU/cm³) and biological properties were assessed at the beginning of storage and after 3, 6, 9, and 12 months. **Results.** At the beginning of storage, all strains demonstrated high viability, ranging from 34.2×10^9 to 96.3×10^9 CFU/cm³, depending on the strain. During 12-month storage by all methods, the number of viable cells gradually decreased. Low-temperature freezing proved to be the most effective method, ensuring the preservation of at least 10^7 CFU/cm³ for all strains after 12 months. Strains of the three species retained key biological properties, although reversible changes in cell morphology, Gram-staining intensity and prolonged cultivation time (up to 48 h) were observed after 9–12 months, especially with subculturing and storage under oil. The acid-forming activity in milk fermentation ranged initially from pH 5.4–6.0 and 42.6–68.2 °T and decreased to pH 5.7–6.6 and 32.5–52.4 °T after 12 months of low-temperature storage. **Conclusions.** Low-temperature freezing is the most suitable method for long-term laboratory storage of marine LAB strains, providing good preservation of viability, biological properties, and acid-forming activity.*

Keywords: storage methods, lactic acid bacteria, marine strains, biological properties, acid-forming activity.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Васильєва Н.Ю., Страшнова І.В., Басюл О.В., Ковтун І.О., Іваниця В.О. Стійкість до антибіотиків молочнокислих коків, ізольованих з чорноморських водоростей і мідій // Мікробіологія і біотехнологія. – 2020. – № 2(49). – С. 57–71. [http://doi.org/10.18524/2307-4663.2020.2\(49\).212265](http://doi.org/10.18524/2307-4663.2020.2(49).212265)
2. Векірчик К.М. Практикум з мікробіології. – Київ: «Либідь», 2001. – 156 с.
3. Климнюк С.І., Ситник І.О., Творко М.С., Ширококов В.П. Практична мікробіологія: Посібник. – Тернопіль: «Укрмедкнига», 2004. – 440 с.
4. Перетятко О.Г., Ягнюк Ю.А., Пахомов О.В., Скляр Н.І., Крестецька С.Л. Вивчення впливу кріоконсервування на збереження життєз-



- датності мікроорганізмів роду *Escherichia* і *Staphylococcus* // *Annals of Mechnikov Institute*. – 2019. – Вип. 4. – С. 36–41. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3572511>
5. Соломон А.М., Казмірук Н.М., Тузова С.Д. Мікробіологія харчових виробництв: навчальний посібник для студентів напряму підготовки «Харчові технології». – Вінниця: РВВ ВНАУ, 2020. – 312 с.
 6. Страшнова І.В., Ковтун І.О., Коротаєва Н.В. Характеристика молочнокислих бактерій губок Чорного моря // *Мікробіологія та біотехнологія*. – 2020. – № 1(48). – С. 79–94. [http://doi.org/10.18524/2307-4663.2020.1\(48\).201567](http://doi.org/10.18524/2307-4663.2020.1(48).201567)
 7. Цісарик О.Й., Сливка І.М., Мусій Л.Я., Кушнір І.І. Підбір молочнокислих бактерій, ізольованих з природних еконіш, для виготовлення кисловершкового масла геродієтичного призначення // *Науковий вісник ЛНУ-ВМБ імені С.З. Гжицького*. – 2018. – Т. 20(85). – С. 35–40. <https://doi.org/10.15421/nvlvet8507>
 8. Шинкарук М.В., Балук О.О. Перспективні стартові культури для крафтових ковбасних виробів // *Таврійський науковий вісник*. – 2021. – № 5. – С. 38–48. <https://doi.org/10.32851/tnv-tech.2021.5.6>
 9. Bintsis T. Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics // *AIMS Microbiology*. – 2018. – Vol. 4. – P. 665–684. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.4.665>
 10. Junior W.L., Ferrari I.S., Souza J.V., Barbosa A.L., Costa M.M. Principal criteria for selection of lactic acid bacteria for potential use as probiotics in foods // *Afr J Microbiol Res*. – 2015. – Vol. 9. – P. 671–686. <https://doi.org/10.5897/AJMR2014.7226>
 11. Kandil S., Soda M.E. Influence of freezing and freeze-drying on intracellular enzymatic activity and autolytic properties of some lactic acid bacterial strains // *Advances in Microbiology*. – 2015. – Vol. 5(6). – P. 371–382. <https://doi.org/10.4236/aim.2015.56039>
 12. Mahajan P., Sufiyan M., Anwer Z. Marine drugs // *International Journal of Creative Research Thoughts*. – 2022. – V. 10(10). – P. 18–40. URL: www.ijert
 13. Mendoza G.M., Pasteris S.E., Otero M.C., Nader-Macias M.E.F. Survival and beneficial properties of lactic acid bacteria from raniculture subjected to freeze-drying and storage // *J Appl Microbiol*. – 2014. – Vol. 116(1). – P. 157–166. <https://doi.org/10.1111/jam.12359>
 14. Musij L., Tsisaryk O., Slyvka I., Mykhaylytska O., Gutyj B. Study of keeping probiotic properties of cultured butter in storage // *Food Science and Technology*. – 2017. – Vol. 2(27). – P. 27–33. <https://doi.org/10.21303/2504-5695.2017.00318>
 15. Naghavi N.S., Rezaeizadeh G., Sarami F., Khayan-Nekooii M.S., Khosravi-Darani K. A comparison between different methods for the preservation of lactic acid bacteria for usage as a starter culture // *Journal of Microbial Biology*. – 2023. – Vol. 11(44). – P. 77–94. <https://doi.org/10.22108/bjm.2022.133007.1459>
 16. Pasalina P., Amran V., Devita H. The effect of storage time on colonization of lactic acid bacteria in breast milk // *Proceedings of 1st International*



- Conference on Health Sciences and Biotechnology (ICHB 2021). – 2022. – Vol. 47. – P. 127–129. <https://doi.org/10.2991/ahsr.k.220303.026>
17. Senz M., van Lengerich B., Bader J., Stahl U. Control of cell morphology of probiotic *Lactobacillus acidophilus* for enhanced cell stability during industrial processing // International Journal of Food Microbiology. – 2015. – Vol. 192. – P. 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.09.015>
 18. Widhyasih R.M., Kristianto J., Lubis L.R., Mirawati M., Hodikoh A. Effect of addition of jelly and storage time on the number of lactic acid bacteria in yoghurt processed products // Open Access Maced J Med Sci. – 2021. – Vol. 9(A). – P. 1302–1305. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2021.7916>
 19. Zapaśnik A., Sokółowska B., Bryła M. Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety // Foods. – 2022. – Vol. 11(9). – P. 1–17. <https://doi.org/10.3390/foods11091283>

REFERENCES

1. Vasylieva NYu, Strashnova IV, Basyul OV, Kovtun IO, Ivanytsia VO. Antibiotic resistance of lactic acid cocci isolated from Black Sea algae and mussels. [Stiykist' do antybiotykyv molochnokyslykh kokiv, izol'ovanykh z chornomors'kykh vodorostey i midiy]. *Microbiology and biotechnology*. 2020; 2(49): 57–71. [in Ukrainian]. [http://doi.org/10.18524/2307-4663.2020.2\(49\).212265](http://doi.org/10.18524/2307-4663.2020.2(49).212265)
2. Vekirchuk KM. Workshop on microbiology [Praktykum z mikrobiolohiyi]. Kyiv «Lybid'», 2001; 156 s. [in Ukrainian].
3. Klimnyuk SI, Sytnyk IO, Tvorko MS, Shirobokov VP. Practical microbiology: Handbook [Praktychna mikrobiolohiya: Posibnyk]. Ternopil «Ukrmedknyga», 2004; 440 s. [in Ukrainian].
4. Peretyatko OG, Yagniuk YA, Pakhomov OV, Sklyar NI, Kresetska SL. Study of the effect of cryopreservation on the preservation of the viability of microorganisms of the genera *Escherichia* and *Staphylococcus* [Vyvchennya vplyvu kriokonservuvannya na zberezhennya zhyttyezdatnosti mikroorhanizmiv rodu *Escherichia* i *Staphylococcus*]. *Annals of Mechnikov Institute*. 2019; 4: 36–41. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3572511>
5. Solomon AM, Kazmiruk NM, Tuzova SD. Microbiology of food production: a study guide for students of the "Food Technologies" field of study [Mikrobiolohiya kharchovykh vyrobnytstv: navchal'nyy posibnyk dlya studentiv napryamu pidhotovky «Kharchovi tekhnolohiyi»]. Vinnytsia RNVV VNAU, 2020; 312 s. [in Ukrainian].
6. Strashnova IV, Kovtun IO, Korotayeva NV. Characteristics of lactic acid bacteria of Black Sea sponges [Kharakterystyka molochnokyslykh bakteriy hubok Chornoho morya]. *Microbiology and biotechnology*. 2020; 1(48): 79–94. [in Ukrainian]. [http://doi.org/10.18524/2307-4663.2020.1\(48\).201567](http://doi.org/10.18524/2307-4663.2020.1(48).201567)
7. Tsisaryk OY, Slyvka IM, Musii LYa, Kushnir II. Selection of lactic acid bacteria isolated from natural ekonishes for the production of sour cream oil for herodietic purpose [Pidbir molochnokyslykh bakteriy, izol'ovanykh z pryrodnykh ekonish, dlya vyhotovlennya kyslovershkovoho masla



- herodiyetychnoho pryznachennya]. *S.Z. Gzhitskyi Scientific Bulletin of the LNUVMB*. 2018; 20(85): 35–40. [in Ukrainian].
<https://doi.org/10.15421/nvlvet8507>
8. Shinkaruk MV, Baluk OO. Promising starter cultures for craft sausage products [Perspektyvni startovi kul'tury dlya kraftovykh kovbasnykh vyrobiv]. *Taurian Scientific Herald*. 2021; 5: 38–48. [in Ukrainian].
<https://doi.org/10.32851/tnv-tech.2021.5.6>
 9. Bintsis T. Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*. 2018; 4: 665–684.
<https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.4.665>
 10. Junior WL, Ferrari IS, Souza JV, Barbosa AL, Costa MM. Principal criteria for selection of lactic acid bacteria for potential use as probiotics in foods. *Afr J Microbiol Res*. 2015; 9: 671–686. <https://doi.org/10.5897/AJMR2014.7226>
 11. Kandil S, Soda ME. Influence of freezing and freeze-drying on intracellular enzymatic activity and autolytic properties of some lactic acid bacterial strains. *Advances in Microbiology*. 2015; 5(6): 371–382.
<https://doi.org/10.4236/aim.2015.56039>
 12. Mahajan P, Sufiyan M, Anwer Z. Marine drugs. *International Journal of Creative Research Thoughts*. 2022; 10(10): 18–40. URL: www.ijert.com
 13. Mendoza GM, Pasteris SE, Otero MC, Nader-Macias MEF. Survival and beneficial properties of lactic acid bacteria from raniculture subjected to freeze-drying and storage. *J Appl Microbiol*. 2014; 116(1): 157–166.
<https://doi.org/10.1111/jam.12359>
 14. Musij L, Tsisaryk O, Slyvka I, Mykhaylytska O, Gutyj B. Study of keeping probiotic properties of cultured butter in storage. *Food Science and Technology*. 2017; 2(27): 27–33. <https://doi.org/10.21303/2504-5695.2017.00318>
 15. Naghavi NS, Rezaeizadeh G, Sarami F, Khayan-Nekooii MS, Khosravi-Darani K. A comparison between different methods for the preservation of lactic acid bacteria for usage as a starter culture. *Journal of Microbial Biology*. 2023; 11(44): 77–94. <https://doi.org/10.22108/bjm.2022.133007.1459>
 16. Pasalina P, Amran V, Devita H. The effect of storage time on colonization of lactic acid bacteria in breast milk. *Proceedings of 1st International Conference on Health Sciences and Biotechnology (ICHB 2021)*. 2022; 47: 127–129. <https://doi.org/10.2991/ahsr.k.220303.026>
 17. Senz M, van Lengerich B, Bader J, Stahl U. Control of cell morphology of probiotic *Lactobacillus acidophilus* for enhanced cell stability during industrial processing. *International Journal of Food Microbiology*. 2015; 192: 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.09.015>
 18. Widhyasih RM, Kristianto J, Lubis LR, Mirawati M, Hodikoh A. Effect of addition of jelly and storage time on the number of lactic acid bacteria in yoghurt processed products. *Open Access Maced J Med Sci*. 2021; 9(A): 1302–1305. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2021.7916>
 19. Zapašnik A, Sokołowska B, Bryła M. Role of lactic acid bacteria in food preservation and safety. *Foods*. 2022; 11(9): 1–17.
<https://doi.org/10.3390/foods11091283>

Стаття надійшла до редакції 28.11.2025 р.



M. Yu. Bidnyk, A. M. OstapchukOdesa I. I. Mechnikov National University,
2 Zmiienska Vsevoloda St, Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: mari.sea09@gmail.com**BIARYLITIDES AS ULTRA-SHORT RIBOSOMAL PEPTIDES OF ACTINOBACTERIA**

*Actinobacteria are prolific producers of bioactive natural products, including numerous ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides (RiPPs). A recently discovered subgroup of RiPPs, the biarylittides, is characterized by ultra-short precursor peptides (3–5 amino acids) and a distinctive biaryl cross-link between aromatic residues. First reported in *Planomonospora* and *Pyxidicoccus* species, and later in *Streptomyces*, these compounds are generated by minimal gene clusters encoding a short precursor and a dedicated cytochrome P450 enzyme. The P450 “biarylittide synthases” catalyze unusual C–C, C–N, or C–O linkages, producing rigid macrocyclic scaffolds. Literature surveys show that over 90% of identified biarylittide gene clusters belong to actinobacteria, highlighting their evolutionary significance. Despite only a few experimental characterizations, biarylittides represent the shortest known RiPPs and expand our understanding of how minimal peptide scaffolds can yield chemically complex natural products. Related cross-linked RiPPs, such as dynobactin A and neopetromin, demonstrate potent antibacterial or ecological functions, suggesting similar potential for biarylittides. Recent protein engineering of biarylittide P450s has also revealed broad substrate tolerance, opening opportunities for synthetic diversification. This review integrates data from recent biochemical and bioinformatic studies on the discovery, structure, and biosynthesis of biarylittides, with emphasis on their genetic organization and functional roles. Biarylittides exemplify a fascinating new class of ultra-short RiPP natural products, warranting continued genome mining and mechanistic exploration to uncover novel variants and clarify their ecological or pharmacological significance.*

Key words: biarylittides; Actinobacteria; RiPPs; cytochrome P450; biosynthetic gene clusters.

Actinobacteria (gram-positive high-G+C bacteria) are renowned as one of the richest sources of biologically active natural products, including numerous antibiotics, antifungals, antitumor agents, and even immunosuppressants [25]. Among these metabolites, ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides (RiPPs) represent a broad class with exceptional structural diversity and a wide range of biological functions [1]. RiPP natural products encompass over 20 distinct families – from lantipeptides and bacteriocins to lasso peptides – that collectively demonstrate how peptide backbones can be heavily modified to yield complex scaffolds with potent activities [1][16].

© М. Ю. Бідник, А. М. Остапчук, 2025



A novel and intriguing addition to the RiPP superfamily is the class of compounds termed **biarylittides** [30]. Biarylittides are exceptionally short peptides that contain two aromatic amino acid residues joined by a direct aryl–aryl linkage (a *biaryl* bond). This biaryl cross-link endows the peptide with a constrained, polycyclic structure despite its minimal size [11][30]. Typically, the precursor peptides of biarylittides have core sequences of only 3–5 amino acids – making them the smallest RiPP precursors known [11] – and the biaryl bond forms a rigid macrocycle often involving residues such as tyrosine, tryptophan, or histidine [11]. The cross-linking reaction is catalyzed by dedicated cytochrome P450 enzymes, sometimes referred to as “biarylittide synthases”, which create carbon–carbon or carbon–heteroatom bonds between aromatic side chains [11].

Biarylittides were first recognized as a distinct class only recently. In 2021, Zdouc *et al.* reported two small N-acetylated tripeptides (sequence *Ac*-Tyr-Tyr-His and *Ac*-Tyr-Phe-His) from a rare actinobacterium (*Planomonospora* sp.), in which a Tyr–His intramolecular linkage forms a bicyclic structure [30]. Notably, the gene encoding the precursor peptide (designated *bytA*) was only 18 base pairs long (coding for 6 amino acids, including a 3-amino-acid core) – to the authors’ knowledge, the smallest peptide gene ever reported [30]. A neighboring gene (*bytO*) encoded a P450 enzyme postulated to install the biaryl cross-link [30]. Heterologous expression of this minimal *bytA*–*bytO* gene cassette in *Streptomyces* confirmed production of the cyclized Tyr–Tyr–His tripeptide, establishing that these two genes alone are sufficient for biarylittide biosynthesis [30]. In the same period, an independent genome-guided study by Hug *et al.* uncovered another biarylittide – termed *myxarylin* – from the myxobacterium *Pyxidicoccus fallax*, marking the first example of a biarylittide from a Gram-negative organism [8]. Myxarylin was found to be an N-methylated tripeptide featuring a Tyr–His cross-link, but in this case the bond was a carbon–nitrogen (C–N) linkage between Tyr and His (in contrast to the C–C linked Tyr–His in the *Planomonospora* peptides) [8]. These discoveries led researchers to propose “*biarylittides*” as the name for this family of ultra-short, cross-linked RiPPs [30]. Subsequent bioinformatic surveys quickly revealed that such biarylittide biosynthetic gene clusters are surprisingly widespread in nature – particularly in actinobacteria – despite having eluded detection until recently [11] [30].

The **aim** of the article was to consolidate the current knowledge on biarylittides – from their discovery and structural features to the enzymatic machinery and genetic loci responsible for their production – and to discuss their significance as a novel class of actinobacterial RiPPs.

The study is a literature-based review. Scientific literature databases including PubMed, Scopus, and Web of Science were searched for publications from 2015 through 2025 relating to biarylittide peptides and their biosynthesis. Search queries included keywords such as “biarylittide”, “RiPP cross-link”, “cytochrome P450 peptide macrocyclization”, and specific compound or gene names (e.g., “BytO”, “ShyB”, “myxarylin”). Relevant articles were selected if they reported on the discovery, structure, biosynthetic enzymes (particularly cytochrome P450 monooxygenases), genetic clusters, or biological activities of biarylittides or closely related cross-linked peptides. Both original research papers and review articles



were included to ensure comprehensive coverage. Preference was given to sources indexed in Scopus or Web of Science. Key data from the selected publications – such as chemical structures, gene cluster characteristics, enzyme functions, and any bioassay results – were extracted and synthesized to produce an integrated overview. Where appropriate, information from multiple studies was compared or combined to highlight consensus findings. All factual statements in the review are supported by citations to these source publications. All figures included in this review originate from open-access publications with reuse-permitting licenses; no permissions were required, and full attribution is provided in each caption.

1. Discovery of Biarylittides and Initial Examples

The defining feature of biarylittides is a **biaryl cross-link** – a covalent bond directly connecting two aromatic amino acid side chains within a peptide. This unique structural motif was first documented in the scientific publication that introduced and described biarylittides, authored by Zdouc *et al.*, published in *Cell Chemical Biology* in 2021. In this work, the authors discovered **biaryl-cross-linked cyclic tripeptides** from *Planomonospora* and proposed the term “**biarylittides**” to denote this new family of minimal RiPPs. These peptides are encoded by extremely compact biosynthetic gene clusters consisting of a tiny **bytA** gene (18 bp) and a cytochrome P450 enzyme gene (**bytO**), responsible for installing the C–C biaryl linkage that defines their rigid macrocyclic scaffold [30].

Using a combination of genome mining and metabolite analysis, Zdouc *et al.* (2021) discovered two small macrocyclic peptides in *Planomonospora* cultures, each comprising only three amino acids in the cyclized core (plus an N-acetylated N-terminus) [30]. In both molecules – one with sequence Ac-Met-Tyr-Tyr-His (which spontaneously loses the N-terminal Met to yield Ac-Tyr-Tyr-His) and another with Ac-Tyr-Phe-His – the tyrosine and histidine residues were linked via an unusual carbon–carbon bond between Tyr-C3 and His-C2 [30]. This biaryl C–C bond between Tyr and His effectively “staples” the tripeptide into a compact, bicyclic conformation. Notably, the genes responsible for these metabolites were found to form an extraordinarily compact biosynthetic gene cluster: an 18 bp open reading frame (*bytA*) encoding a 6-amino-acid precursor peptide (with a 3-residue core), immediately adjacent to a gene (*bytO*) encoding a cytochrome P450 monooxygenase [30]. The P450 enzyme (BytO1) was hypothesized to perform an oxidative coupling of the Tyr and His side chains, thereby forming the biaryl bridge [30]. This hypothesis was confirmed by heterologous expression: when *bytA* and *bytO* were co-expressed in a *Streptomyces* host, the cyclized Tyr–Tyr–His peptide (dubbed “**biarylittide YYH**”) was produced, whereas a mutant lacking the P450 gene did not yield the cyclized product [30]. The discovery of this minimal system – a peptide as short as 3 amino acids being modified by a single tailoring enzyme – was unprecedented and led to the proposal of “biarylittides” as a new RiPP class [30].

Almost simultaneously, a second example of a biarylittide was uncovered in a completely different organism. Hug *et al.* (2021) reported the genome-guided discovery of **myxarylin** (Fig. 1A), a cross-linked tripeptide from *Pyxidicoccus fallax*, a myxobacterium (Gram-negative) [8].



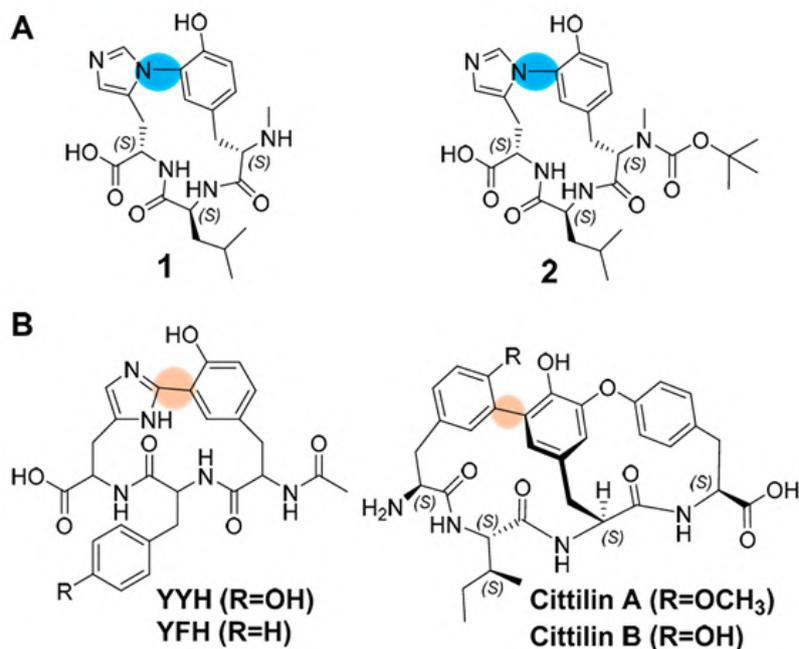


Fig. 1. Chemical structures of the myxobacterial biarylittide Myxarylin (1) and its Boc derivative Myxarylin-Boc (2) (A), and biosynthetically characterized related biarylittides YYH/YFH and Cittilin A/B (B).

[Hug *et al.*, *Molecules* 2021, under the terms of the CC BY 4.0 license]

Myxobacteria are known for producing unique metabolites, and in this case the genome of *P. fallax* harbored a gene cluster reminiscent of the *Planomonospora* biarylittide genes: a very short precursor peptide gene next to a P450 gene. The metabolite encoded by this cluster, myxarylin, was confirmed via heterologous expression and found to be a methylated tripeptide (sequence MeYLH, with an N-terminal N-methyl-leucine) featuring a covalent bond between Tyr and His (Fig. 1A) [8]. However, unlike the *Planomonospora* peptides, the cross-link in myxarylin was a carbon–nitrogen bond (Tyr-C3 to His-N) – representing a **C–N biaryl linkage** rather than a C–C linkage (Fig. 1A) [8]. This distinction highlighted the chemical versatility of the biarylittide-forming enzymes: depending on the specific P450, the coupling can occur through different atoms (carbon or heteroatom) on the aromatic rings. Myxarylin also demonstrated that biarylittide-like pathways exist beyond actinobacteria, in this case in a myxobacterial lineage. Related cross-linked peptides include YYH/YFH and the cittelins (Fig. 1B), which show analogous aromatic coupling topologies but differ in backbone architecture and side-chain composition [8]. According to the authors, this finding emphasized the distinct biochemistry characteristic of the myxobacterial realm, while still belonging to the broader class of biarylittide RiPPs [8].

Since these initial discoveries, additional biarylittide examples have been identified or inferred. By 2023–2025, genome mining efforts uncovered several new biarylittide biosynthetic gene clusters in diverse bacteria [11]. A handful of these have been experimentally validated. For instance, Khan *et al.* (2025)

characterized ShyA/ShyB from *Streptomyces clavuligerus* F613-1, where ShyA is a short precursor peptide (pentapeptide) and ShyB is the cognate P450 enzyme [11].

Remarkably, ShyB was shown to create a biaryl cross-link between histidine and tyrosine in ShyA, but via a novel connection: His-C2 to Tyr-O4 (Fig. 2). This represents a **carbon–oxygen (C–O) cross-link**, the first of its kind reported in RiPPs [11]. Together, the known biarylite-modifying P450 enzymes – including BytO1 (from *Planomonospora*), BytO2 (from *Pyxidicoccus*), P450-Blt (from a *Kitasatospora/Bacillus* cluster), SgrB (from *Streptomyces griseus*, presumably) and SlyP (another *Streptomyces* enzyme) – demonstrate the ability to forge C–C, C–N, and C–O bonds between aromatic amino acids [11]. Collectively, the cyclic tripeptide products of these enzymes (each containing two aromatic rings connected by a covalent bridge) have been termed **biarylites** [11]. This term encompasses slight variations in ring size or modifications – for example, whether the peptide is N-acetylated or N-methylated, or which positions on the aromatic rings are coupled – as long as the fundamental feature is a biaryl-linked ultra-short peptide.

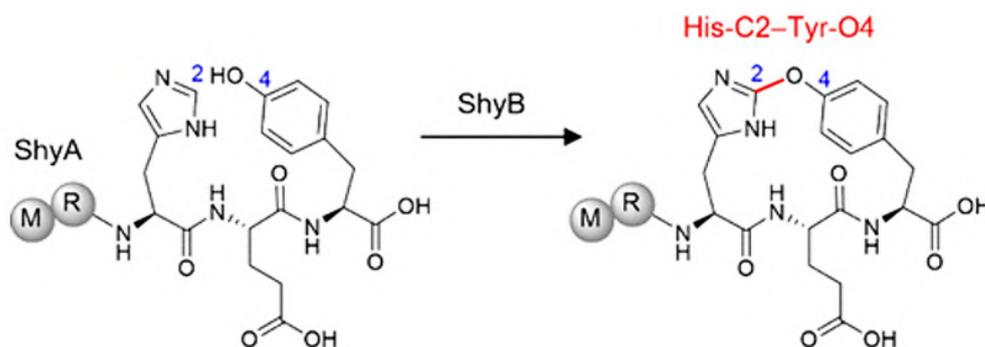


Fig. 2. ShyB-catalyzed oxidative coupling between His-C2 and Tyr-O4 on the precursor peptide ShyA.

[Khan *et al.*, *Organic Letters* 2025, under the terms of the CC BY-NC-ND 4.0 license]

2. Structural Features and P450-Catalyzed Biosynthesis

Biarylites are distinguished by their minimalistic peptide cores and the presence of an enzymatically created biaryl linkage. The core peptides (after leader peptide removal and other processing) are typically only 3 to 5 amino acids in length [11][30]. Despite this tiny size, the cross-link between two aromatic residues (such as Tyr, Trp, or His) induces the peptide to cyclize into a three-residue macrocycle. In essence, biarylites can be viewed as miniature “cyclophane” peptides – small rings containing two aromatic rings connected by a short linker (the peptide backbone and cross-link) [11]. This rigid conformation is expected to constrain the peptide’s flexibility, potentially making it more proteolytically stable and structurally preorganized, which can be advantages for binding targets or withstanding harsh conditions.

The formation of the biaryl cross-link in RiPP biarylites is catalyzed by cytochrome P450 enzymes, a family of heme-dependent monooxygenases widely known for catalyzing oxidative reactions [3] [13] [28]. However, the P450s involved in biarylite biosynthesis (often referred to as *P450 biarylite synthases*) perform an unconventional role: instead of typical hydroxylation, they effect an *oxidative*



coupling of two aromatic side chains [11]. Mechanistically, this likely proceeds via P450-mediated single-electron oxidation of aromatic rings to form radical or cationic intermediates that then arylate each other, forming a C–C or C–X bond (X = N or O in the case of heteroatom linkages) [11]. The exact mechanism is still under investigation, but these enzymes have expanded the known catalytic repertoire of P450s to include intramolecular cross-linking of peptide substrates. This expansion fits into a broader trend of discovering novel types of RiPP-modifying enzymes [10][22][28]. In the five biaryllytite P450s characterized so far (BytO1, BytO2, P450-Blt, SgrB, SlyP), all target a *Trp*, *Tyr*, or *His* pair in positions 1 and 3 of a tripeptide core [11]. BytO1 (from *Planomonospora*) couples Tyr¹–C3 to His³–C2 (a biaryl C–C bond); BytO2 (from *Pyxidicoccus*) couples Tyr¹–C3 to His³–N (a biaryl C–N bond) and ShyB (from *Streptomyces clavuligerus*) couples His¹–C2 to Tyr³–O4 (a biaryl C–O bond) [11]. Other enzymes like P450-Blt and SgrB also target analogous connections, often between aromatic residues such as tryptophans or tyrosines [11]. For example, another reported RiPP natural product, **tryptorubin A** (Fig. 3), isolated from a fungus-associated bacterium, contains both Trp–Trp and Trp–Tyr cross-links installed by a P450, although tryptorubin A is a larger hexapeptide and represents a distinct family of RiPPs (the *atropopeptides*) [2] [18] [29].

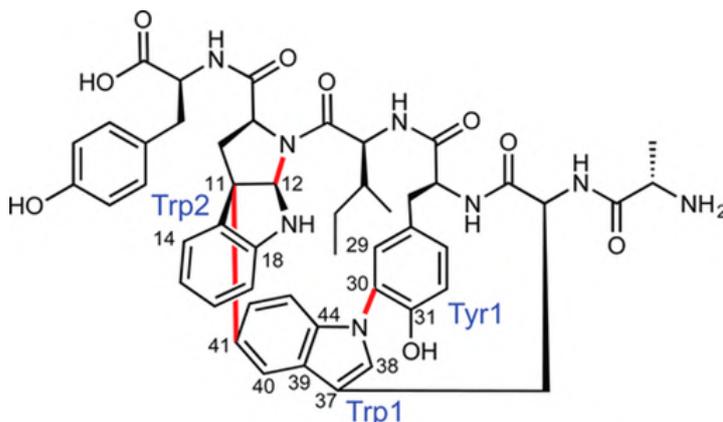


Fig. 3. Structure of tryptorubin A.

[Wyche *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 2017, under the ACS AuthorChoice license (CC BY-NC-ND 4.0)]

Likewise, a cyclic dipeptide called **mystilin** (reported to have a Tyr–Tyr linkage) has been noted as an example of P450 forming a dityrosine bond in a RiPP [11], underscoring that aromatic cross-linking is a recurring theme across multiple RiPP families [7][10][24]. Other P450-modified RiPPs further highlight this diversity, including tricyclic copper-binding peptides with unusual histidine-to-butyryne crosslinks [12]. Biaryllytides, however, stand out because of the extreme brevity of their peptides and the singular nature of their cross-link (only one linkage forming a tiny cycle).

Structurally, the biaryl bond locks the peptide into a constrained conformation. X-ray crystallography or NMR studies of any biaryllytite have yet to be published (owing to difficulties in obtaining sufficient quantities and crystals), but by analogy



to related cross-linked peptides, one can infer a rigid, pre-cyclized shape. The presence of two aromatic rings in close proximity can also lead to interesting stereochemical phenomena – for instance, certain biaryl-linked peptides might exhibit atropisomerism (stable stereoisomers due to hindered rotation about the biaryl bond, as seen in tryptorubin A (Fig. 4)) [20]. Understanding the 3D conformation is important, as it may relate to any biological activity these molecules have (by presenting a specific scaffold to molecular targets).

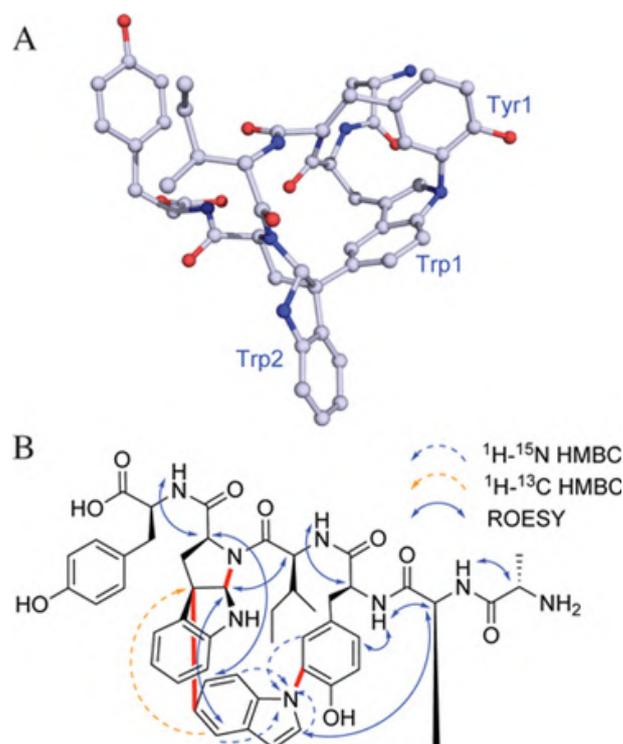


Fig. 4. (A) 3D model of tryptorubin A. (B) Key 2D NMR correlations for tryptorubin A. [Wyche *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* 2017, under the ACS AuthorChoice license (CC BY-NC-ND 4.0)]

In addition to the pivotal cross-link, biarylptides often carry other modifications. All known native biarylptides have a modification at the N-terminus of the core peptide: *Planomonospora* biarylptides are **N-acetylated** (which is somewhat unusual for bacterial peptides, hinting at either a dedicated N-acetyltransferase or utilization of host acetylation systems) [30], while *Pyxidicoccus* myxarylin is **N-methylated** at the amino terminus [8]. These modifications likely contribute to stability (protecting the N-terminus from degradation) or alter the compound's polarity and cell permeability. The genetic basis for these modifications is not always clear; in some biarylptide gene clusters, an N-acetyltransferase or N-methyltransferase enzyme might be encoded, whereas in other cases the modification could be performed by a housekeeping enzyme in the producing organism. For example, the *Planomonospora* cluster *lacked* any obvious acetyltransferase gene besides the P450 [30], yet the product was N-acetylated, suggesting a host enzyme could be responsible. Meanwhile, the *Pyxidicoccus* myxarylin gene cluster likely includes



a methyltransferase gene to install the N-methyl group (this detail was noted in the discovery paper, as the N-methylation was a surprise) [8]. Such tailoring modifications, while not unique to biarylittides, reinforce how even very short peptides can be chemically diversified by bacteria to fine-tune their properties.

From a biosynthetic perspective, biarylittide pathways are notable for their **simplicity and efficiency**. The minimal genetic requirements (a two-gene cluster, in the simplest cases) and the fact that a single P450 can perform the complex cyclization in one step are remarkable. This contrasts with other RiPP classes that often need multiple enzymes to install several different modifications (e.g., lantipeptides require dehydratases and cyclases for multiple thioether rings). The biarylittide P450s are multifunctional in that a single enzyme both activates two positions on the substrate and joins them in one catalytic cycle. Recent studies have begun to unravel how these enzymes recognize such short peptide substrates and achieve regioselective cross-linking. A crystal structure of one biarylittide P450 (in complex with its peptide substrate analog) was reported by Padva *et al.* (2025) [19], providing insights into how the enzyme's active site cradles the tripeptide and orients the two aromatic rings for coupling. The active site architecture and key residues explain, in part, the specificity for a Tyr–His or Tyr–Trp pair at defined positions in the substrate. Interestingly, the enzymes show some **substrate tolerance** – for example, P450-Blt (originating from a *Bacillus* cluster) was shown to accept variant peptides in which the aromatic positions or neighboring residues were mutated, and still form cross-links (Fig. 5A,B) [11].

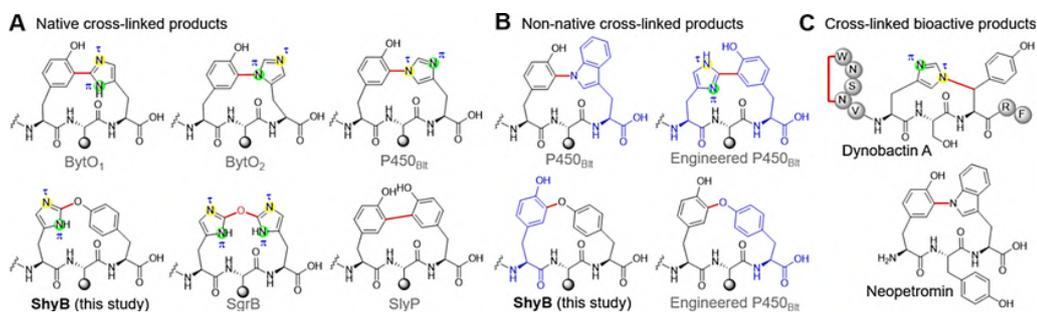


Fig. 5. (A) Cytochrome P450 biarylittide synthases and their chemical transformation. (B) Non-native biarylittides generated with non-native precursor peptides. (C) Representative examples of cross-linked bioactive natural products. Cross-link formation on the peptides is shown as red bonds/connectors, and non-native residues on the peptides are shown as blue colored structures.

[Khan *et al.*, *Organic Letters* 2025, under the terms of the CC BY-NC-ND 4.0 license]

In fact, through *protein engineering*, researchers have created engineered P450 biarylittide synthases that can cyclize non-native peptide sequences (Fig. 5B) [11][17][27]. In one study, directed mutagenesis of P450-Blt expanded its substrate scope to produce novel Tyr–X–His or Tyr–X–Tyr cross-linked tripeptides (where “X” is an unnatural or different amino acid). At least three “non-native” biarylittide analogues were structurally characterized from such experiments (Fig. 5B) [27]. Related cross-linked natural products, such as dynobactin A and neopetromin, are shown for comparison (Fig. 5C) [11].

This demonstrates that while biarylittide enzymes evolved to recognize very short, specific sequences, they can be reprogrammed or repurposed, underscoring their potential as biocatalysts for creating new macrocyclic peptides.

3. Biosynthetic Gene Clusters and Distribution in Microbial Genomes

One striking aspect of biarylittides is the **widespread distribution** of their biosynthetic gene clusters in nature, especially among actinobacteria. Early in silico analyses hinted at this ubiquity: Zdouc *et al.* noted approximately 200 bacterial genomes (mostly actinobacteria) containing a P450 gene flanked by a very short (< 30 bp) open reading frame, suggestive of biarylittide pathways [30].

This number has grown with more intensive genome mining. Khan *et al.* (2025) conducted a manual PSI-BLAST search using a known biarylittide P450 as the query, and identified **435 homologous P450s** linked to putative short peptide genes in publicly available genomes [11]. This represents the most extensive list of candidate biarylittide clusters so far and solidifies the idea that these cryptic pathways are not rare curiosities, but rather a common feature in certain lineages [11].

Crucially, the vast majority of these gene pairs are found in the phylum **Actinobacteria**. In a review by Khan *et al.*, about 92% of the identified P450–peptide gene pairs originated from actinobacterial genomes [11]. Within Actinobacteria, the genus *Streptomyces* was the dominant host, accounting for 240 out of 435 clusters (~55%) [11]. This is perhaps not surprising, as *Streptomyces* are prolific producers of RiPPs and other secondary metabolites. Other actinobacterial genera hosting multiple biarylittide clusters included *Saccharothrix* (22 clusters identified), *Micromonospora* (18 clusters), *Kitasatospora* (15 clusters), and various others in smaller numbers [11]. Notably, a handful of gene clusters were also detected outside Actinobacteria: for instance, around 20 clusters in *Bacillus* species (phylum Firmicutes), and a few in myxobacteria (as exemplified by *Pyxidicoccus*) or other proteobacteria [11]. This distribution suggests that the capability to produce biarylittides might have originated in actinobacteria (or an ancestor thereof) and possibly spread horizontally to a limited extent (explaining presence in *Bacillus* and *Pyxidicoccus*). Alternatively, convergent evolution cannot be ruled out, but the high sequence similarity of the P450s argues for a common origin. It is intriguing that *Bacillus*, which are not typically known for extremely short RiPPs, have these clusters – this raises the question of whether those clusters are actually expressed and functional in *Bacillus* or remnants acquired via horizontal gene transfer.

The **genetic organization** of biarylittide biosynthetic gene clusters is generally simple and conserved. The prototypical cluster contains two core genes: a gene encoding the **precursor peptide** (often annotated as a small hypothetical protein, ~10–20 amino acids in length), and an adjacent gene encoding the **P450 enzyme**. These two are typically in close proximity, often bidirectionally oriented or co-transcribed [30]. Upstream or downstream, there may sometimes be additional open reading frames – for example, genes encoding regulators or transporters (as commonly seen in secondary metabolite clusters) – but many biarylittide clusters lack extensive accessory genes. In some cases, a gene for a tailoring enzyme (like an acetyltransferase or methyltransferase) may be present to account for N-terminal modifications, though this is not universal. For instance, the *Planomonospora*



cluster did not encode a clear acetyltransferase, whereas a *Streptomyces* cluster for cittilin (a related cross-linked tripeptide reported in 2022) included a gene that likely acetylates the core peptide [8]. The minimal nature of these clusters (often just 2–3 genes) is reminiscent of certain bacteriocin or microcin RiPP clusters, which also can be quite compact. This simplicity may facilitate their horizontal transfer between genomes, which could explain occurrences in phylogenetically distant bacteria.

Regulation of these clusters is not yet well understood. No specific consensus leader peptide sequence has been identified for biarylptide precursors – indeed, some biarylptide peptides might lack a classic cleavable leader, given their extreme brevity. It is conceivable that the precursor is synthesized as part of a larger protein or with a short leader that escapes detection by standard algorithms. One hypothesis is that the small “precursor” gene actually encodes a longer peptide including a leader, but due to annotation challenges the leader-coding region might be overlooked. Alternatively, the P450 might act on the peptide while it is still tethered to the ribosome or a larger polyprotein. These are areas for future research. Bioinformatic analysis by Zdouc *et al.* suggested that all biarylptide precursor genes code for a five-amino-acid core with two aromatic residues (positions 1 and 3) and that the sequences are diverse except for those key aromatic positions [30]. The flanking regions (possible leader sequences) did not show obvious homology, implying that if a leader exists, it may be very short or structurally defined rather than sequence-conserved.

The broad distribution of biarylptide clusters in *Streptomyces* and other actinobacteria implies that **biarylptide production is an evolutionarily maintained trait**, likely conferring some advantage to these microorganisms. Over 90% of clusters in actinobacteria suggests a lineage-specific expansion or retention [11]. Actinobacteria often live in competitive soil environments, producing antibiotics and signaling molecules; thus, one might speculate that biarylptides serve as chemical signals or defense molecules. Their small size and stable cyclic structure could allow them to diffuse or persist in the environment, perhaps modulating microbial interactions or inhibiting competing organisms in subtle ways. It is also possible that, like some other RiPPs, biarylptides could act as quorum sensing agents or iron-chelating compounds, roles that are not immediately obvious without targeted assays.

From a genome mining perspective, the high occurrence of biarylptide clusters is an encouraging sign. It means researchers have a rich pool of “cryptic” clusters to explore for new biarylptide structures. Indeed, each newly characterized cluster could yield a variant peptide with different aromatic residues or sequence context, expanding the chemical diversity of this class. The current count of five experimentally confirmed biarylptides is likely only the tip of the iceberg. With advancing techniques in heterologous expression and metabolomics, we expect many more biarylptides to be identified from the genomic data. Some may incorporate unusual aromatic amino acids (e.g., halogenated tyrosines if present, or modified histidines), and some clusters might produce multiple variants of peptides (if the precursor has multiple copies of a motif, though none discovered so far do this).



4. Biological Activities and Potential Roles of Biarylittides

A central question regarding any new class of natural products is: what do they do? For biarylittides, this question remains largely unanswered, as very few have been tested in biological assays. The initial reports of *Planomonospora* biarylittides did not report any specific bioactivity (antibacterial, antifungal, etc.), possibly due to the difficulty in isolating sufficient quantities [31]. Similarly, the myxarylin study did not find antimicrobial or cytotoxic activity in standard screens [4], although it revealed an interesting phenotype in plant cells (discussed below). Thus, the direct *in vivo* function of biarylittides for the producing organism is still speculative. However, insights can be gleaned from analogues and related compounds with similar structural features.

One clue comes from cross-linked peptide antibiotics identified in other contexts. For example, **dynobactin A** is a recently discovered ribosomally derived heptapeptide from *Photorhabdus* bacteria that contains two aromatic rings connected by a carbon–carbon bond, forming a macrocyclic structure [11]. While not a biarylittide by strict definition (it is larger and formed by a different enzyme mechanism), dynobactin A's structure – featuring an indole–indole cross-link between two tryptophans – is conceptually akin to an expanded biarylittide. Importantly, dynobactin A exhibits potent antibacterial activity against Gram-negative pathogens by targeting the essential outer membrane protein BamA (part of the β -barrel assembly machinery) [6]. This finding demonstrates that small, cross-linked peptides can achieve high-affinity binding to protein targets and disrupt crucial biological processes (in this case, cell envelope biogenesis in bacteria). Similarly, the **darobactins** are another family of RiPP-derived cyclic peptides (from *Photorhabdus* and *Yersinia*) with two fused rings, active against Gram-negatives via BamA inhibition [9][23][26]. Further computational and structure-guided engineering has yielded systemic darobactin analogues with improved *in vivo* properties [15][26]. These compounds, while structurally different (they have a cross-link between two *D*-abbreviated amino acids forming an unusual rigid motif), reinforce the notion that nature evolves small macrocyclic peptides as antibiotics. Dynobactin and darobactin suggest that if some biarylittides were to be screened, they might also show antibiotic activity – perhaps especially against Gram-negative bacteria, where rigid macrocycles can sometimes penetrate the outer membrane or exploit novel targets like BamA.

Another example of a naturally occurring cyclic tripeptide is **neopetromin**, which provides a hint at a different kind of biological activity. Neopetromin was isolated from a marine sponge (*Neopetrosia* sp.) and found to be a tripeptide containing a rare C–N biaryl cross-link between tryptophan and tyrosine (specifically a Trp–Tyr linkage) [5]. Structurally, it is strikingly similar to a biarylittide (and indeed inspired comparisons to biarylittides in the literature) [11]. However, neopetromin's biological activity is not antibacterial or antiproliferative; instead, it induces **vacuole fragmentation in plant cells** [4]. In assays with tobacco BY-2 plant cells, neopetromin caused the usually large central vacuole to break into smaller vesicles, hinting at an effect on vacuolar integrity or associated signaling pathways [4]. Notably, neopetromin showed *no* significant activity against bacteria, fungi, cancer cell lines, or various other bioassays [11]. Its action seems quite specific to plant cell



vacuoles, a rather unusual and unexpected phenotype. The mechanism is not fully understood, but such specificity suggests that small macrocyclic peptides might interact with particular eukaryotic proteins (e.g., those involved in vacuolar fusion or fission). While neopetromin is not known to be produced by an actinobacterium (marine sponges often harbor symbiotic microbes, so the true producer could be bacterial), its existence broadens the scope of what ultra-short cross-linked peptides might do in nature. The fact that neopetromin is structurally analogous to biarylittides yet biologically distinct (no antimicrobial effect, but a plant cell effect) underscores that **biarylittides might have unique roles aside from classical antibiotic activity** [11].

Given these analogies, what roles might the actinobacterial biarylittides serve? One hypothesis is that they could function as **secondary metabolites for inter-microbial competition or communication**. Actinobacteria in soil compete with other bacteria and fungi; a small stable molecule could serve as a signaling molecule or as a toxin at close range. Because biarylittides are so short, they might be energetically “cheap” to produce, allowing the organism to deploy them in large amounts if needed. If they target something like BamA (as dynobactin does), they could provide an advantage against Gram-negative competitors in the environment. Alternatively, they might target eukaryotic cells (plant or insect cells) if the producing bacteria have symbiotic or pathogenic relationships (some *Streptomyces* interact with plants or insects). For example, *Streptomyces* species that associate with plant roots might produce biarylittides that modulate plant defense or microbial community dynamics in the rhizosphere – this is speculative, but parallels can be drawn to known rhizobacteria signals.

It is also possible that biarylittides are not primarily defensive or signaling molecules, but rather **“selfish” metabolites** that benefit the producer in subtler ways. They could act as *iron chelators* or redox-active molecules aiding in nutrient acquisition. However, their structures do not obviously resemble known siderophores or redox cofactors. Another possibility is that they might serve as protease inhibitors or modulators of enzyme activity (similar to how some cyclic peptides target specific enzymes). The mention in Khan *et al.* that cross-linked peptides “are known to have biological activity” [11] invites more systematic exploration of biarylittides in various assays.

To date, no strong antibiotic or cytotoxic activity has been reported for the core biarylittides (YYH, YFH, myxarylin). This could mean either they truly lack such activity or that their targets are unconventional (and thus not revealed by standard screens). It’s worth noting that many RiPPs (e.g., lantibiotics, microcins) are potent antimicrobials, whereas others (e.g., some cyanobactins, cyclotides from plants) have more niche activities (like protease inhibition, receptor modulation, etc.). Biarylittides could fall into either camp. The lack of activity in a broad panel might indicate a very specific target or condition under which they act. For instance, perhaps a biarylittide might only show activity under certain pH or metal ion conditions, or against a specific bacterial species not tested.

From an ecological and evolutionary perspective, the fact that biarylittide clusters are maintained in genomes suggests they confer a **selective advantage**. If not obvious in lab assays, this advantage might manifest in natural settings (soil,



competitive microbiomes, etc.). We should also consider that some gene clusters could be “silent” under laboratory conditions – the organism might produce the biarylptide only in response to a particular trigger (e.g., presence of a competitor or specific stress). Thus, discovering the activity might require mimicking those conditions.

In summary, while the precise biological roles of biarylptides remain to be elucidated, analogs like dynobactin A and neopetromin demonstrate that small cross-linked peptides **can have powerful and unexpected activities** [11]. The structural resemblance of biarylptides to these molecules hints at possibilities ranging from antimicrobial action (e.g., targeting outer membrane proteins in Gram-negatives) to eukaryotic cell modulation (e.g., affecting plant cell organelles). At present, one can conclude that the **bioactivity spectrum of biarylptides is largely unexplored**, and that thorough testing – in antimicrobial assays, nematode or insect models (since some actinobacteria use toxins in insect symbiosis), plant interaction studies, etc. – is warranted.

Discussion

The discovery of biarylptides adds a new dimension to our understanding of RiPP natural products. Recent genome mining has also uncovered other highly unusual RiPP architectures, such as ribosomal peptides with two amino termini [21]. In the context of known RiPP families, biarylptides are extraordinary for their **minimal size** and the involvement of a **P450 enzyme** in macrocyclization. Traditionally, many RiPP classes (such as lantipeptides, thiopeptides, and lasso peptides) involve enzymes like dehydrases, cyclases, or lyases to create their signature modifications [1]. The use of a cytochrome P450 to forge a carbon–carbon bond in a peptide is a biochemical strategy more commonly associated with non-ribosomal peptide or polyketide pathways (where P450s sometimes perform phenolic couplings in larger scaffolds). Biarylptides thus blur the line between RiPP and other natural product biosynthetic logic – they are RiPPs that harness P450 chemistry typical of secondary metabolite pathways. This convergence is fascinating from an evolutionary standpoint: actinobacteria have effectively repurposed the highly versatile P450 machinery for tailoring very small peptide substrates, indicating an *economy of mechanism* in generating structural complexity.

When comparing biarylptides to other RiPPs, one is struck by their **simplicity**. For example, lantipeptides (like the food preservative nisin) are 20–30 amino acid peptides with multiple thioether rings and a complex enzyme machinery [1][14][16]. Lasso peptides are ~15–20 amino acids with a lariat knot requiring specialized enzymes for threading and cleavage. By contrast, a biarylptide can be as small as 3 amino acids with one cross-link and needs essentially one enzyme to mature it. This simplicity might suggest a different evolutionary pressure – perhaps favoring speed and efficiency of production. A small peptide can be synthesized quickly by the ribosome, and a single enzyme can modify it in one step; in a competitive environment, this could allow a rapid response (production of the metabolite) when needed.

Another point of comparison is the **structural rigidity** imparted by the cross-links. Biarylptides yield a rigid bicyclic structure, somewhat analogously



to lantipeptides that have multiple rings conferring rigidity, or cyclotides (plant RiPPs) that have a cystine knot locking them. Rigidity often correlates with high affinity to targets (since less conformational entropy is lost upon binding). Thus, although biarylittides are tiny, their constrained structure could enable surprisingly strong or specific interactions – which might be why nature finds them useful. If we consider dynobactin A and darobactin A, these also are relatively small (7-mer) but highly constrained peptides that achieve nanomolar binding to BamA [23]. It is conceivable that some biarylittides might similarly have nanomolar-range affinities for their as-yet-unknown targets.

In terms of **evolution**, the presence of hundreds of biarylittide-like gene clusters in actinobacteria suggests that this capability emerged early and was propagated widely. The P450 sequences cluster together in phylogenetic analyses, indicating they form a distinct clade separate from other P450s (e.g., those for steroid hydroxylation or polyketide tailoring) [11]. This implies a single or a few origin events followed by diversification mainly within actinobacteria. The occasional appearance in *Bacillus* or myxobacteria could be due to horizontal gene transfer. It is notable that one of the characterized P450s, named P450-Blt, comes from a *Bacillus* locus [11]. The peptide product of that *Bacillus* cluster (sometimes referred to as *blactamides* or similar, though not confirmed) hints that Gram-positive firmicutes can also adopt this chemistry. The functionality of that cluster in *Bacillus* might differ – perhaps it is not expressed under normal conditions or needs specific signals. Understanding whether non-actinobacterial hosts actively produce biarylittides could provide insights into the ecological function. For instance, if *Bacillus* (often found in soils and as plant growth-promoting rhizobacteria) can produce biarylittides, maybe those compounds play a role in root microbiome dynamics.

From a **biotechnological** perspective, biarylittide pathways are attractive due to their simplicity and the novelty of the chemistry. The ability to cyclize ultra-short peptides with aromatic cross-links opens avenues in peptide engineering and drug design. The fact that one can mutate the precursor peptide or the P450 and get new products (as demonstrated by engineering P450Blt) means we have a relatively malleable system for creating a library of small cyclic peptides [11]. These could be screened for pharmacological properties (e.g., as enzyme inhibitors or receptor ligands). Small size is an advantage for synthesis and cell permeability. Indeed, some researchers have already noted that the highly strained biaryl cyclophane structure of biarylittides is difficult to achieve via synthetic chemistry, yet nature makes it readily [11]. Harnessing the P450s as biocatalysts might allow chemoenzymatic production of compounds that are challenging to synthesize otherwise.

One challenge that remains is the **heterologous expression and isolation** of biarylittides. Because the peptides are so small and often produced in low quantities, detection can be tricky (mass spectrometry is required, as they might not have UV-visible chromophores or distinctive bioactivities to track). Overexpression of the genes in amenable hosts (like *E. coli* or *Streptomyces lividans*) combined with sensitive analytical chemistry is a strategy that should be further applied to the many uncharacterized clusters. It is quite possible that some clusters produce biarylittides only under specific conditions or in concert with other pathway regulation.



Approaches like co-culture or inducing stress might be needed to “awaken” silent clusters.

When considering *why* actinobacteria devote resources to making biarylittides, one must also consider **functional redundancies or overlaps**. Actinobacteria produce numerous RiPPs; for example, a single *Streptomyces* genome might encode lantipeptides, lassopeptides, and others. Biarylittides could be one more tool in their chemical arsenal. It would be interesting to see if strains that have biarylittide clusters also have particular ecological niches or behaviors. Perhaps biarylittides act in concert with other metabolites (for instance, weakening competitors’ defenses so that antibiotics are more effective, or signaling to other actinobacteria in a community context). These hypotheses remain to be tested.

Comparatively, lanthipeptides (like nisin) are used as antibacterials, lasso peptides sometimes target RNA polymerase or specific enzymes, cyanobactins can be cytotoxic, and microviridins inhibit proteases. Biarylittides might represent a case of “*less is more*” – achieving a functional effect with a minimal peptide scaffold. This minimalism could inspire *de novo* design efforts: if a three-residue macrocycle can bind a protein pocket (as dynobactin binds BamA, albeit dynobactin is a bit larger), perhaps we can design cyclic tri- or tetrapeptides for known targets. The biarylittide P450s could then be employed to actually synthesize those designs biologically.

In summary, the context provided by other RiPPs and cross-linked peptides highlights biarylittides as an outlier in terms of size, but aligned with the general theme that **post-translational modifications can endow even simple peptides with elaborate structures and potent functions**. The discussion of biarylittides thus intersects natural product chemistry, enzymology, and evolutionary biology. They challenge our preconceived notions of the minimum size required for biochemical activity and demonstrate nature’s ingenuity in using common building blocks (aromatic amino acids) to create uncommon molecular architectures.

Going forward, key areas of discussion and investigation may include: **(i)** identifying the biological targets of biarylittides (through techniques like pull-down assays or phenotype screenings), **(ii)** deciphering the mechanism of the P450 catalysis in detail (possibly via more crystal structures or spectroscopic studies of reaction intermediates), **(iii)** exploring the diversity of structures accessible (by mining unexplored actinobacterial strains or modifying known enzymes), and **(iv)** evaluating the potential of biarylittides or their analogues in applications (such as new antimicrobial agents or biochemical tools). Biarylittides, as tiny as they are, have opened a big door to new scientific questions and applications in the field of microbial natural products.

Conclusion

Biarylittides have emerged as a *bona fide* class of ultra-short RiPP natural products, expanding the landscape of known microbial peptides. On the basis of the literature analysed in this review, the following key features of this family can be delineated.

Distinct RiPP family. Biarylittides constitute a clearly defined RiPP class built on 3–5-residue cores that are rigidified by a biaryl cross-link between aromatic



side chains installed by a dedicated cytochrome P450. This architecture pushes the lower size limit of RiPP macrocycles and exemplifies an unusually minimal enzymatic strategy.

Predominantly actinobacterial origin. Most known biarylptide gene clusters occur in actinobacteria, especially in *Streptomyces* and related genera, indicating that biarylptides are a widespread yet long-overlooked component of actinobacterial secondary metabolism. Occasional clusters in other bacterial phyla point to horizontal gene transfer or convergent evolution.

Minimal biosynthetic gene set. The canonical biarylptide pathway is encoded by a compact two-gene cassette comprising a short precursor peptide and a single P450 enzyme. This enzyme family is capable of forging C–C, C–N or C–O bonds between aromatic residues, illustrating remarkable catalytic versatility within a simple genetic framework.

Conserved scaffold with limited, but meaningful variation. All characterized biarylptides share a three-residue macrocycle containing two aromatic amino acids, often accompanied by N-terminal acyl or methyl modifications. Variability is mostly confined to the identity of the middle residue and peripheral decorations, suggesting a conserved structural scaffold with controlled diversification.

Biological role remains largely unresolved. Despite structural characterization of several members, biarylptides still lack a well-defined biological function. Available data indicate weak or no activity in standard antimicrobial and cytotoxic assays, implying that their native roles may involve more specific targets or subtle ecological interactions.

High potential for future discovery and engineering. The combination of minimal gene circuitry, chemically versatile P450 enzymes and numerous cryptic gene clusters in microbial genomes makes biarylptides attractive subjects for further research. Both natural product discovery and enzyme engineering are poised to deliver new scaffolds and expanded activity profiles.

In summary, biarylptides can be viewed as “micro-macrocycles”: tiny peptides endowed with the complex cross-linking more typical of larger natural products. Clarifying their biological function and fully exploiting their biosynthetic machinery should provide valuable insights into RiPP chemistry and may yield new tools for pharmaceutical and biotechnological applications.

М. Ю. Бідник, А. М. Остапчук

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Змієнка Всеволода, 2, м. Одеса, 65082, Україна,
e-mail: mari.sea09@gmail.com

БІАРИЛІТИДИ ЯК УЛЬТРАКОРОТКІ РИБОСОМАЛЬНІ ПЕПТИДИ АКТИНОБАКТЕРІЙ

Резюме

Актинобактерії є активними продуцентами біоактивних природних сполук, зокрема численних рибосомально синтезованих і посттрансляційно модифікованих пептидів (RiPPs). Нещодавно виявлена підгрупа цих сполук



— біарилітиди — характеризується надзвичайно короткими прекурсорними пептидами (3–5 амінокислот) та унікальним біарильним зв'язком між ароматичними залишками. Уперше ці сполуки були описані у представників родів *Planotopospora* та *Ruxidicoccus*, а згодом — у *Streptomyces*. Біарилітиди синтезуються за участю мінімальних біосинтетичних генетичних кластерів, що кодують короткий прекурсорний пептид і специфічний фермент — цитохром P450. Ці P450-ензими, відомі як біарилітид-синтази, каталізують утворення нетипових C–C, C–N або C–O зв'язків, що формують жорсткі макроциклічні структури. Аналіз літературних даних свідчить, що понад 90% ідентифікованих біарилітидних генних кластерів належать актинобактеріям, що підкреслює їхнє еволюційне значення. Попри обмежену кількість експериментальних характеристик, біарилітиди є найкоротшими з відомих RiPPs і демонструють, як мінімальні пептидні структури можуть утворювати хімічно складні природні продукти. Споріднені з ними перехресно зшиті RiPP-сполуки, такі як динобактин А та неопетромін, проявляють потужну антибактеріальну або екологічну активність, що свідчить про подібний потенціал і для біарилітидів. Останні дослідження з білкової інженерії показали, що P450-ензими біарилітидів мають широку субстратну специфічність, відкриваючи перспективи для синтетичного розширення їхньої хімічної різноманітності. У цьому огляді узагальнено сучасні біохімічні та біоінформатичні дані щодо відкриття, структури та біосинтезу біарилітидів із фокусом на їхній генетичній організації та функціональних ролях. Біарилітиди становлять захопливий новий клас надкоротких RiPP-природних сполук, що потребує подальшого геномного скринінгу та механістичних досліджень для виявлення нових варіантів і з'ясування їхньої екологічної або фармакологічної значущості.

Ключові слова: біарилітиди; актинобактерії; RiPPs; цитохром P450; біосинтетичні генні кластери.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Arnison P. G., Bibb M. J., Bierbaum G., Bowers A. A., Bugni T. S., Bulaj G., Camarero J. A., Campopiano D. J., Challis G. L., Clardy J., Cotter D. P., Craik D. J., Dawson M., Dittmann E., Donadio S., Dorrestein P. C., Entian K. D., Fischbach M. A., Garavelli J. S., Göransson U., Gruber C. W., Haft D. H., Hemscheidt T. K., Hertweck C., Hill C., Horswill A. R., Jaspars M., Kelly W. L., Klinman J. P., Kuipers O. P., Link A. J., Liu W., Marahiel M. A., Mitchell D. A., Moll G. N., Moore B. S., Müller R., Nair S. K., Nes I. F., Norris G. E., Olivera B. M., Onaka H., Patchett M. L., Piel J., Reaney M. J., Rebuffat S., Ross R. P., Sahl H. G., Schmidt E. W., Selsted M. E., Severinov K., Shen B., Sivonen K., Smith L., Stein T., Süßmuth R. D., Tagg J. R., Tang G. L., Truman A. W., Vederas J. C., Walsh C. T., Walton J. D., Wenzel S. C., Willey J. M., van der Donk W. A. Ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide natural products: overview and recommendations for a universal nomenclature // *Nat. Prod. Rep.* – 2013. – Vol. 30, no 1. – P. 108–160. <https://doi.org/10.1039/C2NP20085F>
2. Biermann F., Tan B., Breitenbach M., Kakumu Y., Nanudorn P., Dimitrova Y., Walker A. S., Ueoka R., Helfrich E. J. N. Exploration, expansion and



- definition of the atropopeptide family of ribosomally synthesized and posttranslationally modified peptides // *Chem. Sci.* – 2024. – Vol. 15. – P. 17506–17523. <https://doi.org/10.1039/D4SC03469D>
3. He B. B., Liu J., Cheng Z., Liu R., Zhong Z., Gao Y., Liu H., Song Z. M., Tian Y., Li Y. X. Bacterial Cytochrome P450 Catalyzed Post-translational Macrocyclization of Ribosomal Peptides // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2023. – Vol. 62, no 46. – P. e202311533. <https://doi.org/10.1002/anie.202311533>
 4. Hitora Y., El-Desoky A. H., Sadahiro Y., Sejiyama A., Kinoshita A., Ise Y., Angkouw E. D., Mangindaan R. E. P., Higaki T., Tsukamoto S. Neopetromin, a cyclic tripeptide with a C–N cross-link, from the marine sponge *Neopetrosia sp.*, that causes vacuole fragmentation in tobacco BY-2 cells // *J. Nat. Prod.* – 2024. – Vol. 87, no 4. – P. 1197–1202. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.4c00158>
 5. Hitora Y., Maeda R., Honda K., Sadahiro Y., Ise Y., Angkouw E. D., Mangindaan R. E. P., Tsukamoto S. Neopetrosidines A–D, pyridine alkaloids isolated from the marine sponge *Neopetrosia chaliniformis* and their cell cycle elongation activity // *Bioorg. Med. Chem.* – 2021. – Vol. 50. – P. 116461. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2021.116461>
 6. Horne J. E., Brockwell D. J., Radford S. E. Role of the lipid bilayer in outer membrane protein folding in Gram-negative bacteria // *J. Biol. Chem.* – 2020. – Vol. 295, no 30. – P. 10340–10367. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.011473>
 7. Hu Y. L., Yin F. Z., Shi J., Ma S. Y., Wang Z. R., Tan R. X., Jiao R. H., Ge H. M. P450-modified ribosomally synthesized peptides with aromatic cross-links // *J. Am. Chem. Soc.* – 2023. – Vol. 145. – P. 27325–27335. <https://doi.org/10.1021/jacs.3c07416>
 8. Hug J. J., Frank N. A., Walt C., Šenica P., Panter F., Müller R. Genome-guided discovery of the first myxobacterial biaryllytide myxarylin reveals distinct C–N biaryl crosslinking in RiPP biosynthesis // *Molecules.* – 2021. – Vol. 26, no 24. – P. 7483. <https://doi.org/10.3390/molecules26247483>
 9. Imai Y., Meyer K. J., Iinishi A., Favre-Godal Q., Green R., Manuse S., Caboni M., Mori M., Niles S., Ghiglieri M., Honrao C., Ma X., Guo J. J., Makriyannis A., Linares-Otoya L., Böhringer N., Wuisan Z. G., Kaur H., Wu R., Mateus A., Typas A., Savitski M. M., Espinoza J. L., O'Rourke A., Nelson K. E., Hiller S., Noinaj N., Schäberle T. F., D'Onofrio A., Lewis K. A new antibiotic selectively kills Gram-negative pathogens // *Nature.* – 2019. – Vol. 576, no 7787. – P. 459–464. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1791-1>
 10. Kandy S. K., Pasquale M. A., Chekan J. R. Aromatic side-chain crosslinking in RiPP biosynthesis // *Nat. Chem. Biol.* – 2025. – Vol. 21. – P. 168–181. <https://doi.org/10.1038/s41589-024-01795-y>
 11. Khan A. H., Haedar J. R., Kiselov V., Romanuks V., Smits G., Donadio S., Phan C.-S. P450 biaryllytide synthase ShyB catalyzes the cross-link between His-C2 and Tyr-O4 on the precursor peptide // *Org. Lett.* – 2025. – Vol. 27, no 22. – P. 5715–5719. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5c01487>



12. Li Y., Ma Y., Xia Y., Zhang T., Sun S., Gao J., Yao H., Wang H. Discovery and biosynthesis of tricyclic copper-binding ribosomal peptides containing histidine-to-butyrine crosslinks // *Nat. Commun.* – 2023. – Vol. 14. – P. 2944. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38517-2>
13. Liu J., Liu R., He B. B., Lin X., Guo L., Wu G., Li Y. X. Bacterial cytochrome P450 catalyzed macrocyclization of ribosomal peptides // *ACS Bio Med Chem Au.* – 2024. – Vol. 4, no 6. – P. 268–279. <https://doi.org/10.1021/acsbiochemau.4c00080>
14. Liu W. Q., Ji X., Ba F., Zhang Y., Xu H., Huang S., Zheng X., Liu Y., Ling S., Jewett M. C., Li J. Cell-free biosynthesis and engineering of ribosomally synthesized lanthipeptides // *Nat. Commun.* – 2024. – Vol. 15. – P. 4336. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-48726-y>
15. Miller R. D., Inishi A., Modaresi S. M., Yoo B.-K., Curtis D. T., Lariviere P. J., Liang L., Son S., Nicolau S., Bargabos R., Morrissette M., Gates M. F., Pitt N., Jakob R. P., Rath P., Maier T., Malyutin A. G., Kaiser J. T., Niles S., Karavas B., Ghiglieri M., Bowman S. E. J., Rees D. C., Hiller S., Lewis K. Computational identification of a systemic antibiotic for Gram-negative pathogens // *Nat. Microbiol.* – 2022. – Vol. 7, no 10. – P. 1661–1672. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01227-4>
16. Montalbán-López M., Scott T. A., Ramesh S., Rahman I. R., van Heel A. J., Viel J. H., Bandarian V., Dittmann E., Genilloud O., Goto Y., Grande Burgos M. J., Hill C., Kim S., Koehnke J., Latham J. A., Link A. J., Martínez B., Nair S. K., Nicolet Y., Rebuffat S., Sahl H. G., Sareen D., Schmidt E. W., Schmitt L., Severinov K., Süßmuth R. D., Truman A. W., Wang H., Weng J. K., van Wezel G. P., Zhang Q., Zhong J., Piel J., Mitchell D. A., Kuipers O. P., van der Donk W. A. New developments in RiPP discovery, enzymology and engineering // *Nat. Prod. Rep.* – 2021. – Vol. 38, no 1. – P. 130–239. <https://doi.org/10.1039/d0np00027b>
17. Nam H., An J. S., Lee J., Yun Y., Lee H., Park H., Jung Y., Oh K. B., Oh D. C., Kim S. Exploring the diverse landscape of biaryl-containing peptides generated by cytochrome P450 macrocyclases // *J. Am. Chem. Soc.* – 2023. – Vol. 145, no 40. – P. 22047–22057. <https://doi.org/10.1021/jacs.3c07140>
18. Nanudorn P., Thiengmag S., Biermann F., Erkoc P., Dirnberger S. D., Phan T. N., Fürst R., Ueoka R., Helfrich E. J. N. Atropopeptides are a novel family of ribosomally synthesized and posttranslationally modified peptides with a complex molecular shape // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2022. – Vol. 61, no 41. – P. e202208361. <https://doi.org/10.1002/anie.202208361>
19. Padvá L., Gullick J., Coe L. J., Hansen M. H., De Voss J. J., Crüsemann M., Cryle M. J. The biarylites: understanding the structure and biosynthesis of a fascinating class of cytochrome P450 modified RiPP natural products // *ChemBioChem.* – 2025. – Vol. 26, no 7. – P. e202400916. <https://doi.org/10.1002/cbic.202400916>
20. Reisberg S. H., Gao Y., Cruz K., Clark M. A., Nunes J. P., Brown T. A., Yeung C. S., Clardy J., Sorensen E. J. Total synthesis reveals atypical atropisomerism in a small-molecule natural product, tryptorubin A // *Science.* – 2020. – Vol. 367, no 6477. – P. 458–463. <https://doi.org/10.1126/science.aay9981>



21. Ren H., Dommaraju S. R., Huang C., Cui H., Pan Y., Nesic M., Zhu L., Sarlah D., Mitchell D. A., Zhao H. Genome mining unveils a class of ribosomal peptides with two amino termini // *Nat. Commun.* – 2023. – Vol. 14, no 1. – P. 1624. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37287-1>
22. Richter D., Piel J. Novel types of RiPP-modifying enzymes // *Curr. Opin. Chem. Biol.* – 2024. – Vol. 80. – P. 102463. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2024.102463>
23. Ritzmann N., Manioglu S., Hiller S., Müller D. J. Monitoring the antibiotic darobactin modulating the β -barrel assembly factor BamA // *Structure.* – 2022. – Vol. 30, no 3. – P. 350–359.e3. <https://doi.org/10.1016/j.str.2021.11.004>
24. Saad H., Majer T., Bhattarai K., Lampe S., Nguyen D. T., Kramer M., Straetener J., Brötz-Oesterhelt H., Mitchell D. A., Gross H. Bioinformatics-guided discovery of biaryl-linked lasso peptides // *Chem. Sci.* – 2023. – Vol. 14. – P. 13176–13183. <https://doi.org/10.1039/D3SC02380J>
25. Santos-Aberturas J., Vior N. M. Beyond soil-dwelling actinobacteria: fantastic antibiotics and where to find them // *Antibiotics (Basel).* – 2022. – Vol. 11, no 2. – P. 195. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020195>
26. Seyfert C. E., Porten C., Yuan B., Deckarm S., Panter F., Bader C. D., Coetzee J., Deschner F., Tehrani K. H. M. E., Higgins P. G., Seifert H., Marlovits T. C., Herrmann J., Müller R. Darobactins exhibiting superior antibiotic activity by cryo-EM structure guided biosynthetic engineering // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2023. – Vol. 62, no 2. – P. e202214094. <https://doi.org/10.1002/anie.202214094>
27. Treisman M., Coe L., Zhao Y., Sasi V. M., Gullick J., Hansen M. H., Ly A., Leichthammer V., Hess C., Machell D. L., Schittenhelm R. B., Hooper J., Jackson C. J., Tailhades J., De Voss J. J., Cryle M. J. An engineered biarylittide cross-linking P450 from RiPP biosynthesis generates alternative cyclic peptides // *Org. Lett.* – 2024. – Vol. 26, no 9. – P. 1828–1833. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.3c04366>
28. Wu G., He B. B., Cheng Z., Zhong Z., Gao Y., Li Y. X. Cytochromes P450 associated with the biosyntheses of ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides // *ACS Bio Med Chem Au.* – 2023. – Vol. 3, no 5. – P. 371–388. <https://doi.org/10.1021/acsbiochemau.3c00026>
29. Wyche T. P., Ruzzini A. C., Schwab L., Currie C. R., Clardy J. Tryptorubin A: a polycyclic peptide from a fungus-derived Streptomyces // *J. Am. Chem. Soc.* – 2017. – Vol. 139, no 37. – P. 12899–12902. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b06176>
30. Zdouc M. M., Alanjary M. M., Zarazúa G. S., Maffioli S. I., Crüsemann M., Medema M. H., Donadio S., Sosio M. A biaryl-linked tripeptide from *Planomonospora* reveals a widespread class of minimal RiPP gene clusters // *Cell Chem. Biol.* – 2021. – Vol. 28, no 5. – P. 733–739. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2020.11.009>
31. Zhao Y., Marschall E., Treisman M., McKay A., Padvá L., Crüsemann M., Nelson D. R., Steer D. L., Schittenhelm R. B., Tailhades J., Cryle M. J. Cytochrome P450Blt enables versatile peptide cyclisation to generate



histidine- and tyrosine-containing crosslinked tripeptide building blocks // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2022. – Vol. 61. – P. e202204957. <https://doi.org/10.1002/anie.202204957>

REFERENCES

1. Arnison PG, Bibb MJ, Bierbaum G, Bowers AA, Bugni TS, Bulaj G, Camarero JA, Campopiano DJ, Challis GL, Clardy J, Cotter PD, Craik DJ, Dawson M, Dittmann E, Donadio S, Dorrestein PC, Entian KD, Fischbach MA, Garavelli JS, Göransson U, Gruber CW, Haft DH, Hemscheidt TK, Hertweck C, Hill C, Horswill AR, Jaspars M, Kelly WL, Klinman JP, Kuipers OP, Link AJ, Liu W, Marahiel MA, Mitchell DA, Moll GN, Moore BS, Müller R, Nair SK, Nes IF, Norris GE, Olivera BM, Onaka H, Patchett ML, Piel J, Reaney MJ, Rebuffat S, Ross RP, Sahl HG, Schmidt EW, Selsted ME, Severinov K, Shen B, Sivonen K, Smith L, Stein T, Süßmuth RD, Tagg JR, Tang GL, Truman AW, Vederas JC, Walsh CT, Walton JD, Wenzel SC, Willey JM, van der Donk WA. Ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide natural products: overview and recommendations for a universal nomenclature. *Nat Prod Rep.* 2013;30(1):108–160. <https://doi.org/10.1039/C2NP20085F>
2. Biermann F, Tan B, Breitenbach M, Kakumu Y, Nanudorn P, Dimitrova Y, Walker AS, Ueoka R, Helfrich EJM. Exploration, expansion and definition of the atropopeptide family of ribosomally synthesized and posttranslationally modified peptides. *Chem Sci. (Edge Article)* 2024;15:17506–17523. <https://doi.org/10.1039/D4SC03469D>
3. He BB, Liu J, Cheng Z, Liu R, Zhong Z, Gao Y, Liu H, Song ZM, Tian Y, Li YX. Bacterial Cytochrome P450 Catalyzed Post-translational macrocyclization of ribosomal peptides. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2023;62(46):e202311533. <https://doi.org/10.1002/anie.202311533>
4. Hitora Y, El-Desoky AH, Sadahiro Y, Sejiyama A, Kinoshita A, Ise Y, Angkouw ED, Mangindaan REP, Higaki T, Tsukamoto S. Neopetromin, a cyclic tripeptide with a C–N cross-link, from the marine sponge *Neopetrosia* sp., that causes vacuole fragmentation in tobacco BY-2 cells. *J Nat Prod.* 2024;87(4):1197–1202. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.4c00158>
5. Hitora Y, Maeda R, Honda K, Sadahiro Y, Ise Y, Angkouw ED, E P Mangindaan R, Tsukamoto S. Neopetrosidines A–D, pyridine alkaloids isolated from the marine sponge *Neopetrosia chaliniformis* and their cell cycle elongation activity. *Bioorg Med Chem.* 2021;50:116461. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2021.116461>
6. Horne JE, Brockwell DJ, Radford SE. Role of the lipid bilayer in outer membrane protein folding in Gram-negative bacteria. *J Biol Chem.* 2020;295(30):10340–10367. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV120.011473>
7. Hu YL, Yin FZ, Shi J, Ma SY, Wang ZR, Tan RX, Jiao RH, Ge HM. P450-modified ribosomally synthesized peptides with aromatic cross-links. *J Am Chem Soc.* 2023;145:27325–27335. <https://doi.org/10.1021/jacs.3c07416>



8. Hug JJ, Frank NA, Walt C, Šenica P, Panter F, Müller R. Genome-guided discovery of the first myxobacterial biarylite myxarylin reveals distinct C–N biaryl crosslinking in RiPP biosynthesis. *Molecules*. 2021;26(24):7483. <https://doi.org/10.3390/molecules26247483>
9. Imai Y, Meyer KJ, Iinishi A, Favre-Godal Q, Green R, Manuse S, Caboni M, Mori M, Niles S, Ghiglieri M, Honrao C, Ma X, Guo JJ, Makriyannis A, Linares-Otoya L, Böhringer N, Wuisan ZG, Kaur H, Wu R, Mateus A, Typas A, Savitski MM, Espinoza JL, O'Rourke A, Nelson KE, Hiller S, Noinaj N, Schäberle TF, D'Onofrio A, Lewis K. A new antibiotic selectively kills Gram-negative pathogens. *Nature*. 2019;576(7787):459–464. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1791-1>
10. Kandy SK, Pasquale MA, Chekan JR. Aromatic side-chain crosslinking in RiPP biosynthesis. *Nat Chem Biol*. 2025;21:168–181. <https://doi.org/10.1038/s41589-024-01795-y>
11. Khan AH, Haedar JR, Kiselov V, Romanuks V, Smits G, Donadio S, Phan C-S. P450 biarylite synthase ShyB catalyzes the cross-link between His-C2 and Tyr-O4 on the precursor peptide. *Org Lett*. 2025;27(22):5715–5719. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5c01487>
12. Li Y, Ma Y, Xia Y, Zhang T, Sun S, Gao J, Yao H, Wang H. Discovery and biosynthesis of tricyclic copper-binding ribosomal peptides containing histidine-to-butyryne crosslinks. *Nat Commun*. 2023;14:2944. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38517-2>
13. Liu J, Liu R, He BB, Lin X, Guo L, Wu G, Li YX. Bacterial cytochrome P450 catalyzed macrocyclization of ribosomal peptides. *ACS Bio Med Chem Au*. 2024;4(6):268–279. <https://doi.org/10.1021/acsbiomedchemau.4c00080>
14. Liu WQ, Ji X, Ba F, Zhang Y, Xu H, Huang S, Zheng X, Liu Y, Ling S, Jewett MC, Li J. Cell-free biosynthesis and engineering of ribosomally synthesized lanthipeptides. *Nat Commun*. 2024;15:4336. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-48726-y>
15. Miller RD, Iinishi A, Modaresi SM, Yoo B-K, Curtis TD, Lariviere PJ, Liang L, Son S, Nicolau S, Bargabos R, Morrissette M, Gates MF, Pitt N, Jakob RP, Rath P, Maier T, Malyutin AG, Kaiser JT, Niles S, Karavas B, Ghiglieri M, Bowman SEJ, Rees DC, Hiller S, Lewis K. Computational identification of a systemic antibiotic for Gram-negative pathogens. *Nat Microbiol*. 2022;7(10):1661–1672. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01227-4>
16. Montalbán-López M, Scott TA, Ramesh S, Rahman IR, van Heel AJ, Viel JH, Bandarian V, Dittmann E, Genilloud O, Goto Y, Grande Burgos MJ, Hill C, Kim S, Koehnke J, Latham JA, Link AJ, Martínez B, Nair SK, Nicolet Y, Rebuffat S, Sahl HG, Sareen D, Schmidt EW, Schmitt L, Severinov K, Süßmuth RD, Truman AW, Wang H, Weng JK, van Wezel GP, Zhang Q, Zhong J, Piel J, Mitchell DA, Kuipers OP, van der Donk WA. New developments in RiPP discovery, enzymology and engineering. *Nat Prod Rep*. 2021;38(1):130–239. <https://doi.org/10.1039/d0np00027b>
17. Nam H, An JS, Lee J, Yun Y, Lee H, Park H, Jung Y, Oh KB, Oh DC, Kim S. Exploring the diverse landscape of biaryl-containing peptides generated



- by cytochrome P450 macrocyclases. *J Am Chem Soc.* 2023;145(40):22047–22057. <https://doi.org/10.1021/jacs.3c07140>
18. Nanudorn P, Thiengmag S, Biermann F, Erkoc P, Dirnberger SD, Phan TN, Fürst R, Ueoka R, Helfrich EJM. Atropopeptides are a novel family of ribosomally synthesized and posttranslationally modified peptides with a complex molecular shape. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2022;61(41):e202208361. <https://doi.org/10.1002/anie.202208361>
 19. Padva L, Gullick J, Coe LJ, Hansen MH, De Voss JJ, Crüsemann M, Cryle MJ. The biarylites: understanding the structure and biosynthesis of a fascinating class of cytochrome P450 modified RiPP natural products. *ChemBioChem.* 2025;26(7):e202400916. <https://doi.org/10.1002/cbic.202400916>
 20. Reisberg SH, Gao Y, Cruz K, Clark MA, Nunes JP, Brown TA, Yeung CS, Clardy J, Sorensen EJ. Total synthesis reveals atypical atropisomerism in a small-molecule natural product, tryptorubin A. *Science.* 2020;367(6477):458–463. <https://doi.org/10.1126/science.aay9981>
 21. Ren H, Dommaraju SR, Huang C, Cui H, Pan Y, Nesic M, Zhu L, Sarlah D, Mitchell DA, Zhao H. Genome mining unveils a class of ribosomal peptides with two amino termini. *Nat Commun.* 2023;14(1):1624. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37287-1>
 22. Richter D, Piel J. Novel types of RiPP-modifying enzymes. *Curr Opin Chem Biol.* 2024;80:102463. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2024.102463>
 23. Ritzmann N, Manioglou S, Hiller S, Müller DJ. Monitoring the antibiotic darobactin modulating the β -barrel assembly factor BamA. *Structure.* 2022;30(3):350-359.e3. <https://doi.org/10.1016/j.str.2021.11.004>
 24. Saad H, Majer T, Bhattarai K, Lampe S, Nguyen DT, Kramer M, Straetener J, Brötz-Oesterhelt H, Mitchell DA, Gross H. Bioinformatics-guided discovery of biaryl-linked lasso peptides. *Chem Sci.* 2023;14:13176–13183. <https://doi.org/10.1039/D3SC02380J>
 25. Santos-Aberturas J, Vior NM. Beyond soil-dwelling actinobacteria: fantastic antibiotics and where to find them. *Antibiotics (Basel).* 2022;11(2):195. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020195>
 26. Seyfert CE, Porten C, Yuan B, Deckarm S, Panter F, Bader CD, Coetzee J, Deschner F, Tehrani KHME, Higgins PG, Seifert H, Marlovits TC, Herrmann J, Müller R. Darobactins exhibiting superior antibiotic activity by cryo-EM structure guided biosynthetic engineering. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2023;62(2):e202214094. <https://doi.org/10.1002/anie.202214094>
 27. Treisman M, Coe L, Zhao Y, Sasi VM, Gullick J, Hansen MH, Ly A, Leichthammer V, Hess C, Machell DL, Schittenhelm RB, Hooper J, Jackson CJ, Tailhades J, De Voss JJ, Cryle MJ. An engineered biarylite cross-linking P450 from RiPP biosynthesis generates alternative cyclic peptides. *Org Lett.* 2024;26(9):1828-1833. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.3c04366>
 28. Wu G, He BB, Cheng Z, Zhong Z, Gao Y, Li YX. Cytochromes P450 associated with the biosyntheses of ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides. *ACS Bio Med Chem Au.* 2023;3(5):371–388. <https://doi.org/10.1021/acsbiomedchemau.3c00026>



29. Wyche TP, Ruzzini AC, Schwab L, Currie CR, Clardy J. Tryptorubin A: a polycyclic peptide from a fungus-derived Streptomyces. *J Am Chem Soc.* 2017;139(37):12899–12902. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b06176>
30. Zdouc MM, Alanjary MM, Zarazúa GS, Maffioli SI, Crüseemann M, Medema MH, Donadio S, Sosio M. A biaryl-linked tripeptide from Planomonospora reveals a widespread class of minimal RiPP gene clusters. *Cell Chem Biol.* 2021;28(5):733–739. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2020.11.009>
31. Zhao Y, Marschall E, Treisman M, McKay A, Padva L, Crüseemann M, Nelson DR, Steer DL, Schittenhelm RB, Tailhades J, Cryle MJ. Cytochrome P450Blt enables versatile peptide cyclisation to generate histidine- and tyrosine-containing crosslinked tripeptide building blocks. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2022;61:e202204957. <https://doi.org/10.1002/anie.202204957>

Стаття надійшла до редакції 20.11.2025 р.



УДК 579.821

В. Ю. Іваніца, І. В. Страшнова

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Змієнка Всеволода, 2, м. Одеса, 65082, Україна,
e-mail: vitali_ivanitsa@stud.onu.edu.ua

МОРСЬКІ МІКСОБАКТЕРІЇ – УНІКАЛЬНА ГРУПА З ВИСОКИМ БІОСИНТЕТИЧНИМ ПОТЕНЦІАЛОМ

Необхідність у нових антимікробних препаратах зумовлює пошук нових біологічно активних речовин. Найперспективнішим джерелом і ресурсом для інноваційних біоактивних натуральних продуктів є і залишаються бактерії, серед яких чільне місце посідають міксобактерії. Огляд присвячено особливостям біології міксобактерій, які відомі не лише своїм складним хижацьким способом життя, але й, що ще важливіше, своєю здатністю синтезувати позаклітинні гідролітичні ферменти і різноманітні вторинні метаболіти, структурні особливості та механізм дії багатьох із яких є унікальним. Особливу увагу приділено галофільним/галотолерантним міксобактеріям, виділеним із морського середовища, які, за даними геномно-метаболомного аналізу, мають потужний біосинтетичний потенціал і є перспективним джерелом нових сполук з різноманітним біоактивним спектром та унікальним механізмом дії.

Ключові слова: міксобактерії, морські міксобактерії, біоактивні вторинні метаболіти, гідролітичні ферменти.

Резистентність патогенів до антимікробних препаратів досить тривалий час обговорюється в науковій і медичній спільноті [68]. Незважаючи на всі зусилля, спрямовані на подолання цього явища, антибіотикорезистентність не тільки залишається, а й постає критичною глобальною проблемою охорони здоров'я, зумовленою неправильним і часто надмірним використанням антибіотиків у різних секторах, що призводить до появи резистентних мікроорганізмів та створює «тиху пандемію», яка може перевершити по смертності інші причини до 2050 р. [2].

Більш напруженою та складною є ця ситуація в Україні. Внаслідок повномасштабної війни, відбувається стрімке поширення антибіотикорезистентних мікроорганізмів, зумовлене бойовими пораненнями, частими ускладненнями яких є гнійні інфекції [63]. Згідно даних літератури, у близько 50% поранених діагностують інфекційні захворювання, викликані полірезистентними мікроорганізмами, що створює потенційний ризик до збільшення поширення їх в українських лікарнях [1].

Найбільш перспективним джерелом і ресурсом для інноваційних біоактивних натуральних продуктів залишаються бактерії [41], серед яких чільне місце посідають актинобактерії і міксобактерії. І якщо актинобактерії як дже-



рело антибіотиків, досліджуються протягом багатьох років, то антимікробний потенціал міксобактерій, у першу чергу морських, недооцінений, попри те, що вони є потужними продуцентами вторинних метаболітів, літичних ферментів, везикул зовнішньої мембрани та антимікробних пептидів [18, 62].

Загальна характеристика міксобактерій

Міксобактерії – це паличкоподібні грамнегативні протеобактерії, дуже поширені у навколишньому середовищі, перш за все в ґрунті [12, 79]. Міксобактерії характеризуються складною соціальною поведінкою, утворенням багатоклітинних структур – плодових тіл та хижацтвом [18, 35]. Специфічною ознакою їх є здатність до пересування шляхом ковзання.

Механізм ковзного руху найкраще вивчено у бактерій роду *Mухосoccus*. Вважається, що ці бактерії мають на поверхні спіральний трек, утворений білками, який по спіралі огортає клітину та обертається, а клітина обертається навколо своєї вісі в протилежний бік і рухається вперед. Зазвичай, рухаються вони «роями», що містять багато клітин, які утримуються разом за допомогою міжклітинних молекулярних сигналів [9].

Міксобактерії демонструють складний соціальний багатоклітинний життєвий цикл розвитку, що включає два типи рухливості – S-тип (соціальний) та A-тип (відповідає за рух окремих клітин, дозволяючи їм розсіюватися з основного рою) [56]. Коли поживних речовин мало, клітини агрегують шляхом хемотаксису, утворюють багатоклітинні плодові тіла, що часто в спорангіолах містять диференційовані типи клітин – міксоспори, які більш стійкі до умов навколишнього середовища. Через стійкість до висихання, міксоспори здатні виживати в несприятливих умовах навколишнього середовища протягом багатьох років [18, 41, 82, 88]. З настанням сприятливих умов вони проростають у повноцінні клітини [5]. Плодові тіла можуть складатися з 10^5 – 10^6 клітин. Вони демонструють широкий спектр відмінностей між родами та видами щодо їхньої висоти, форми та кольору, який здебільшого варіює від жовтого, помаранчевого або червоного до коричневого або навіть чорного [41, 88].

Міксобактерії поділяються на дві основні функціональні групи залежно від їхніх харчових звичок: целюлолітичні (наприклад, *Sorangium cellulosum*), які розкладають целюлозу, та бактеріолітичні (наприклад, *Mухосoccus xanthus*), що полюють на інші мікроби для отримання поживних речовин. Особливості живлення міксобактерій фактично є основою для сучасних методів їх культивування [79].

Хижі міксобактерії використовують складні механізми охоти «вовчої зграї» для знищення своєї здобичі, виділяючи арсенал антимікробних речовин, які вбивають клітини здобичі, лізують їх та споживають вивільнені макромолекули [72, 81]. При цьому міксобактерії здатні вбивати та споживати широкий спектр мікроорганізмів, включаючи як грампозитивні та грамнегативні бактерії, так і дріжджоподібні гриби [18, 48].

Поділ на функціональні групи певним чином корелює з формальною таксономією. Міксобактерії віднесені до типу *Pseudomonadota* (синонім: *Mухосoccota*), класу *Deltaproteobacteria* (синонім: *Mухосoccia*). Станом на травень 2025 р. вони розділені на 2 порядки, 8 родин, 31 рід та 110 видів [89].



Переважає більшість міксобактерій аероби, однак є анаеробні (*Anaeromyxobacter* sp.) та факультативно-аеробні міксобактерії (*Anaeromyxobacter dehalogenans*) [64, 86]. Так, *A. dehalogenans*, виявлений в осаді озера Мічіган, росте з 2-хлорфенолом як акцептором електронів та ацетатом як донором електронів [64]. Кілька штамів *Anaeromyxobacter* sp. також виділили з ґрунту осушеного рисового поля [75] та із забрудненого миш'яком ґрунту [39].

Більшість міксобактерій виявлено в ґрунтах з рН 5,0–8,0. Їх також виділили з кислих (рН 2,5) та лужних (рН 8,0–9,2) ґрунтів, хоча різноманіття було меншим, ніж в слабокислих та нейтральних ґрунтах [11], в яких переважали представники родів *Muxococcus* та *Corallococcus* [55]. У слабокислих ґрунтах переважав *Corallococcus coralloides*, а в ґрунтах з рН 3,0–3,5 – *Muxococcus fulvus* [5].

Окрім ґрунту, міксобактерії були виділені з деревини та кори дерев і лишайників, що гниють, глибин печер, боліт, комах, гною трав'янистих тварин та з водного середовища [61]. В лужних болотах виявлені представники родів *Muxococcus*, *Archangium*, *Sorangium* та *Melittangium* [5].

Виявлені в прісних водоймах міксобактерії мають деякі ознаки, характерні для ґрунтових мешканців, що дозволяє припустити, що ці міксобактерії були змиті з ґрунту. Дослідження, пов'язані з прісноводними середовищами існування міксобактерій, показують, що в озерному мулі міксобактерії були переважною бактеріальною групою [43].

Із морського середовища виділені галофільні міксобактерії *Enhygromyxa*, *Haliangium*, *Plesiocystis* [3]. Ця група міксобактерій філогенетично віддалені від ґрунтових міксобактерій, мають антеїзорозгалужені жирні кислоти, які допомагають їм виживати за концентрацій солі 2–3% NaCl [17]. Т. Brinkhoff et al. (2012) детектували кластер морських міксобактерій (Marine Muxobacteria Cluster, MMC) в осадах Північного моря і виявили, що він поширений в морських осадах різних кліматичних регіонів [6].

Крім цього, також відомі галотолерантні ізоляти міксобактерій. Так, наприклад, *Pseudoenhygromyxa* вперше виділено із естуарного болота в Японії [33, 44]. Галотолерантні міксобактерії (*Sorangium*, *Cystobacter*, *Muxococcus*, *Polyangium*, *Corallococcus*, *Nannocystis*) ізолювали з засолених ґрунтів [5, 42].

Попри те, що більшість міксобактерій є мезофілами з температурним оптимумом росту 30 °С, деякі бактерії цієї групи можуть рости і при температурі до 44 °С. Температура, вища 40 °С, зазвичай, несприятлива для росту міксобактерій; міксоспори можуть переносити 55–60 °С, а вегетативні клітини більшості міксобактерій не можуть вижити при температурі вищій за 45 °С. Ця характеристика може служити методом очищення міксобактерій під час виділення [61].

Є повідомлення про виділення помірно термофільних міксобактерій з ґрунтів напівпосушливих регіонів, вони характеризувалися високою швидкістю росту при температурі 42–44 °С [23]. Деякі термофільні міксобактерії з оптимальною температурою росту від 45 до 49 °С виявлені в прісноводних гарячих джерелах та прибережних солоних джерелах Японії [32].



Деякі види *Polyangium* та *Nannocystis*, виділені з морських осадів, мали температурний оптимумом росту близько 4 °C [59].

Вторинні метаболіти і літичні ферменти міксобактерій

Міксобактерії відомі не лише своїм складним способом життя, але й, що ще важливіше, своєю здатністю синтезувати різноманітні вторинні метаболіти, структурні особливості та механізм дії багатьох із них є унікальними [61, 79, 82]. Загалом вважається, що вторинні метаболіти мікробів переважно синтезуються протягом пізньої логарифмічної та стаціонарної фаз росту, так званої ідіофази, коли метаболізм не в повній мірі забезпечує ріст. Однак з міксобактеріями це не завжди так. Багато метаболітів синтезуються на початку росту культури або невдовзі після нього [82].

Будучи хижацькими бактеріями і проявляючи антимикробну активність, міксобактерії мають великі геноми, що дозволяє кодувати сотні вторинних метаболітів, гідролітичних ферментів, антимикробних пептидів тощо [18, 72].

Геноми міксобактерій мають розміри від 9 до 16 млн п. н. [24, 79], за винятком *Anaeromyxobacter* spp. (5 млн п. н.) [77] та *Vulgatibacter incomptus* (4,4 млн п. н.) [86]. Повідомляється, що до 10% загальних генів міксобактерій задіяні у біосинтезі вторинних метаболітів, що робить їх важливими кандидатами для пошуку і скринінгу антибіотичних речовин. Однак для цих бактерій залишається значна невідповідність між охарактеризованим вторинним метаболомом та біосинтетичним потенціалом, як передбачається геномним аналізом, тобто, вторинних метаболітів виявляється менше ніж генів, що потенційно відповідають за їх синтез [79]. Це може бути пов'язано як із неможливістю виявити деякі метаболіти наявними методами екстракції та детекції, так і присутністю в геномі так званих «мовчазних» генів [41].

Зараз створюються і доповнюються наявні геномні і метаболомні бази даних міксобактерій, наприклад, МухоPortal і МухоDB, завдяки наявній в них інформації, яка постійно поповнюється, може бути легше знайти можливості для посилення біосинтезу відомих метаболітів, а також активації невикористаних «мовчазних» генів для нових речовин [41].

МухоPortal – це база даних, яка об'єднує орієнтовані на застосування геномні ознаки, які можна використовувати в таксономії, еволюції, хижацтві та антимикробних дослідженнях [72]. Це комплексна база даних, що наразі містить 262 геноми штамів міксобактерій, в якій наведено анотації геномів з розташуванням генів, функціями, амінокислотними та нуклеотидними послідовностями, що дозволяє аналізувати еволюційні та таксономічні зв'язки між штамми та генами. Біосинтетичні генні кластери (БГК, Biosynthetic gene clusters – BGCs) ідентифікуються за допомогою antiSMASH, а послідовності антимикробних пептидів, згенеровані dbAMP, включені як ресурс для нових антимикробних відкриттів. Набори даних генів CRISPR/Cas, послідовностей регуляторних білків та генів, пов'язаних з фагами, дають корисну інформацію про біологічні властивості кожного штаму.

База даних МухоDB містить інформацію щодо кількості та класифікації всіх відомих природних продуктів міксобактерій, яка з кожним роком поповнюється [78]. Наразі у міксобактерій було виявлено 816 сполук, класифікованих приблизно за 170 хімічними структурами [79].



Протягом останніх 20 років спостерігається бум у відкритті міксобактеріальних вторинних метаболітів. Окрім вторинних метаболітів, що утворюються на рибосомах міксобактерій [5], виявлено значну частину метаболітів (близько 79%), що біосинтетично походять з так званих модульних полікетидсинтаз (PKS) I типу [7], нерибосомних пептидних синтаз (NRPS) [58] та їх комбінацій (гібридні PKS/NRPS) [51]. Синтез відбувається шляхом поетапного нарощування мономерних блоків: ацил-КоА-тіоестеру (у випадку метаболітів PKS) та амінокислот (як протейногенних, так і непротейногенних у випадку NRPS), з подальшою модифікацією під час утворення проміжних продуктів реакції, або в кінці після вивільнення з мультиферментного комплексу [5, 80].

Виявлені і визначені вторинні метаболіти міксобактерій (полікетиди: макроліди, лінійні полікетиди з гетероциклами, поліциклічні полікетиди; пептиди: ліпопептиди, депсипептиди, сідерофори, рибосомно синтезовані та посттрансляційно модифіковані пептиди; терпеніди, стероли та ін.) демонструють значну структурну різноманітність та біологічну активність [5, 50, 61, 79].

Здатність продукувати багато унікальних біологічно активних сполук досі недостатньо вивчена, але передбачається, що міксобактерії використовують ці сполуки як модулятори клітинно-клітинної взаємодії та хижацьку зброю для виживання в конкурентному середовищі та захисту своїх екологічних ніш [61]. Наприклад, модельна міксобактерія *Mucococcus xanthus* синтезує ДКксантен (гібрид PKS/NRPS) для модуляції процесу споруючості [49]. Амбрутицин (PKS), що виробляється *Sorangium cellulosum*, впливає на формування плодового тіла [47]. Антибіотик ТА (міксовіресцин) (гібрид PKS/NRPS) відіграє важливу роль у хижацтві *Mucococcus xanthus* [84, 85].

Оскільки найбільші популяції міксобактерій переважно населяють наземні екосистеми, то і значну частину вторинних метаболітів виділено саме від представників наземних видів цих бактерій [5]. Продукувати біоактивні вторинні метаболіти спроможні міксобактерії значної кількості видів, але основна їх частка спостерігається серед представників родів *Mucococcus*, *Sorangium* та *Chondromyces* [5, 41]. Здатність міксобактерій синтезувати певну сполуку є характеристикою штаму, а не виду [11].

З міксобактерій, представників роду *Mucococcus*, виділено алтіоміцин, ДКксантен, міксопрінкомід, сафраміцин, піролнітрін, міксотіазол, міксопіролін та ін. і досліджено біологічну активність та механізм їх дії. Із бактерій роду *Sorangium* – амбрутицин, чівосазол, епотилон, ікумазол, леупірін, мальтеполід, тугацин, соразолон, ріпостатин та ін., а з *Chondromyces* – хлоротоніл, хондрамід, хондрохлорен, крокацин, педеїн та ін. [61].

Вторинні метаболіти міксобактерій проявляють антибактеріальну, протигрибкову, цитотоксичну, протиракову, противірусну, протипаразитарну, імуносупресивну та антиоксидантну активності [50, 61].

Механізм дії досліджених міксобактеріальних сполук дуже різноманітний. Так, мішенями антимікробних сполук (наприклад, тугацин, крокацин та ін.), виділених з міксобактерій, можуть бути: електрон-транспортний ланцюг, ацетил-КоА-карбоксілаза, реакція пептидилтрансферази, бактеріальна



РНК-полімераза, топоізомераза типу Іа, сигнальна пептидаза типу ІІ, мембрана або ДНК [61].

Противірибкові сполуки з міксобактерій – педейн А та В, мураєнамід, аурафурони А та В, крименіни та ін. зазвичай спрямовані на клітинне дихання, метаболізм ліпідів, транскрипцію, трансляцію, полімеризацію мікротрубочок або осморегуляцію [61].

Кілька вторинних метаболітів, що продукують міксобактерії, визнані як перспективні протиракові сполуки. Епотилон отриманий з *Sorangium cellulosum* So ce56, тубулізини продукують *Archangium gephyra* Ar 315, *Archangium disciforme* An d48 та *Cystobacter* sp. SBCb004. Мішенями проти-пухлинних сполук, виділених з міксобактерій, є мікротрубочки, процеси дихання, трансляція, вакуолярні АТФази або білки клітинного циклу.

Хлоротоніл А, що синтезується *S. cellulosum*, пригнічує всі стадії розвитку малярійного паразита в крові. Пептиди, що синтезуються *Cystobacter fuscus*, пригнічують *Leishmania donovani* та *Trypanosoma brucei rhodesiense* [61].

Отже, різноманітні активності досліджених міксобактеріальних вторинних метаболітів підкреслюють їх потенціал як продуцентів нових біологічно активних сполук, що можуть знайти своє застосування у терапевтичній практиці.

Окрім біоактивних вторинних метаболітів, для боротьби з іншими мікробами та для розщеплення біомакромолекул міксобактерії продукують літичні ферменти. Після синтезу ці ферменти транспортуються у позаклітинний простір за допомогою ферментно-завантажених везикул зовнішньої мембрани або секреторних систем [45].

Залежно від продукції тих чи інших ферментів міксобактерії поділяють на бактеріолітичні (полюють і лізують живі клітини інших мікроорганізмів для отримання поживних речовин) і целюлозолітичні (розкладають целюлозу) [45].

Целюлозолітичні ферменти переважно виробляють бактерії *Sorangium cellulosum*. Ці ферменти зустрічаються в двох формах: одна – позаклітинні вільні ферменти, інша – клітинно-зв'язані комплексні ферменти [67, 82]. У *Sandaracinus amylolyticus* целюлозолітичні ферменти були ідентифіковані як β -глюкозидази та ендоглюканази разом з α - та γ -амілазою [67].

Бактеріолітичні ферменти беруть участь у лізисі мікробів-жертв. Лізат, що утворюється при цьому, використовується бактеріолітичними міксобактеріями як поживна речовина, що й пояснює їх назву «мікрохижаки» [5]. Ці ферменти також беруть участь в автолізі або запрограмованій клітинній смерті, яка відбувається одночасно з розвитком мікроспор [67, 82].

Ліпіди відіграють ключову роль у життєвому циклі *Мухосoccus* під час хижацтва та розвитку. Так, ліпіди, що містять жирні кислоти $C_{16:1\omega5c}$ (є одними з найпоширеніших ліпідів у *Мухосoccus xanthus*), ліпіди, що містять жирні кислоти $C_{18:1\omega9c}$ (відсутні у *Мухосoccus xanthus*), є хемоатрактантами для виявлення мікроорганізмів-жертв. За допомогою ліполітичних ферментів міксобактерії пошкоджують мембранний бар'єр, вивільняючи жирні кислоти та цитоплазматичний вміст здобичі. Виявлено, що *Мухосoccus xanthus* має вели-



ку кількість передбачуваних генів ліпаз у трьох основних родин: пататинліпази, α/β гідролази та GDSL-ліпази [5, 82].

Міксобактерії продукують позаклітинні кислоти, лужні та нейтральні протеази [82]. Протеолітичні ферменти продукують як целюлолітичні міксобактерії (наприклад, представники роду *Sorangium*), так і хижаки (наприклад, міксобактерії, що належать до роду *Mycococcus*). Припускають три можливі функції позаклітинних протеаз міксобактерій: 1) постачання амінокислот міксобактеріям шляхом гідролізу білків, отриманих із навколишнього середовища; 2) пошкодження клітинної стінки жертви та вивільнення її внутрішньоклітинного вмісту; 3) лізис жертви [82].

Однак виявлені літичні ферменти, ймовірно, лише частина того, що продукують міксобактерії. Численні та різноманітні таксони цих бактерій, особливо некультивовані та неохарактеризовані види, мають значний потенціал для відкриття нових ферментів [45].

Особливості морських міксобактерій

Попри те що першу міксобактерію відкрив ще у 1809 р. німецький ботанік Н. Link і назвав її *Polyangium vitellinum*, масштабні дослідження цих бактерій були розпочаті на початку 20-го століття [61]. Міксобактерії спочатку помилково віднесли до грибів через характерний грибоподібний життєвий цикл. У 1892 р. R. Thaxter ідентифікував ці організми як бактерії [41, 61]. Особливо інтерес до цієї групи бактерій зріс після відкриття Н. Reichenbach et al. (1989) різноманітних та потужних біоактивних вторинних метаболітів і літичних ферментів [61].

Пошук морських міксобактерій розпочався лише у 1950-х роках. Публікації про перші дійсно облігатні галофільні та галотолерантні морські міксобактерії з'явилися лише у 1998 р. Виявлено, що міксобактерії мешкають у морському естуарному середовищі і часто зустрічаються у відкладеннях, осади, на морській траві, водоростях, мідіях, губках тощо [21]. Лише деякі міксобактерії, що ізолювані з морського середовища, вважаються галофільними [10].

Спочатку всі ізоляти з морського середовища вважалися галотолерантними наземними міксобактеріями, мікроспори чи клітини яких були змиті в море [44]. Пізніше з'явилися публікації Т. Iizuka (1998) та Р. Fudou (2002) про перші дійсно галофільні міксобактерії, а саме *Enhygromyxa*, *Haliangium* та *Plesiocystis*, яким для росту суворо потрібні умови солоності, подібні до морських [17, 28, 29, 30, 60]. Відомо, що для боротьби з осмотичним стресом галофільні міксобактерії використовують органічні осмоліти [10]. Наприклад, *Enhygromyxa salina* SWB007 синтезує осмоліти бетаїн, ектоїн та особливо гідроксиектоїн за високих концентрацій солей в середовищі існування. На противагу цьому, *Plesiocystis pacifica* SIR-1 не синтезує спеціалізовані розчинні сполуки. Цей штам радше накопичує немодифіковані амінокислоти (глутамат, пролін та гліцин) як осмозахисні агенти [52].

Звичайно, для осморегуляції можуть бути задіяні також інші механізми, але на сьогоднішній день для міксобактерій вони невідомі [10]. Чи була адаптація до морського середовища першопричиною появи галотолерантних, а згодом галофільних міксобактерій, чи всі морські клади мають одного спіль-



ного предка, поки що не з'ясовано через відносно невелику кількість видів, відомих на сьогодні [10].

Географічно галофільні та галотолерантні міксобактерії широко розповсюджені, їх виділяють, наприклад, з морських середовищ різних географічних зон та частин світу [10].

Типовою галотолерантною міксобактерією, спочатку отриманою з прибережних зразків, є штам *Myxococcus fulvus* HW-1. Повідомлялося, що *Myxococcus fulvus* HW-1 переносить солоність до 3% і внесений до Всесвітнього реєстру морських видів (WoRMS) [<http://www.marinespecies.org>] [90], штам демонструє варіабельну морфологію та соціальну поведінку, типові для міксобактерій, такі як формування плодових тіл на агаровому середовищі з низькою концентрацією морської води або солей [76, 87]. Повідомляється, що галотолерантні міксобактерії, так само як і галофільні, також використовують органічні осмоліти для боротьби з осмотичним стресом [37].

У 2013 р. T. Iizuka et al. із зразків мулу естуарного болота прибережної зони Японії виділили галотолерантну міксобактерію SYR-2^T, що згодом отримала назву *Pseudenhygromyxa salsuginis* [33]. Цей мікроорганізм здатний рости за відсутності солі, проте оптимальний ріст, як було показано, відбувається в діапазоні концентрацій 0,2–1,0% NaCl, утворює злегка заглиблені радіальні рої, формування плодових тіл спостерігається при концентрації NaCl до 2,5%. Особливістю цієї міксобактерії є подібність до галофільних міксобактерій. Після аналізу послідовностей 16S рДНК виявлено, що *Pseudenhygromyxa salsuginis* SYR-2^T продемонстрував, відповідно, 96,5% та 96,0% ідентичність з *Enhygromyxa salina* SHK-1^T та *Plesiocystis pacifica* SIR-1^T [33].

Кількісну присутність міксобактерій у морському середовищі важко оцінити. Виходячи з успіхів виділення, можна припустити, що частота є набагато нижчою (наприклад, лише 6 ізолятів з 90 прибережних зразків [17, 29]), ніж у наземних середовищах існування, але це може просто свідчити про не зовсім оптимальні умови виділення та культивування, що використовуються сьогодні. Дійсно, протоколи ізоляції морських міксобактерій, що наразі застосовуються, лише незначно змінені (наприклад, додавання морської солі), порівняно з протоколами для наземних штамів, наприклад, використання як приманки модельного штаму *Escherichia coli*. Крім того, безумовно, важко розпізнати морські колонії міксобактерій після ізоляції, оскільки їхні морфологічні особливості недостатньо відомі та можуть відрізнятися від характеристик наземних ізолятів. Відповідно, через мале представництво ізольованих і вивчених штамів пул вторинних метаболітів, виділених з морських міксобактерій, на сьогоднішній день незначний, порівняно з їхніми наземними аналогами [10].

Протягом останніх двох десятиліть галофільні та галотолерантні міксобактерії стали важливим джерелом структурно різноманітних вторинних метаболітів, що зумовило інтерес і дослідження цих мікроорганізмів [21, 22]. З наявних генетичних та хімічних даних потенціал галотолерантних та галофільних міксобактерій як продуцентів хімічно різноманітних вторинних метаболітів не підлягає сумніву.



Міксобактерії морського походження вже продемонстрували значний потенціал щодо синтезу природних продуктів [21, 22]. Багато з цих метаболітів мають унікальні структурні особливості і потужну біологічну активність [10]. Прикладами описаних вторинних метаболітів морських міксобактерій є енгіроліди [14], енгіромова кислота [74], галіамід [71], галіангіцин [15, 16], міураєнамід [31, 57], салімабромід [13], саліміксини [14] та тритерпеноїдні стероли [53].

Встановлено, що енгіролід А пригнічує ріст грампозитивних бактерій у мікрограмовій концентрації [14], галіангіцин виявляє протигрибкову активність зі значеннями мінімальної пригнічувальної концентрації, значно меншими, порівняно з амфотерицином та ністатином [15], енгіромова кислота та галіамід показали активність проти проліферації пухлинних клітин меланоми В16 [74] та HeLa-S3 [71], відповідно.

Синтез нових сполук морськими міксобактеріями не обмежується наведеними прикладами, про їх біосинтетичний потенціал свідчить наявність різноманітних БГК, закодованих у кількох доступних послідовностях геному [38, 54]. Секвеновані на сьогодні штами морських міксобактерій задіюють до 10% свого геному у вторинному метаболізмі [10].

А. Moghaddam et al. (2018) проаналізувавши геноми 5 штамів морських міксобактерій, повідомили, що полікетиди та терпени становили більшість передбачуваних спеціалізованих метаболітних БГК [53]. Найбільша група спеціалізованих метаболітних БГК пов'язана з полікетидами, що складають 11,4% усіх БГК. Бактерії штамів *Enhygromyxa salina* та *Plesiocystis pacifica* DSM 14875 містять 9–11 полікетидних БГК, тоді як *Haliangium ochraceum* DSM 14365 – лише два. Також бактерії штамів *Enhygromyxa salina* мають велику кількість терпенових БГК (від шести до дев'яти), *Plesiocystis pacifica* DSM 14875 – п'ять, а *Haliangium ochraceum* DSM 14365 – лише три. Кластери, що кодують нерибосомні пептиди, гібриди РК/NRP та рибосомно синтезовані та посттрансляційно модифіковані пептиди, були переважно штамоспецифічними [53].

Отже, для використання міксобактерій морського походження як джерела біоактивних метаболітів необхідним є їх пошук і поглиблені дослідження морфології та фізіології [10], а також розробка і вдосконалення підходів до виділення та культивування [65], оскільки метагеномний аналіз показує, що морські міксобактерії, ідентифіковані на сьогоднішній день, це лише невелика частина тих, що потенційно існують. Це свідчить про те, що величезна різноманітність видів залишається невивченою [21].

На сьогоднішній день таксономічно достовірно описані п'ять видів (*Enhygromyxa salina*, *Haliangium tepidum*, *Haliangium ochraceum*, *Plesiocystis pacifica*, *Pseudenhygromyxa salsuginis*), що належать до чотирьох нових родів морських та естуарних міксобактерій [17, 21, 29, 30, 33].

Рід *Haliangium*

У 1998 р. Т. Iizuka et al. повідомили про виділення зі зразка сухих морських водоростей *Laminariales*, зібраних на піщаному пляжі (Абуратсубо-ван) півострова Міура в Японії, двох бактерій, що здатні до роїння [3, 28]. Обидва ізоляти формували клітинні агрегати, які, принаймні в одного ізолята, розви-



валися до структур, подібних до плодових тіл, що містять мікоспори. Оптимальні концентрації NaCl для їх росту становили від 2 до 3%, що можна порівняти з концентрацією у морській воді. Ця характеристика росту переконливо свідчила про те, що ці два ізоляти є специфічними морськими бактеріями. Дослідження послідовності 16S рДНК показали, що ці два ізоляти споріднені з родом *Nannocystis*. На основі філогенетичних відстаней між гілками автори зробили висновок, що їх слід віднести до двох нових родів міксобактерій [28].

У 2002 р. R. Fudou et al. детально описали таксономічні властивості двох морських ізолятів (SMP-2^T, SMP-10^T), які мають подібні характеристики, але SMP-10^T росте за вищої температури. На основі фенотипових та філогенетичних характеристик цих двох штамів автори запропонували новий рід *Haliangium* з двома новими видами: *Haliangium ochraceum* та *Haliangium tepidum*, до яких віднесли штами SMP-2^T та SMP-10^T, відповідно [17].

Веgetативні клітини цих двох штамів представлені грамнегативними паличками з тупими кінцями, розміром 0,5–0,6 на 3,0–8,0 мкм. Рухомі, ковзають по твердих поверхнях, таких як агар. Утворюють колонії жовтого кольору, що поширюються по поверхні агару, зазвичай злегка заглиблюючись в нього. Плодові тіла жовтого або коричневого кольору та складаються з однієї або кількох сидячих спорангіолей (15–150 мкм), зібраних у щільні пакування. Облігатні аероби та помірні галофіли (для оптимального росту потребують 1–3% NaCl, максимальна концентрація NaCl, при якій ростуть, – 6%).

Вони є хижачками дріжджів (*Saccharomyces cerevisiae*) та бактерій (*Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*). Були виявлені оксидаза (слабка реакція), лужна фосфатаза, естераза C₈, ліпаза C₁₄ (слабка реакція), кисла фосфатаза (слабка реакція), лейцинариламідаса, валінариламідаса, трипсиноподібні і хімотрипсиноподібні ферменти (слабка реакція), нафтол-AS-BI-фосфогідролаза та β-глюкозидаза. Бактерії цих штамів гідролізують крохмаль, ДНК, казеїн та желатин; не гідролізують целюлозу; основним респіраторним хіноном є менахінон МХ-8, а переважальними жирними кислотами є насичені з ізорозгалуженим ланцюгом (ізо-C_{16:0}) та насичені з прямим ланцюгом (n-C_{16:0}); наявні антеізорозгалужені кислоти. Вміст Г+Ц у ДНК становить від 67,0 до 69,5 мол.%. Типовим видом є *Haliangium ochraceum* [17].

Haliangium ochraceum

Веgetативні клітини *Haliangium ochraceum* – циліндричні палички з тупими кінцями, які негативно забарвлюються за Грамом; розміром 0,5–0,6 на 4,0–4,5 мкм з позаклітинним матриксом. Утворюють колонії, що поширюються за допомогою ковзання на твердих субстратах, таких як агар, утворюючи злегка заглиблені радіальні смуги у вигляді плівкоподібних шарів, що нагадують «рої» [17]. У культурах, що старіють, клітини більше не рухаються для пошуку нових субстратів і збираються у певних точках роїв, утворюючи плодові тіла [34, 36]. Повідомлялося про утворення плодових тіл *Haliangium ochraceum*, що культивувалися як на агаризованих, так і бульйонних середовищах [17, 87].

Плодові тіла являють собою світло-жовті, жовтувато-коричневі, неправильної форми, сидячі випуклості діаметром 50–200 мкм, що містять одну або кілька овальних спорангіолей розміром 20–60 мкм [17, 28]. Сферичні або яй-



цеподібні мікроспори всередині спорангіол – крихітні, розмірами 0,5–0,7 мкм [17, 34]. Мікроспори витримують термічну обробку при температурі 55–60 °С протягом 5 хв. Вони можуть зберігатися у висушеному стані щонайменше 3 місяці [87].

Оптимальна концентрація NaCl для їх росту в лабораторних умовах – 2%, проте ростуть у ширшому діапазоні – 0,5–4% NaCl [17, 28, 87]. Плодові тіла утворюються при концентраціях солі 1,5–3,5% [87]. В лабораторних умовах *Haliangium ochraceum* культивують на модифікованих середовищах VY/2 і CY, до складу яких входить морська сіль. Для індукції роїння мінімальна концентрація інокуляту має бути 10^5 клітин [87]. Температурний діапазон для росту становить 20–40 °С з оптимумом 30–34 °С [17].

Haliangium ochraceum – аероб зі слабкими оксидазною та каталазною реакціями. Не росте на мінеральних середовищах з вуглеводами або органічними кислотами. Добре розкладає полімерні молекули, такі як крохмаль, ДНК, казеїн, хітин або желатин; целюлозу не розщеплює. Бактерії виду *Haliangium ochraceum* здатні лізувати як грамнегативні та грампозитивні бактерії, зокрема *Escherichia coli* та *Micrococcus luteus*, так і дріжджі *Sacharomyces cerevisiae*. Відповідно, продукують ліпазу (C_{14}), трипсиноподібні і хіотрипсиноподібні ферменти, валін та лейцин ариламідази, хітиназу; α -глюкозидаза відсутня [17]. Наразі достеменно не встановлено чи активно *Haliangium ochraceum* полює на бактерії-жертви, як це встановлено для *Muxococcus xanthus* [4].

Haliangium ochraceum демонструє вищу схожість послідовності 16S рДНК з ґрунтовими міксобактеріями, ніж з іншими галофільними морськими міксобактеріями [16, 40]. Менахінон МХ-8 є переважальним хіноном у *Haliangium ochraceum*, як і в усіх досліджених ґрунтових міксобактеріальних таксонах [17, 34]. Від ґрунтових міксобактерій *Haliangium ochraceum* відрізняє облигатна галофільність, наявність пальмітинової кислоти, як основної жирної кислоти, та антеїзорозгалужених жирних кислот [17].

Типовий штам *Haliangium ochraceum* – SMP-2^T (у німецькій колекції мікроорганізмів – *Haliangium ochraceum* DSM14365^T), повна послідовність геному якого була опублікована у 2010 р. (NC_013440.1) [34]. Геном розміром 9,45 млн п. н. складається з однієї головної кільцевої хромосоми з вмістом Г+Ц 67,0%; з 6951 передбачуваних генів 6898 є генами, що кодують білки, а 53 – рНК. Також ідентифіковано 53 псевдогени. Більшість генів, що кодують білки (62,1%), володіють передбачуваними функціями, решта були анотовані як гіпотетичні білки; 10,1% геному задіяно у біосинтезі вторинних метаболітів. У геномі виявлено багато невідомих генів [34]. Важливим відкриттям стало виявлення у геномі *Haliangium ochraceum* послідовності, що кодує білок родини актинів – бактеріальний актинопов'язаний білок (БАПБ; bacterial actin-binding protein (BARP)) [83]. Це є першим повідомленням про гомолог актину в бактеріальному геномі.

R. Fudou et al. (2002) повідомили про перше відкриття біоактивного вторинного метаболіту морських міксобактерій – галіангіцину, полікетиду (поліену) з протигрибковою і цитотоксичною активністю, виділеного з *Haliangium luteum* [15, 16, 61]. Пізніше R. Fudou et al. (2002) перекласифікували її в *Haliangium ochraceum* [17].



Галіангіцин містить кон'югований тетраєновий фрагмент разом з $\alpha\beta$ -метоксиакрилатом [16, 22]. Дослідження біологічної активності показали, що цей полієн специфічно пригнічує транспорт електронів у комплексі III дихального ланцюга нитчастих грибів [15]. Мінімальна пригнічувальна концентрація для *Aspergillus niger* AJ117374 становила 12,5 мкг/мл, для *Fusarium* sp. AJ177167 – 6,3 мкг/мл [10]. Виявлено, що синтез галіангіцину залежить від присутності в середовищі росту NaCl [15]. Оптимальний діапазон для продукції становить 2–3% NaCl у середовищі, що відповідає діапазону оптимального росту. Біосинтетичний генний кластер галіангіцину був гетерологічно експресований у *Mucococcus xanthus*, що призвело до десятикратного підвищення синтезованого галіангіцину у порівнянні з природним продуцентом [10].

Пізніше повідомлялося, що *Haliangium ochraceum* продукує різноманітні ізомери галіангіцину [3]. Отримані неприродні аналоги галіангіцину дали уявлення про взаємозв'язок структури та активності цього метаболіту [70].

Також було показано, що *Haliangium ochraceum* SMP-2^T синтезує галіамід, гібридний полікетид-нерибосомний пептид галіамід через шлях полікетидсинтази типу I та гібридний шлях полікетид-нерибосомного біосинтезу, відповідно [40, 70, 71, 73]. Галіамід проявляє антибактеріальну, протигрибкову і цитотоксичну активності [61], зокрема демонструє цитотоксичність проти лінії пухлинних клітин HeLa-S3 [71].

Проведений antiSASH аналіз геному *Haliangium ochraceum* SMP-2^T виявив наявність 25 кластерів генів вторинних метаболітів, серед яких 3 – NRPS, 2 – PKS, 3 – NRPS/PKS та 4 – рибосомні пептиди, що свідчить про його високий потенціал для синтезу нових метаболітів. Окрім гомологій з біосинтетичними генами геосміну (100%), аурафурону (71%) та панейбактину (50%), виявлено унікальні кластери генів [10].

Метаболомний аналіз *in silico* за допомогою RAST показав, що штам *Haliangium ochraceum* SMP-2^T потенційно може синтезувати терпени, лантипептиди та ласопептиди [53].

Haliangium tepidum

Цей вид роду *Haliangium* був описаний R. Fudou et al. (2002) разом з *Haliangium ochraceum* [17]. *Haliangium tepidum* має всі властивості, характерні для роду *Haliangium*, однак міксобактерії цього виду є менш дослідженими, ніж *Haliangium ochraceum* [3].

Виявлено, що *Haliangium tepidum* має морфологію клітин та структуру плодових тіл, подібну до *Haliangium ochraceum*. Клітини являють собою грамнегативні палички з тупими кінцями, розміром 0,5–0,6 на 3,5–7,0 мкм, здатні до ковзання; колонії – жовтого кольору; на поверхні живильних середовищ поступово поширюються у вигляді плівкоподібного шару трохи заглиблюючись в поверхню агару [17].

Плодові тіла зазвичай формуються на поверхні агару. Вони різноманітні за формою та розмірами, подібні до плодових тіл, що утворює *Haliangium ochraceum* SMP-2^T, за винятком того, що вони зазвичай містять більше спорангіол (від 15 до 60 на одне плодове тіло) та є поліедричними, а не округлими, і менші за розміром (15–70 мкм).



Виявлено, що *Haliangium tepidum*, як і *Haliangium ochraceum*, є облигатним галофілом, він росте та утворює плодові тіла при солоності від 0,5 до 6,0% NaCl, оптимум 1–3% NaCl [17].

Діапазон температур для росту дещо відрізняється для штамів *Haliangium ochraceum* SMP-2^T і *Haliangium tepidum* SMP-10^T. У той час як *Haliangium ochraceum* SMP-2^T росте при 20–40 °С (оптимум 30–34 °С), *Haliangium tepidum* SMP-10^T росте в ширшому температурному діапазоні: від 27 до 45 °С з оптимумом 37–40 °С.

Haliangium tepidum – аероб, проявляє слабку позитивну реакцію щодо продукції оксидази, каталазонегативний, демонструє активність лужної фосфатази, естерази C₈, ліпази C₁₄ (слабка реакція), кислій фосфатази (слабка реакція), лейцинариламідази, валінариламідази, трипсиноподібного і хімотрипсиноподібного ферментів (слабка реакція), нафтол-AS-BI-фосфогідролази та α- і β-глюкозидаз з використанням відповідних субстратів. Гідролізує крохмаль, ДНК, казеїн та желатин. Як і *Haliangium ochraceum*, *Haliangium tepidum* здатний лізувати бактеріальні і дріжджові клітини.

Основним респіраторним хіноном є менахінон МХ-8. Жирнокислотний профіль штамів *Haliangium ochraceum* SMP-2^T і *Haliangium tepidum* SMP-10^T подібний. Однак, у *Haliangium ochraceum* SMP-2^T найбільш поширеною є пальмітинова кислота (n-C_{16:0}), а у *Haliangium tepidum* SMP-10^T переважає ізорозгалужена кислота (ізо-C_{16:0}). Також були виявлені антеізорозгалужені кислоти, що відрізняє ці морські міксобактерії від інших міксобактерій [17].

Типовий штам – *Haliangium tepidum* SMP-10^T (у колекції DSMZ *Haliangium tepidum* DSM 14436^T). Вміст Г+Ц становить 69,5 мол%. Поки немає даних про послідовність геному або виявлені природні продукти *Haliangium tepidum*, тим не менше, ПЛР-дослідження геномної ДНК виявили велику кількість БГК полікетидсинтаз (PKS) у геномі *Haliangium tepidum* [38]. Встановлено, що *Haliangium tepidum* містить найбільшу кількість нових послідовностей PKS у цьому масиві [34, 38].

Рід *Enhygromyxa*

Усі види *Enhygromyxa*, виділені на сьогодні, є галофільними та вважаються справжніми морськими міксобактеріями [10]. Перше повідомлення про виділення, характеристику та таксономічну класифікацію шести штамів *Enhygromyxa salina*: SHK-1, SMK-1-1, SMK-1-3, SMK-10, SKK-2 та SMP-6 було опубліковано у 2003 р. Т. Iizuka et al. [29]. Ці організми були отримані із зразків мулу, піску та водоростей, зібраних у морському середовищі біля Японії. Пізніше група G. Köpfig (2010) виділила ще чотири штами *Enhygromyxa salina* із зразків морських припливно-відливних відкладень, зібраних на західному узбережжі США, на узбережжі Німеччини та Нідерландів [13, 65]. Судячи із географічних локацій джерел виділення, припускають, що види *Enhygromyxa* поширені по всьому світу [10].

Штам *Enhygromyxa salina* SHK-1^T є типовим (у колекції DSMZ *Enhygromyxa salina* DSM 15217^T) [3]. Вегетативні клітини типового штаму є грамнегативними аеробами, мають паличкоподібну форму з тупими заокругленими кінцями, розмірами 0,5–0,8 на 1,5–7,0 мкм [29], розміри клітин інших штамів варіюють. Характерною особливістю є ковзна рухливість, рої вигля-



дають як неглибокі заглиблені кратери на агаризованих середовищах. Іноді рої утворюють радіальні чи круглі візерунки. Відмічають незначні відмінності у зовнішньому вигляді роєвих колоній різних штамів.

Enhygromyxa salina утворює плодові тіла від білого до помаранчевого кольору при вирощуванні на середовищі VY/2 з додаванням солоні води [29]. Вони мають кулясту або багатогранну форму і з'являються на поверхні роєвих колоній приблизно після двох тижнів культивування і ледве помітні без збільшення [65]. Мікроспори мають сферичну форму діаметром 0,5–0,7 мкм.

У бульйонних середовищах *Enhygromyxa salina* утворюють грудочки з клітин (конгломерати) від помаранчевого до червонувато-помаранчевого відтінку. Дисперсний ріст у рідких середовищах не спостерігається.

Як облігатні галофіли, *Enhygromyxa salina* переносять концентрацію NaCl 0,1–4,0% з оптимальним діапазоном 1,0–2,0% NaCl. Однак численні штами *Enhygromyxa salina* демонструють різні діапазони толерантності до солі з мінімальними концентраціями до 1% NaCl та максимальними – 7% NaCl [29, 65].

Крім того, для росту бактеріям цього виду також необхідні двовалентні катіонні компоненти морської води, такі як Mg^{2+} або Ca^{2+} . Ростуть при pH 7,0–8,5, у температурному діапазоні від 20 до 30 °C, при 37 °C ріст не відмічається. Каталаза- і оксидазапозитивні. Не розкладають альгінат, целюлозу, хітин. Хоча штами *Enhygromyxa salina* здатні виживати на середовищах з дріжджами як єдиним джерелом азоту, вони здатні лізувати лише грамнегативні бактерії та не здатні лізувати клітини *Saccharomyces cerevisiae* [29].

Повідомлялося, що штами *Enhygromyxa salina* мають iso-C_{15:0}, iso-C_{16:0} та iso-C_{17:0} як основні жирні кислоти [29]. Специфічною особливістю міксобактерій роду *Enhygromyxa* й іншого морського роду *Plesiocystis* є наявність поліненасичених кислот C_{20:4} [29, 30].

Основним респіраторним хіноном є MX-7. Геном має 10,44 млн п. н. [10]; вміст Г+Ц коливається у діапазоні від 65,6 до 67,4 мол% [29] і 63,0–67,3 мол% [65]. У типового штаму вміст Г+Ц – 66,7 мол% [89].

Ізоляти *Enhygromyxa salina* мають майже ідентичні послідовності 16S рДНК та кластеризувались з іншою морською міксобактерією *Plesiocystis pacifica* як їхнім найближчим родичем на філогенетичному дереві (95,9–96,0% подібності) [29].

Більшість відомих на сьогодні природних продуктів із морських міксобактерій виявлено у представників саме роду *Enhygromyxa* [22]. Це п'ять структур ймовірного полікетидного, шикіматного та терпеноїдного походження: салімабромід [13], енгіроліди та саліміксини [14], енгіромова кислота та дезоксиенгіроліди [14, 74].

Салімабромід був першим вторинним метаболітом, виявленим у *Enhygromyxa* [13]. Метаболіт виділено зі штаму *Enhygromyxa salina* SWB007, отриманого зі зразка морського мулу. У різних штамів *Enhygromyxa salina* виявлені численні вторинні метаболіти, досліджено їх активність та біосинтетичну збірку [10, 13, 14, 19, 25, 66].

Салімабромід особливо цікавий завдяки своїй унікальній галогенованій тетрациклічній структурі ядра [10]. Дослідження структури салімаброміду



показали, що вона містить новий тетрациклічний вуглецевий скелет, що складається з бромованого бензольного кільця, залишку фуранолактону та циклогексанового кільця, з'єднаного семичленним циклічним фрагментом [13]. Вважають, що його біосинтез здійснюється за допомогою PKS III типу [10]. Салімабромід проявив помірну антибіотичну активність проти грампозитивної бактерії *Crystallibacter (Arthrobacter) crystallopoietes* [10, 13].

Окрім салімаброміду, штам *Enhygromyxa salina* SWB007 продукує енгіроліди А та В, що містять α/β -ненасичений γ -лактоновий фрагмент, 2,4-заміщений бензильними та бензилиденовими кільцями [14].

Близькоспоріднений морський штам *Enhygromyxa salina* SWB005 синтезує саліміксини А та В (підгрупа терпеноїдів), що представляють собою структурно найбільш незвичайні, деградовані трициклічні стероли [10, 14]. Показано, що енгіролід А та саліміксин В пригнічують ріст *Crystallibacter (Arthrobacter) crystallopoietes* [14].

У 2017 р. зі зразку прибережного піску, зібраного на пляжі в Касивадзакі, Японія, виділено новий вид – *Enhygromyxa niigataensis* або *Enhygromyxa* sp. SNB-1 [74]. Маючи 97% подібність до послідовності 16S рДНК *Enhygromyxa salina* SWB004, *Enhygromyxa niigataensis* SNB-1 було визначено як новий вид у роді *Enhygromyxa*. Хоча філогенетичне положення *Enhygromyxa niigataensis* дозволяє припустити, що це справді морська міксобактерія, рівні галотолерантності та морфологічні особливості штаму наразі не визначені.

Штам *Enhygromyxa* sp. SNB-1 є продуцентом вторинних метаболітів енгігрової кислоти та дезоксиенгіролідів А та В [14, 74]. Проведені дослідження показали, що енгігрова кислота містить унікальну декагідроаценафтиленову структуру, пов'язану з α -метилакриловою кислотою. Цей метаболіт проявляє цитотоксичну активність проти клітин меланоми В16 та посилює ріст нейритів клітин PC12 [74].

Біоінформатичний аналіз геному штаму *Enhygromyxa salina* DSM 15201 за допомогою antiSMASH дозволив виявити значну кількість неохарактеризованих БГК, серед яких 17 кластерів генів, ймовірно, відповідальних за синтез NRPS, PKS та гібридних продуктів NRPS-PKS, 6 – бактеріоцинів, що вказує на значний антимікробний потенціал цих міксобактерій. Загалом, у вторинному метаболізмі задіяно 9,2% геному [10].

Показано, що *Enhygromyxa salina* SHK-1^T продукує довголанцюгові поліненасичені жирні кислоти – арахідонову кислоту (C_{20:4ⁿ}, n-6) та ейкозапентаєнову кислоту (C_{20:5ⁿ}, n-3) [20, 22, 29]. Подібну продукцію арахідонової кислоти морського походження також спостерігали у міксобактерій *Plesiocystis pacifica* SIR-1^T [30] та *Pseudenhygromyxa salsuginis* SYR-2^T [33].

Рід *Plesiocystis*

Т. Iizuka et al. (2003) з прибережної зони японського тихоокеанського узбережжя, розташованого у субтропічній зоні, ізолювали два штами нової міксобактерії, які позначили як SIR-1^T та SHI-1 [30].

Клітини виділених грамнегативних штамів являли собою прямі палички з тупими, заокругленими кінцями, які утворюють сферичні мікоспори діаметром 0,5–0,7 мкм. Вегетативні клітини рухаються, ковзаючи по твердій



поверхні, концентруючись на периферії рою; агар усередині роїв часто гідролізується. На агарових середовищах спостерігаються сферичні або овальні скупчення клітин, які мігрують від центру та залишають витравлені шляхи на поверхні. Рожево-коричнево-помаранчеві плодові тіла являють собою поодинокі агрегати. Досліджені властивості дозволили віднести ці два штами міксобактерій до нового роду *Plesiocystis* [30].

Міксобактерії роду *Plesiocystis* суворо аеробні хемоорганотрофи, мезофільні, нейтрофільні та слабо галофільні. Оксидазопозитивні та слабо каталазопозитивні або негативні. Гідролізують казеїн та желатин і не гідролізують крохмаль, хітин, альгінат, целюлозу, агар-агар. Основним хіноном є МХ-8, а основними клітинними жирнокислотними кислотами – ізо-С_{15:0} та ізо-С_{16:0}. Також виявлені антеізо-С_{16:0} та антеізо-С_{17:0}, та довголанцюгові поліненасичені жирні кислоти (С_{20:4}). Гідроксижирні кислоти не виявлені. Вміст Г+Ц у геномній ДНК становить 69,3–70,7 мол% [10, 30]. Типовим видом є *Plesiocystis pacifica*.

Обидва виділені штами віднесені до виду *Plesiocystis pacifica* і мають всі характеристики роду – грамнегативні палички розмірами 0,5–0,8 на 1,5–7,0 мкм, мікоспори сферичної форми розмірами 0,5–0,7 мкм. Колонії забарвлені від світло-рожевого до помаранчевого кольору. Ростуть при температурі від 15 до 32 °С. Ріст не спостерігається при температурі вище 34 °С або нижче 10 °С. Діапазон концентрації NaCl 1,0–4,0% (оптимумом 2,0–3,0%). Окрім NaCl для росту також необхідні катіони морської води (Ca²⁺, Mg²⁺ та K⁺). Діапазон рН для росту становить 5,5–9,0, з оптимумом при рН 7,0–8,5. Позитивні за продукцією кислої та лужної фосфатаз; естерази та глюкозидази не виявлено. Не лізують дріжджові клітини у середовищі культивування, проте, як і *Enhygromyxa*, *Plesiocystis pacifica* лізує грамнегативні бактерії [3, 30].

Типовий штам виду – *Plesiocystis pacifica* SIR-1^T (у колекції DSMZ *P. pacifica* DSM 14875^T). Його геном має довжину 10,59 млн п. н. [10], вміст Г+Ц – 69,3 мол% [30]. Штами *Plesiocystis pacifica* SIR-1^T та *Plesiocystis pacifica* SHI-1 мали майже ідентичні послідовності 16S рДНК. З іншими морськими міксобактеріями *Haliangium ochraceum* та *Haliangium tepidum* рівень подібності послідовностей 16S рДНК становить 84,4–84,5% [30].

Нещодавно зі штаму *P. pacifica* SIR-1^T було виділено та з'ясовано структуру 8 нових дезоксиенгіролідів [27], які відрізняються за будовою від раніше описаних дезоксиенгіролідів А та В [14, 74]. Ці вторинні метаболіти є першими природними продуктами, виділеними із представників роду *Plesiocystis*.

Окрім цього, використання antiSMASH аналізу дозволило виявити у геномі *Haliangium pacifica* SIR-1^T численні кластери біосинтезу вторинних метаболітів [26], зокрема один кластер NRPS, 11 – PKS, включаючи гібридні PKS, 6 – бактеріоцинів [10, 38]. До того ж не було виявлено жодних генних кластерів, які б мали більше 28% ідентичності зі шляхами синтезу охарактеризованих молекул [10]. Це дає змогу припустити можливість синтезу численних активних метаболітів штамами *Haliangium pacifica* за певних умов. Загалом, у вторинному метаболізмі *Haliangium pacifica* SIR-1^T задіяно 6,4% геному.



Штам *Haliangium pacifica* SIR-1^T синтезує галоалкандегалогеназу DppA, що викликає інтерес як потенційний біокаталізатор для біоремедіації ароматичних забруднювачів [26].

У публікації Н. Komaki et al. (2008) є інформація про ПІР-дослідження генів полікетидсинтаз з різних міксобактерій, і повідомляється про геномну ДНК *Plesiocystis* sp. SIS-2, яка містить кілька полікетидсинтаз [38]. Однак, чи є *Plesiocystis* sp. SIS-2 третім штамом *Plesiocystis pacifica*, чи унікальним представником роду *Plesiocystis*, наразі не з'ясовано [3].

Рід *Paraliomyxa*

З ґрунту морського узбережжя в Міурі, Японія у 2006 р. Т. Iizuka et al. виділили штам міксобактерій SMH-27-4, попередньо названий «*Paraliomyxa miuraensis*» [31]. Філогенетичний аналіз, заснований на частковій послідовності гена 16S рДНК, показав, що штам належить до нового роду. У 2016 р. Т. Iizuka повідомив про хемотаксономічні та фізіологічні характеристики штаму SMH-27-4 та надав описи «*Paraliomyxa*» gen. nov. та «*Paraliomyxa miuraensis*» sp. nov. [46]. Бактерії цього штаму не руйнують целюлозу фільтрувального паперу і не ростуть у дріжджовому середовищі, такому як агар VY/2, що зазвичай використовують для наземних міксобактерій. На агаровому середовищі бактерії рухаються радіально та не формують плодові тіла [31].

Оптимальний ріст спостерігається при температурі 27 °С та рН 7,2. Штам вважається слабо галофільним [10]. Для росту «*Paraliomyxa miuraensis*» SMH-27-4 необхідний NaCl у концентрації 0,5–1,0% та Mg²⁺ і Ca²⁺ [31]. За визначеними характеристиками подібний до міксобактерій роду *Pseudenhymyoxa* [31, 33].

Основними клітинними жирними кислотами є ізо-С_{15:0} та ізо-С_{17:0} [46]. Наявність хінону MX-8, а також відсутність довголанцюгових поліненасичених жирних кислот робить «*Paraliomyxa miuraensis*» SMH-27-4 подібним до штаму *Nannocystis exedens* DSM 71^T, ізолюваного з ґрунту [46]. Подібність до *Nannocystis exedens* DSM 71^T підтверджується філогенетичним аналізом на рівні 93,0% [31]. В той же час подібність до *Enhygromyxa salina* DSM 15217^T становить 93,2–93,3%, до *Plesiocystis pacifica* DSM 14875^T – 91,3–91,5% [10, 31].

У 2023 р. Y. Liu & M. Ojika геном «*P. miuraensis*» SMH-27-4 секвенували та зібрали у 164 контиги (11,8 млн п. н.). Повна послідовність геному була недоступна в цьому дослідженні через надзвичайно складне культивування та екстракцію ДНК [46].

«*Paraliomyxa miuraensis*» SMH-27-4 продукує різноманітні галогеновані гібридні молекули PKS/NRPS, названі міураєнамидами [31, 57], але його метаболічний профіль вказує на низьку різноманітність, оскільки в екстрактах не було виявлено жодних інших метаболітів [46].

Основний вторинний метаболіт «*Paraliomyxa miuraensis*» SMH-27-4, міуренамід А, проявляв потужну протигрибкову активність, особливо проти фітопатогенного ооміцету *Phytophthora capsici* шляхом пригнічення дихального ланцюга мітохондрій [31]. Також показано, що він значно змінює морфологію цитоплазми та ядра пухлинної клітинної лінії HeLa шляхом стабілізації актинових філаментів [69].



Геномний аналіз цього штаму, окрім БГК для міуренаміду А, виявив наявність 16 інших БГК, які показали низьку подібність з БГК для відомих продуктів, що свідчить про великий потенціал штаму для продукування нових вторинних метаболітів [46].

Рід *Pseudenhgromyxa*

Типовим видом роду *Pseudenhgromyxa* є *Pseudenhgromyxa salsuginis*. Цей мікроорганізм виявлений у 2013 р. Т. Iizuka et al. у зразках мулу естуарного болота в прибережній зоні Японії та названий SYR-2^T [33]. Штам *Pseudenhgromyxa salsuginis* SYR-2^T є типовим (у колекції DSMZ це *Pseudenhgromyxa salsuginis* DSM 21377^T).

Це приклад галотолерантної міксобактерії, яка здатна рости за відсутності солі, а оптимальний ріст спостерігали в діапазоні концентрацій NaCl до 2,5% з оптимумом 0,2–1,0% [10, 33].

Клітини *Pseudenhgromyxa salsuginis* паличкоподібні, грамнегативні, розміром 0,5–0,8 на 2,0–5,0 мкм. Рухаються ковзанням та утворюють рої на агаровому середовищі. Згодом на поверхні середовища з'являються клітинні агрегати, схожі на плодові тіла, які мають різну форму (від кулястої до багатогранної), поодинокі, сидячі, діаметром 50–800 мкм, забарвлені в коричнево-червоний або оранжевий колір. Через 1–2 тижні інкубації вони мають досить м'яку та маслянисту консистенцію. Під час тривалої інкубації агрегати стають твердішими та темно-коричневими. Бактерії можуть мігрувати в товщу агару з поверхні. У них виявляються клітини міксоспороподібної форми, сферичної або еліпсоїдальної форми, діаметром 0,5–0,7 мкм [33].

Колонії *Pseudenhgromyxa salsuginis* SYR-2^T мають конго-червоний колір. Бактерії штаму лізують живі клітини *Escherichia coli*, але не розкладають автоклавовані дріжджові клітини.

Pseudenhgromyxa salsuginis є мезофільним, аеробним мікроорганізмом, який росте при температурі 18–40 °C (оптимум 30–35 °C), рН 5,5–8,3 (оптимум 7,0–7,5). Для росту необхідні катіони Mg²⁺ та Ca²⁺. Продукує оксидазу, казеїназу і желатиназу, не продукує каталазу, ліпазу, ДНКазу.

Переважаючими жирними кислотами є ізо-C_{15:0} (43,8%), ізо-C_{17:0} (22,4%) та ізо-C_{16:0} (9,6%). Виявлені також жирні кислоти C_{20:4} [арахідонова кислота (4,3%)], ізо-C_{19:0} (1,5%) та антеїзоокислоти [ai-C_{15:0} (0,5%), ai-C_{17:0} (0,3%)]. Основний респіраторний хінон – менахінон-7 (MX-7) [33].

За результатами секвенування 16S рДНК виявлено, що штам *Pseudenhgromyxa salsuginis* SYR-2^T демонструє 96,5% та 96,0% подібність до *Enhgromyxa salina* SHK-1^T та *Plesiocystis pacifica* SIR-1^T, відповідно [10].

Вміст Г+Ц у типового штаму становить 69,7 мол%, що дещо вище, ніж для інших описаних штамів *Enhgromyxa salina* [10, 33].

У 2016 р. S. Chanana et al. виділили міксобактерію роду *Pseudenhgromyxa* sp. із морського середовища поблизу берегів Флориди [8]. Проведений геномний аналіз ізольованого штаму *Pseudenhgromyxa* sp. WMMC2535 показав, що послідовність його 16S рДНК на 97,13% ідентична послідовності *Pseudenhgromyxa salsuginis* SYR-2^T, єдиного раніше описаного представника роду. Примітно, що *Pseudenhgromyxa salsuginis* SYR-2^T не був секвенований, що робить *Pseudenhgromyxa* sp. WMMC2535 першим представником



цього рідкісного роду, геном якого секвеновано і встановлено, що його розмір становить приблизно 9,5 млн п. н., а вміст Г+Ц – 69,63 моль% [8]. На відміну від *Pseudenhygromyxa salsuginis* SYR-2^T, ізолят *Pseudenhygromyxa* sp. WMMC2535 є галофільним, а не галотолерантним [33].

Наразі не опубліковано жодних повідомлень про біологічну активність або будь-які метаболіти, отримані з *Pseudenhygromyxa*. Тим не менш, генетична близькість до *Enhygromyxa salina* та той факт, що він належить до міксобактерій, свідчать про те, що цей організм також може мати високий потенціал як продуцент біологічно активних молекул.

Узагальнення

Здатність патогенних мікроорганізмів швидко набувати і розвивати множинну стійкість до антимікробних препаратів є проблемою глобального масштабу, що загрожує ефективній антибіотикотерапії. Це зумовлює пошук і скринінг нових речовин з антимікробною активністю. Природними продуцентами і невичерпним джерелом різноманітних біологічно активних молекул є мікроорганізми, серед яких одними із найбільш перспективних і багатобіаючих є міксобактерії. Ця унікальна група ковзних бактерій привертає пильну увагу, завдяки складному життєвому циклу, одним із проявів якого є хижацтво, що реалізується шляхом продукції різноманітних вторинних метаболітів і бактеріолітичних ферментів. Незважаючи на те, що міксобактерії вважаються одними із найбільш перспективних продуцентів нових біологічно активних молекул, залишається вражаюча розбіжність між їх охарактеризованим вторинним метаболомом та біосинтетичним потенціалом (згідно аналізу геному, до 10% їхніх загальних генів присвячені вторинному метаболізму). Труднощі у виділенні і культивуванні в лабораторних умовах, особливо міксобактерій із екстремальних джерел (наприклад, морського середовища), не дають змоги повноцінно використовувати потенціал цієї групи бактерій. Облігатні морські міксобактерії були виявлені лише нещодавно порівняно з їхніми ґрунтовими аналогами. Кожен із досліджених штамів морських міксобактерій має високу унікальну генетичну та метаболічну різноманітність, що підтверджує перспективність цієї групи бактерій як джерела нових спеціалізованих метаболітів з різноманітними біологічними функціями та новими хімічними структурами. Однак, наразі кількість ізольованих штамів морських міксобактерій і кількість описаних їх вторинних метаболітів невелика, що зумовлює розробку нових і вдосконалення існуючих методів виділення та культивування цих бактерій, а також оцінку оптимальних умов для продукції біоактивних метаболітів.

Поєднання геномного та метаболомного аналізів дає змогу виявляти штамоспецифічний потенціал для синтезу спеціалізованих метаболітів, а також те, які сполуки дійсно доступні за певних умов *in vitro* і є важливим на ранній стадії відкриття біологічно активних метаболітів для вибору пріоритетних штамів міксобактерій та умов їх культивування.



V. Y. Ivanitsa, I. V. Strashnova

Odesa I. I. Mechnikov National University,
2 Zmiienka Vsevoloda St, Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: vitali_ivanitsa@stud.onu.edu.ua

MARINE MYXOBACTERIA – A UNIQUE GROUP WITH HIGH BIOSYNTHETIC POTENTIAL

Summary

The need for new antimicrobial drugs necessitates the search for new biologically active substances. The most promising source and resource for innovative bioactive natural products are and remain bacteria, among which myxobacteria occupy a prominent place. The review is devoted to the peculiarities of the biology of myxobacteria, which are known not only for their complex predatory lifestyle, but also, more importantly, for their ability to produce extracellular hydrolytic enzymes and various secondary metabolites, the structural features and mechanism of action of many of which are unique. Particular attention is paid to halophilic/halotolerant myxobacteria isolated from the marine environment, which, according to genomic-metabolomic analysis, have a powerful biosynthetic potential and are a promising source of new compounds associated with a diverse bioactive spectrum and a unique mechanism of action.

Key words: myxobacteria, marine myxobacteria, bioactive secondary metabolites, hydrolytic enzymes.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Фомін О.О., Фоміна Н.С., Ковальчук В.П., Асланян С.А. Мікрофлора сучасної бойової рани та її чутливість до антибіотиків. Частина I // Укр. Мед. Часопис. – 2023. – Т. 3 (155) – V/VI. – С. 82–85.
<https://doi.org/10.32471/umj.1680-3051.155.244023>
2. Ahmed S.K., Hussein S., Qurbani K., Ibrahim R.H., Fareeq A. et al. Antimicrobial resistance: impacts, challenges, and future prospects // Journal of Medicine, Surgery, and Public Health. – 2024. – Vol. 2. – P. 1–9.
<https://doi.org/10.1016/j.glmedi.2024.100081>
3. Albataineh H., Stevens D.C. Marine myxobacteria: a few good halophiles // Mar Drugs. – 2018. – Vol. 16 (6). – P. 1–11.
<https://doi.org/10.3390/md16060209>
4. Berleman J.E., Kirby J.R. Deciphering the hunting strategy of a bacterial wolfpack // FEMS Microbiol Rev. – 2009. – Vol. 33 (5). – P. 942–57.
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00185.x>
5. Bhat M.A., Mishra A.K., Bhat M.A., Banday M.I., Bashir O. et al. Myxobacteria as a source of new bioactive compounds: a perspective study // Pharmaceutics. – 2021. – V. 13 (8). – P. 1265.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13081265>
6. Brinkhoff T., Fischer D., Vollmers J., Voget S., Beardsley C. et al. Biogeography and phylogenetic diversity of a cluster of exclusively marine myxobacteria // The ISME Journal. – 2012. – Vol. 6 (6). – P. 1260–1272.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2011.190>



7. Chan Y.A., Podevels A.M., Kevany B.M., Thomas M.G. Biosynthesis of polyketide synthase extender units // Nat Prod Rep. – 2009. – Vol. 26 (1). – P. 90–114. <https://doi.org/10.1039/b801658p>
8. Chanana S., Braun D.R., Rajski S.R., Bugni T.S. Draft genome sequence of *Pseudenhymyxa* sp. strain WMMC2535, a marine ascidian-associated bacterium // Microbiol Resour Announc. – 2020. – Vol. 9 (34). – P. e00657–20. <https://doi.org/10.1128/MRA.00657-20>
9. Chen J., Nan B. Flagellar motor transformed: biophysical perspectives of the *Myxococcus xanthus* gliding mechanism // Front Microbiol. – 2022. – Vol. 13. – P. 891694. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.891694>
10. Dávila-Céspedes A., Hufendiek P., Crüsemann M., Schäberle T.F., König G.M. Marine-derived myxobacteria of the suborder Nannocystineae: an underexplored source of structurally intriguing and biologically active metabolites // Beilstein J. Org. Chem. – 2016. – Vol. 12. – P. 969–984. <https://doi.org/10.3762/bjoc.12.96>
11. Dawid W. Biology and global distribution of myxobacteria in soils // FEMS Microbiol Rev. – 2000. – Vol. 24 (4). – P. 403–27. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00548.x>
12. Delgado-Baquerizo M., Oliverio A.M., Brewer T.E., Benavent-González A., Eldridge D.J. et al. A global atlas of the dominant bacteria found in soil // Science. – 2018. – Vol. 359 (6373). – P. 320–325. <https://doi.org/10.1126/science.aap9516>
13. Felder S., Dreisigacker S., Kehraus S., Neu E., Bierbaum G. et al. Salimabromide: unexpected chemistry from the obligate marine myxobacterium *Enhygromyxa salina* // Chemistry. – 2013. – Vol. 19 (28). – P. 9319–24. <https://doi.org/10.1002/chem.201301379>
14. Felder S., Kehraus S., Neu E., Bierbaum G., Schäberle T.F., König G.M. Salimyxins and enhygrolides: antibiotic, sponge-related metabolites from the obligate marine myxobacterium *Enhygromyxa salina* // ChemBioChem. – 2013. – Vol. 14 (11). – P. 1363–1371. <https://doi.org/10.1002/cbic.201300268>
15. Fudou R., Iizuka T., Yamanaka S. Haliangicin, a novel antifungal metabolite produced by a marine myxobacterium. 1. Fermentation and biological characteristics // J Antibiot (Tokyo). – 2001. – Vol. 54 (2). – P. 149–52. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.54.149>
16. Fudou R., Iizuka T., Sato S., Ando T., Shimba N., Yamanaka S. Haliangicin, a novel antifungal metabolite produced by a marine myxobacterium. 2. Isolation and structural elucidation // J Antibiot (Tokyo). – 2001. – Vol. 54 (2). – P. 153–6. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.54.153>
17. Fudou R., Jojima Y., Iizuka T., Yamanaka S. *Haliangium ochraceum* gen. nov., sp. nov. and *Haliangium tepidum* sp. nov.: novel moderately halophilic myxobacteria isolated from coastal saline environments // J Gen Appl Microbiol. – 2002. – Vol. 48 (2). – P. 109–16. <https://doi.org/10.2323/jgam.48.109>
18. Furness E., Whitworth D.E., Zwarycz A. Predatory interactions between myxobacteria and their prey / In book: The ecology of predation at the



- microscale / E. Jurkevitch, R. Mitchell (eds). – Springer: Cham., 2020. – P. 1–36. https://doi.org/10.1007/978-3-030-45599-6_1
19. Gan K.-J., Zhu Y., Shi G., Wu C., Ni F.-Q. Evolution of the short enantioselective total synthesis of the unique marine myxobacteria polyketide salimabromide // Chin. J. Chem. – 2024. – Vol. 42. – P. 1–13. <https://doi.org/10.1002/cjoc.202400XXX>
 20. Garcia R., Pistorius D., Stadler M., Müller R. Fatty acid-related phylogeny of myxobacteria as an approach to discover polyunsaturated omega-3/6 fatty acids // J Bacteriol. – 2011. – Vol. 193 (8). – P. 1930–42. <https://doi.org/10.1128/JB.01091-10>
 21. Garcia R., La Clair J.J., Müller R. Future directions of marine myxobacterial natural product discovery inferred from metagenomics // Mar Drugs. – 2018. – Vol. 16 (9). – P. 303. <https://doi.org/10.3390/md16090303>
 22. Gemperlein K., Zaburannyi N., Garcia R., La Clair J.J., Müller R. Metabolic and biosynthetic diversity in marine myxobacteria // Mar Drugs. – 2018. – Vol. 16 (9). – P. 314. <https://doi.org/10.3390/md16090314>
 23. Gerth K., Müller R. Moderately thermophilic myxobacteria: novel potential for the production of natural products isolation and characterization // Environ Microbiol. – 2005. – Vol. 7 (6). – P. 874–80. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00761.x>
 24. Han K., Li Zf., Peng R., Zhu Lp., Zhou T. et al. Extraordinary expansion of a *Sorangium cellulosum* genome from an alkaline milieu // Sci Rep. – 2013. – Vol. 3. – P. 2101. <https://doi.org/10.1038/srep02101>
 25. Herrmann J., Abou Fayad A., Müller R. Natural products from myxobacteria: novel metabolites and bioactivities // Nat. Prod. Rep. – 2017. – Vol. 34. – P. 135–160. <https://doi.org/10.1039/C6NP00106H>
 26. Hesseler M., Bogdanović X., Hidalgo A., Berenguer J., Palm G.J. et al. Cloning, functional expression, biochemical characterization, and structural analysis of a haloalkane dehalogenase from *Plesiocystis pacifica* SIR-1 // Appl Microbiol Biotechnol. – 2011. – Vol. 91 (4). – P. 1049–60. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3328-x>
 27. Hug J.J., Kjaerulff L., Garcia R., Müller R. New deoxyenhygrolides from *Plesiocystis pacifica* provide insights into butenolide core biosynthesis // Mar. Drugs. – 2022. – Vol. 20 (1). – P. 72. <https://doi.org/10.3390/md20010072>
 28. Iizuka T., Jojima Y., Fudou R., Yamanaka S. Isolation of myxobacteria from the marine environment // FEMS Microbiology letters. – 1998. – Vol. 169 (2). – P. 317–322. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb13335.x>
 29. Iizuka T., Jojima Y., Fudou R., Tokura M., Hiraishi A., Yamanaka S. *Enhygromyxa salina* gen. nov., sp. nov., a slightly halophilic myxobacterium isolated from the coastal areas of Japan // Syst Appl Microbiol. – 2003. – Vol. 26 (2). – P. 189–96. <https://doi.org/10.1078/072320203322346038>
 30. Iizuka T., Jojima Y., Fudou R., Hiraishi A., Ahn J.W., Yamanaka S. *Plesiocystis pacifica* gen. nov., sp. nov., a marine myxobacterium that contains dihydrogenated menaquinone, isolated from the Pacific coasts of Japan // Int J Syst Evol Microbiol. – 2003. – Vol. 53 (Pt 1). – P. 189–195. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02418-0>



31. Iizuka T., Fudou R., Jojima Y., Ogawa S., Yamanaka S. et al. Miuraenamides A and B, novel antimicrobial cyclic depsipeptides from a new slightly halophilic myxobacterium: taxonomy, production, and biological properties // *J. Antibiot.* – 2006. – Vol. 59 (7). – P. 385–391.
<https://doi.org/10.1038/ja.2006.55>
32. Iizuka T., Tokura M., Jojima Y., Hiraishi A., Yamanaka S., Fudou R. Enrichment and phylogenetic analysis of moderately thermophilic myxobacteria from hot springs in Japan // *Microbes Environ.* – 2006. – Vol. 21 (3). – P. 189–199.
<https://doi.org/10.1264/jsme2.21.189>
33. Iizuka T., Jojima Y., Hayakawa A., Fujii T., Yamanaka S., Fudou R. *Pseudenhygromyxa salsuginis* gen. nov., sp. nov., a myxobacterium isolated from an estuarine marsh // *Int J Syst Evol Microbiol.* – 2013. – Vol. 63 (Pt 4). – P. 1360–1369. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.040501-0>
34. Ivanova N., Daum C., Lang E., Abt B., Kopitz M. et al. Complete genome sequence of *Haliangium ochraceum* type strain (SMP-2) // *Stand Genomic Sci.* – 2010. – Vol. 2 (1). – P. 96–106. <https://doi.org/10.4056/sigs.69.1277>
35. Kaiser D. Coupling cell movement to multicellular development in myxobacteria // *Nat Rev Microbiol.* – 2003. – Vol. 1 (1). – P. 45–54.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro733>
36. Kaiser D. *Myxococcus* – from single-cell polarity to complex multicellular patterns // *Annu Rev Genet.* – 2008. – Vol. 42. – P. 109–30.
<https://doi.org/10.1146/annurev.genet.42.110807.091615>
37. Kimura Y., Kawasaki S., Yoshimoto H., Takegawa K. Glycine betaine biosynthesized from glycine provides an osmolyte for cell growth and spore germination during osmotic stress in *Myxococcus xanthus* // *J Bacteriol.* – 2010. – Vol. 192 (5). – P. 1467–70. <https://doi.org/10.1128/JB.01118-09>
38. Komaki H., Fudou R., Iizuka T., Nakajima D., Okazaki K. et al. PCR detection of type I polyketide synthase genes in myxobacteria // *Appl Environ Microbiol.* – 2008. – Vol. 74 (17). – P. 5571–4. <https://doi.org/10.1128/AEM.00224-08>
39. Kudo K., Yamaguchi N., Makino T., Ohtsuka T., Kimura K. et al. Release of arsenic from soil by a novel dissimilatory arsenate-reducing bacterium, *Anaeromyxobacter* sp. strain PSR-1 // *Appl Environ Microbiol.* – 2013. – Vol. 79 (15). – P. 4635–42. <https://doi.org/10.1128/AEM.00693-13>
40. Kundim B.A., Ito Y., Sakagami Y., Fudou R., Iizuka T. et al. New haliangicin isomers, potent antifungal metabolites produced by a marine myxobacterium // *J Antibiot (Tokyo).* – 2003. – Vol. 56 (7). – P. 630–8.
<https://doi.org/10.7164/antibiotics.56.630>
41. Landwehr W., Wolf C., Wink J. Actinobacteria and Myxobacteria – two of the most important bacterial resources for novel antibiotics // *Curr Top Microbiol Immunol.* – 2016. – Vol. 398. – P. 273–302.
https://doi.org/10.1007/82_2016_503
42. Li B., Yao Q., Zhu H. Approach to analyze the diversity of myxobacteria in soil by semi-nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) based on taxon-specific gene // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9 (10). – P. 108877.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108877>



43. Li S.G., Zhou X.W., Li P.F., Han K., Li W. et al. The existence and diversity of myxobacteria in lake mud – a previously unexplored myxobacteria habitat // Environ Microbiol Rep. – 2012. – Vol. 4 (6). – P. 587–95.
<https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2012.00373.x>
44. Li Y.-Z., Hu W., Zhang Y.-Q., Qiu Z., Zhang Y., Wu B.H. A simple method to isolate salt-tolerant myxobacteria from marine samples // J Microbiol Methods. – 2002. – Vol. 50 (2). – P. 205–9. [https://doi.org/10.1016/s0167-7012\(02\)00029-5](https://doi.org/10.1016/s0167-7012(02)00029-5)
45. Li Z., Zhang L., Ye X., Huang Y., Ji Y. et al. Myxobacteria: versatile cell factories of novel commercial enzymes for bio-manufacturing // Biotechnology advances. – 2025. – Vol. 82. – P. 108594.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2025.108594>
46. Liu Y., Ojika M. Genomic analysis of the rare slightly halophilic myxobacterium “*Paraliomyxa miuraensis*” SMH-27-4, the producer of the antibiotic miuraenamides A // Microorganisms. – 2023. – Vol. 11 (2). – P. 371.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11020371>
47. Marcos-Torres F.J., Volz C., Müller R. An ambruticin-sensing complex modulates *Myxococcus xanthus* development and mediates myxobacterial interspecies communication // Nat Commun. – 2020. – Vol. 11. – P. 5563.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-19384-7>
48. Marshall R.C., Whitworth D.E. Is "Wolf-Pack" predation by antimicrobial bacteria cooperative? Cell behaviour and predatory mechanisms indicate profound selfishness, even when working alongside kin // Bioessays. – 2019. – Vol. 41 (4). – P. e1800247. <https://doi.org/10.1002/bies.201800247>
49. Meiser P., Bode H.B., Müller R. The unique DKxanthene secondary metabolite family from the myxobacterium *Myxococcus xanthus* is required for developmental sporulation // Proc Natl Acad Sci USA. – 2006. – Vol. 103 (50). – P. 19128–33. <https://doi.org/10.1073/pnas.0606039103>
50. Meng K., Jiang W., Cai H., Yang Z., Yuan Y., Su Z. Diversity of myxobacteria isolated from Weizhou Island, Guangxi, and their potential biological activities // Arch Biol Sci. – 2025. – Vol. 77 (2). – P. 123–36.
<https://doi.org/10.2298/ABS250324010M>
51. Miyanaga A., Kudo F., Eguchi T. Protein–protein interactions in polyketide synthase–nonribosomal peptide synthetase hybrid assembly lines // Nat. Prod. Rep. – 2018. – Vol. 35. – P. 1185–1209.
<https://doi.org/10.1039/C8NP00022K>
52. Moghaddam J.A., Boehringer N., Burdziak A., Kunte H.J., Galinski E.A., Schäberle T.F. Different strategies of osmoadaptation in the closely related marine myxobacteria *Enhygromyxa salina* SWB007 and *Plesiocystis pacifica* SIR-1 // Microbiology (Reading). – 2016. – Vol. 162 (4). – P. 651–661.
<https://doi.org/10.1099/mic.0.000250>
53. Moghaddam A.J., Crüsemann M., Alanjary M., Harms H., Dávila-Céspedes A. et al. Analysis of the genome and metabolome of marine myxobacteria reveals high potential for biosynthesis of novel specialized metabolites // Sci Rep. – 2018. – Vol. 8 (1). – P. 16600. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34954-y>



54. Moghaddam A.J., Poehlein A., Fisch K., Alanjary M., Daniel R. et al. Draft genome sequences of the obligatory marine myxobacterial strains *Enhygromyxa salina* SWB005 and SWB007 // Genome Announc. – 2018. – Vol. 6 (17). – P. e00324-18. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00324-18>
55. Mohr K.I. Diversity of myxobacteria – we only see the tip of the iceberg // Microorganisms. – 2018. – Vol. 6 (3). – P. 84. <https://doi.org/10.3390/microorganisms6030084>
56. Murphy P., Comstock J., Khan T., Zhang J., Welch R., Igoshin O.A. Cell behaviors underlying *Myxococcus xanthus* aggregate dispersal // mSystems. – 2023. Vol. 8 (5). – P. e00425-23. <https://doi.org/10.1128/msystems.00425-23>
57. Ojika M., Inukai Y., Kito Y., Hirata M., Iizuka T., Fudou R. Miuraenamides: antimicrobial cyclic depsipeptides isolated from a rare and slightly halophilic myxobacterium // Chem Asian J. – 2008. – Vol. 3 (1). – P. 126–33. <https://doi.org/10.1002/asia.200700233>
58. Payne J.A.E., Schoppet M., Hansen M.H., Cryle M.J. Diversity of nature's assembly lines – recent discoveries in non-ribosomal peptide synthesis // Mol. Biosyst. – 2017. – Vol. 13. – P. 9–22. <https://doi.org/10.1039/C6MB00675B>
59. Ravensschlag K., Sahm K., Pernthaler J., Amann R. High bacterial diversity in permanently cold marine sediments // Appl Environ Microbiol. – 1999. – Vol. 65 (9). – P. 1–8. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.9.3982-3989.1999>
60. Ronald G., La Clair J.J., Müller R. Future directions of marine myxobacterial natural product discovery inferred from metagenomics // Mar. Drugs. – 2018. – Vol. 16 (9). – P. 303. <https://doi.org/10.3390/md16090303>
61. Saggi S.K., Nath A., Kumar S. Myxobacteria: biology and bioactive secondary metabolites // Research in Microbiology. – 2023. – Vol. 174. – P. 104079. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2023.104079>
62. Saha S. Exploring myxobacteria for drugs // World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences. – 2024. – Vol. 10 (6). – P. 289–315. www.wjpls.org
63. Salmanov A.G., Shchekhlov D.V., Mamonova M., Shchekholkov Y.E., Litus V.I. et al. Healthcare associated infections in patients with combat wounds and antimicrobial resistance of the responsible pathogens in Ukraine: results of a multicenter study (2022-2024) // Wia Lek. – 2025. – Vol. 78 (8). – P. 1624–1634. <https://doi.org/10.36740/WLek/209517>
64. Sanford R.A., Cole J.R., Tiedje J.M. Characterization and description of *Anaeromyxobacter dehalogenans* gen. nov., sp. nov., an aryl-halo-respiring facultative anaerobic myxobacterium // Appl Environ Microbiol. – 2002. – Vol. 68 (2). – P. 893–900. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.2.893-900.2002>
65. Schäberle T.F., Goralski E., Neu E., Erol Ö., Hölzl G. et al. Marine myxobacteria as a source of antibiotics – comparison of physiology, polyketide-type genes and antibiotic production of three new isolates of *Enhygromyxa salina* // Mar. Drugs. – 2010. – Vol. 8 (9). – P. 2466–2479. <https://doi.org/10.3390/md8092466>
66. Schäberle T.F., Lohr F., Schmitz A., König G.M. Antibiotics from myxobacteria // Nat. Prod. Rep. – 2014. – Vol. 31. – P. 953–972. <https://doi.org/10.1039/C4NP00011K>



67. *Shrivastava A., Sharma R.K.* Myxobacteria and their products: current trends and future perspectives in industrial applications // *Folia Microbiol (Praha)*. – 2021. – Vol. 66 (4). – P. 483–507. <https://doi.org/10.1007/s12223-021-00875-z>
68. *Sorokoumova L.K., Kozhokaru A.A., Yaremin S.Yu., Zhorniak O.I.* Monitoring of the dynamics of antimicrobial resistance among wounded in the conditions of armed conflict // *Ukrainian Journal of Military Medicine*. – 2025. – Vol. 6 (2). – P. 105–110. [https://doi.org/10.46847/ujmm.2025.2\(6\)-105](https://doi.org/10.46847/ujmm.2025.2(6)-105)
69. *Sumiya E., Shimogawa H., Sasaki H., Tsutsumi M., Yoshita K. et al.* Cell-morphology profiling of a natural product library identifies bisbromoamide and miuraenamide A as actin filament stabilizers // *ACS Chem Biol*. – 2011. – Vol. 6 (5). – P. 425–31. <https://doi.org/10.1021/cb1003459>
70. *Sun Y., Feng Z., Tomura T., Suzuki A., Miyano S. et al.* Heterologous production of the marine myxobacterial antibiotic haliangicin and its unnatural analogues generated by engineering of the biochemical pathway // *Sci Rep*. – 2016. – Vol. 6. – P. 22091. <https://doi.org/10.1038/srep22091>
71. *Sun Y., Tomura T., Sato J., Iizuka T., Fudou R., Ojika M.* Isolation and biosynthetic analysis of haliamide, a new PKS-NRPS hybrid metabolite from the marine myxobacterium *Haliangium ochraceum* // *Molecules*. – 2016. – Vol. 21 (1). – P. 59. <https://doi.org/10.3390/molecules21010059>
72. *Swetha R.G., Arakal B.S., Rajendran S., Sekar K., Whitworth D.E. et al.* MyxoPortal: a database of myxobacterial genomic features // *Database*. – 2024. – Vol. 2024. – P. baae056. <https://doi.org/10.1093/database/baae056>
73. *Timmermans M.L., Paudel Y.P., Ross A.C.* Investigating the biosynthesis of natural products from marine proteobacteria: a survey of molecules and strategies // *Mar Drugs*. – 2017. – Vol. 15 (8). – P. 235. <https://doi.org/10.3390/md15080235>
74. *Tomura T., Nagashima S., Yamazaki S., Iizuka T., Fudou R., Ojika M.* An unusual diterpene—enhygromic acid and deoxyenhygrolides from a marine myxobacterium, *Enhygromyxa* sp. // *Mar. Drugs*. – 2017. – Vol. 15 (4). – P. 109. <https://doi.org/10.3390/md15040109>
75. *Treude N., Rosencrantz D., Liesack W., Schnell S.* Strain FAc12, a dissimilatory iron-reducing member of the *Anaeromyxobacter* subgroup of Myxococcales // *FEMS Microbiol Ecol*. – 2003. – Vol. 44 (2). – P. 261–9. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(03\)00048-5](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(03)00048-5)
76. *Wang B., Hu W., Liu H., Zhang C.Y., Zhao J.Y. et al.* Adaptation of salt-tolerant *Myxococcus* strains and their motility systems to the ocean conditions // *Microb Ecol*. – 2007. – Vol. 54 (1). – P. 43–51. <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9169-y>
77. *Wang C., Xiao Y., Wang Y., Liu Y., Yao Q., Zhu H.* Comparative genomics and transcriptomics insight into myxobacterial metabolism potentials and multiple predatory strategies // *Front Microbiol*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1146523. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1146523>
78. *Wang D.-G., Wang C.-Y., Hu J.-Q., Wang J.-J., Liu W.-C.* Constructing a myxobacterial natural product database to facilitate



- NMR-based metabolomics bioprospecting of myxobacteria // *Anal. Chem.* – 2023. – Vol. 95 (12). – P. 5256–5266. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c05145>
79. Wang C.-Y., Hu J.-Q., Wang D.-G., Li Y.-Z., Wu C. Recent advances in discovery and biosynthesis of natural products from myxobacteria: an overview from 2017 to 2023 // *Nat. Prod. Rep.* – 2024. – Vol. 41. – P. 905–934. <https://doi.org/10.1039/D3NP00062A>
80. Weissman K.J., Müller R. Myxobacterial secondary metabolites: bioactivities and modes-of-action // *Nat Prod Rep.* – 2010. – Vol. 27 (9). – P. 1276–95. <https://doi.org/10.1039/c001260m>
81. Whitworth D.E., Jurkevitch E., Pérez J., Fuhrmann G., Koval S.F. Editorial: mechanisms of prokaryotic predation // *Front. Microbiol.* – 2020. – Vol. 11. – P. 2071. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02071>
82. Wrótniak-Drzewiecka W., Brzezińska A.J., Dahm H., Ingle A.P., Rai M. Current trends in myxobacteria research // *Ann Microbiol.* – 2016. – Vol. 66. – P. 17–33. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1104-3>
83. Wu D., Hugenholtz P., Mavromatis K., Pukall R., Dalin E. et al. A phylogeny-driven genomic encyclopaedia of bacteria and archaea // *Nature.* – 2009. – Vol. 462 (7276). – P. 1056–60. <https://doi.org/10.1038/nature08656>
84. Xiao Y., Wei X., Ebright R., Wall D. Antibiotic production by myxobacteria plays a role in predation // *J Bacteriol.* – 2011. – Vol. 193 (18). – P. 4626–4633. <https://doi.org/10.1128/jb.05052-11>
85. Xiao Y., Gerth K., Müller R., Wall D. Myxobacterium-produced antibiotic TA (myxovirescin) inhibits type II signal peptidase // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2012. – Vol. 56 (4). – P. 2014–21. <https://doi.org/10.1128/AAC.06148-11>
86. Yamamoto E., Muramatsu H., Nagai K. *Vulгатibacter incomptus* gen. nov., sp. nov. and *Labilithrix luteola* gen. nov., sp. nov., two myxobacteria isolated from soil in Yakushima Island, and the description of *Vulгатibacteraceae* fam. nov., *Labilitrichaceae* fam. nov. and *Anaeromyxobacteraceae* fam. nov. // *Int J Syst Evol Microbiol.* – 2014. – Vol. 64 (Pt 10). – P. 3360–3368. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.063198-0>
87. Zhang Y.Q., Li Y.Z., Wang B., Wu Z.H., Zhang C.Y. et al. Characteristics and living patterns of marine myxobacterial isolates // *Appl Environ Microbiol.* – 2005. – Vol. 71 (6). – P. 3331–6. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.6.3331-3336.2005>
88. Zusman D.R., Scott A.E., Yang Z., Kirby J.R. Chemosensory pathways, motility and development in *Myxococcus xanthus* // *Nat Rev Microbiol.* – 2007. – Vol. 5 (11). – P. 862–72. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1770>
89. <https://lpsn.dsmz.de>. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN)
90. <http://www.marinespecies.org>



REFERENCES

1. Fomin OO, Fomina NS, Kovalchuk VP, Aslanian SA. Mikroflora suchasnoi boiovoi rany ta yii chutlyvist do antybiotyktiv. Chastyna I. *Ukr. Med. Chasopys*. 2023;3(155),V/VI:82–85. <https://doi.org/10.32471/umj.1680-3051.155.244023> [in Ukrainian].
2. Ahmed SK, Hussein S, Qurbani K, Ibrahim RH, Fareeq A et al. Antimicrobial resistance: impacts, challenges, and future prospects. *Journal of Medicine, Surgery, and Public Health*. 2024;2:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.glmedi.2024.100081>
3. Albataineh H, Stevens DC. Marine myxobacteria: a few good halophiles. *Mar Drugs*. 2018;16(6):1–11. <https://doi.org/10.3390/md16060209>
4. Berleman JE, Kirby JR. Deciphering the hunting strategy of a bacterial wolfpack. *FEMS Microbiol Rev*. 2009;33(5):942–957. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00185.x>
5. Bhat MA, Mishra AK, Bhat MA, Banday MI, Bashir O et al. Myxobacteria as a source of new bioactive compounds: a perspective study. *Pharmaceutics*. 2021;13(8):1265. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13081265>
6. Brinkhoff T, Fischer D, Vollmers J, Voget S, Beardsley C et al. Biogeography and phylogenetic diversity of a cluster of exclusively marine myxobacteria. *The ISME Journal*. 2012;6(6):1260–1272. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.190>
7. Chan YA, Podelvels AM, Kevany BM, Thomas MG. Biosynthesis of polyketide synthase extender units. *Nat Prod Rep*. 2009;26(1):90–114. <https://doi.org/10.1039/b801658p>
8. Chanana S, Braun DR, Rajski SR, Bugni TS. Draft genome sequence of *Pseudenhymyxa* sp. strain WMMC2535, a marine ascidian-associated bacterium. *Microbiol Resour Announc*. 2020;9(34):e00657–20. <https://doi.org/10.1128/MRA.00657-20>
9. Chen J, Nan B. Flagellar motor transformed: biophysical perspectives of the *Myxococcus xanthus* gliding mechanism. *Front Microbiol*. 2022;13:891694. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.891694>
10. Dávila-Céspedes A, Hufendiek P, Crüsemann M, Schäberle TF, König GM. Marine-derived myxobacteria of the suborder Nannocystineae: an underexplored source of structurally intriguing and biologically active metabolites. *Beilstein J. Org. Chem*. 2016;12:969–984. <https://doi.org/10.3762/bjoc.12.96>
11. Dawid W. Biology and global distribution of myxobacteria in soils. *FEMS Microbiol Rev*. 2000; 24(4): 403–427. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00548.x>
12. Delgado-Baquerizo M, Oliverio AM, Brewer TE, Benavent-González A, Eldridge DJ et al. A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science*. 2018;359(6373):320–325. <https://doi.org/10.1126/science.aap9516>
13. Felder S, Dreisigacker S, Kehraus S, Neu E, Bierbaum G et al. Salimabromide: unexpected chemistry from the obligate marine myxobacterium *Enhygromyxa salina*. *Chemistry*. 2013;19(28):9319–9324. <https://doi.org/10.1002/chem.201301379>



14. Felder S, Kehraus S, Neu E, Bierbaum G, Schäberle TF, König GM. Salimyxins and enhygrolides: antibiotic, sponge-related metabolites from the obligate marine myxobacterium *Enhygromyxa salina*. *ChemBioChem*. 2013;14(11):1363–1371. <https://doi.org/10.1002/cbic.201300268>
15. Fudou R, Iizuka T, Yamanaka S. Haliangicin, a novel antifungal metabolite produced by a marine myxobacterium. 1. Fermentation and biological characteristics. *J Antibiot (Tokyo)*. 2001;54(2):149–152. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.54.149>
16. Fudou R, Iizuka T, Sato S, Ando T, Shimba N, Yamanaka S. Haliangicin, a novel antifungal metabolite produced by a marine myxobacterium. 2. Isolation and structural elucidation. *J Antibiot (Tokyo)*. 2001;54(2):153–156. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.54.153>
17. Fudou R, Jojima Y, Iizuka T, Yamanaka S. *Haliangium ochraceum* gen. nov., sp. nov. and *Haliangium tepidum* sp. nov.: novel moderately halophilic myxobacteria isolated from coastal saline environments. *J Gen Appl Microbiol*. 2002;48(2):109–116. <https://doi.org/10.2323/jgam.48.109>
18. Furness E, Whitworth DE, Zwarycz A. Predatory interactions between myxobacteria and their prey / In book: The ecology of predation at the microscale / E Jurkevitch, R Mitchell (eds). *Springer: Cham.*, 2020:1–36. https://doi.org/10.1007/978-3-030-45599-6_1
19. Gan K-J, Zhu Y, Shi G, Wu C, Ni F-Q. Evolution of the short enantioselective total synthesis of the unique marine myxobacteria polyketide salimabromide. *Chin. J. Chem*. 2024;42:1–13. <https://doi.org/10.1002/cjoc.202400XXX>
20. Garcia R, Pistorius D, Stadler M, Müller R. Fatty acid-related phylogeny of myxobacteria as an approach to discover polyunsaturated omega-3/6 fatty acids. *J Bacteriol*. 2011;193(8):1930–1942. <https://doi.org/10.1128/JB.01091-10>
21. Garcia R, La Clair JJ, Müller R. Future directions of marine myxobacterial natural product discovery inferred from metagenomics. *Mar Drugs*. 2018;16(9):303. <https://doi.org/10.3390/md16090303>
22. Gemperlein K, Zaburannyi N, Garcia R, La Clair JJ, Müller R. Metabolic and biosynthetic diversity in marine myxobacteria. *Mar Drugs*. 2018;16(9):314. <https://doi.org/10.3390/md16090314>
23. Gerth K, Müller R. Moderately thermophilic myxobacteria: novel potential for the production of natural products isolation and characterization. *Environ Microbiol*. 2005;7(6):874–880. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00761.x>
24. Han K, Li Zf, Peng R, Zhu Lp, Zhou T et al. Extraordinary expansion of a *Sorangium cellulorum* genome from an alkaline milieu. *Sci Rep*. 2013;3:2101. <https://doi.org/10.1038/srep02101>
25. Herrmann J, Abou Fayad A, Müller R. Natural products from myxobacteria: novel metabolites and bioactivities. *Nat. Prod. Rep*. 2017;34:135–160. <https://doi.org/10.1039/C6NP00106H>
26. Hesseler M, Bogdanović X, Hidalgo A, Berenguer J, Palm GJ et al. Cloning, functional expression, biochemical characterization, and structural analysis of



- a haloalkane dehalogenase from *Plesiocystis pacifica* SIR-1. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011;91(4):1049–1060. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3328-x>
27. Hug JJ, Kjaerulff L, Garcia R, Müller R. New deoxyenhygrolides from *Plesiocystis pacifica* provide insights into butenolide core biosynthesis. *Mar. Drugs.* 2022;20(1):72. <https://doi.org/10.3390/md20010072>
 28. Iizuka T, Jojima Y, Fudou R, Yamanaka S. Isolation of myxobacteria from the marine environment. *FEMS Microbiology letters.* 1998;169(2):317–322. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb13335.x>
 29. Iizuka T, Jojima Y, Fudou R, Tokura M, Hiraishi A, Yamanaka S. *Enhygromyxa salina* gen. nov., sp. nov., a slightly halophilic myxobacterium isolated from the coastal areas of Japan. *Syst Appl Microbiol.* 2003;26(2):189–196. <https://doi.org/10.1078/072320203322346038>
 30. Iizuka T, Jojima Y, Fudou R, Hiraishi A, Ahn JW, Yamanaka S. *Plesiocystis pacifica* gen. nov., sp. nov., a marine myxobacterium that contains dihydrogenated menaquinone, isolated from the Pacific coasts of Japan. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2003;53(Pt 1):189–195. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02418-0>
 31. Iizuka T, Fudou R, Jojima Y, Ogawa S, Yamanaka S et al. Miuraenamides A and B, novel antimicrobial cyclic depsipeptides from a new slightly halophilic myxobacterium: taxonomy, production, and biological properties. *J. Antibiot.* 2006;59(7):385–391. <https://doi.org/10.1038/ja.2006.55>
 32. Iizuka T, Tokura M, Jojima Y, Hiraishi A, Yamanaka S, Fudou R. Enrichment and phylogenetic analysis of moderately thermophilic myxobacteria from hot springs in Japan. *Microbes Environ.* 2006;21(3):189–199. <https://doi.org/10.1264/jsme2.21.189>
 33. Iizuka T, Jojima Y, Hayakawa A, Fujii T, Yamanaka S, Fudou R. *Pseudenhygromyxa salsuginis* gen. nov., sp. nov., a myxobacterium isolated from an estuarine marsh. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2013;63(Pt 4):1360–1369. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.040501-0>
 34. Ivanova N, Daum C, Lang E, Abt B, Kopitz M et al. Complete genome sequence of *Haliangium ochraceum* type strain (SMP-2). *Stand Genomic Sci.* 2010;2(1):96–106. <https://doi.org/10.4056/sigs.69.1277>
 35. Kaiser D. Coupling cell movement to multicellular development in myxobacteria. *Nat Rev Microbiol.* 2003;1(1):45–54. <https://doi.org/10.1038/nrmicro733>
 36. Kaiser D. *Myxococcus* – from single-cell polarity to complex multicellular patterns. *Annu Rev Genet.* 2008;42:109–130. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.42.110807.091615>
 37. Kimura Y, Kawasaki S, Yoshimoto H, Takegawa K. Glycine betaine biosynthesized from glycine provides an osmolyte for cell growth and spore germination during osmotic stress in *Myxococcus xanthus*. *J Bacteriol.* 2010;192(5):1467–1470. <https://doi.org/10.1128/JB.01118-09>
 38. Komaki H, Fudou R, Iizuka T, Nakajima D, Okazaki K et al. PCR detection of type I polyketide synthase genes in myxobacteria. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74(17):5571–5574. <https://doi.org/10.1128/AEM.00224-08>



39. Kudo K, Yamaguchi N, Makino T, Ohtsuka T, Kimura K et al. Release of arsenic from soil by a novel dissimilatory arsenate-reducing bacterium, *Anaeromyxobacter* sp. strain PSR-1. *Appl Environ Microbiol*. 2013;79(15):4635–4642. <https://doi.org/10.1128/AEM.00693-13>
40. Kundim BA, Ito Y, Sakagami Y, Fudou R, Iizuka T et al. New haliangicin isomers, potent antifungal metabolites produced by a marine myxobacterium. *J Antibiot (Tokyo)*. 2003;56(7):630–638. <https://doi.org/10.7164/antibiotics.56.630>
41. Landwehr W, Wolf C, Wink J. Actinobacteria and Myxobacteria –two of the most important bacterial resources for novel antibiotics. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2016;398:273–302. https://doi.org/10.1007/82_2016_503
42. Li B, Yao Q, Zhu H. Approach to analyze the diversity of myxobacteria in soil by semi-nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) based on taxon-specific gene. *PLoS One*. 2014;9(10):108877. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108877>
43. Li SG, Zhou XW, Li PF, Han K, Li W et al. The existence and diversity of myxobacteria in lake mud – a previously unexplored myxobacteria habitat. *Environ Microbiol Rep*. 2012;4(6):587–595. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2012.00373.x>
44. Li Y-Z, Hu W, Zhang Y-Q, Qiu Z, Zhang Y, Wu BH. A simple method to isolate salt-tolerant myxobacteria from marine samples. *J Microbiol Methods*. 2002;50(2):205–209. [https://doi.org/10.1016/s0167-7012\(02\)00029-5](https://doi.org/10.1016/s0167-7012(02)00029-5)
45. Li Z, Zhang L, Ye X, Huang Y, Ji Y et al. Myxobacteria: versatile cell factories of novel commercial enzymes for bio-manufacturing. *Biotechnology advances*. 2025;82:108594. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2025.108594>
46. Liu Y, Ojika M. Genomic analysis of the rare slightly halophilic myxobacterium “*Paraliomyxa miuraensis*” SMH-27-4, the producer of the antibiotic miuraenamides A. *Microorganisms*. 2023;11(2):371. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020371>
47. Marcos-Torres FJ, Volz C, Müller R. An ambruticin-sensing complex modulates *Myxococcus xanthus* development and mediates myxobacterial interspecies communication. *Nat Commun*. 2020;11:5563. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19384-7>
48. Marshall RC, Whitworth DE. Is "Wolf-Pack" predation by antimicrobial bacteria cooperative? Cell behaviour and predatory mechanisms indicate profound selfishness, even when working alongside kin. *Bioessays*. 2019;41(4):e1800247. <https://doi.org/10.1002/bies.201800247>
49. Meiser P, Bode HB, Müller R. The unique DKxanthene secondary metabolite family from the myxobacterium *Myxococcus xanthus* is required for developmental sporulation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103(50):19128–19133. <https://doi.org/10.1073/pnas.0606039103>
50. Meng K, Jiang W, Cai H, Yang Z, Yuan Y, Su Z. Diversity of myxobacteria isolated from Weizhou Island, Guangxi, and their potential biological activities. *Arch Biol Sci*. 2025;77(2):123–36. <https://doi.org/10.2298/ABS250324010M>



51. Miyanaga A, Kudo F, Eguchi T. Protein–protein interactions in polyketide synthase–nonribosomal peptide synthetase hybrid assembly lines. *Nat. Prod. Rep.* 2018;35:1185–1209. <https://doi.org/10.1039/C8NP00022K>
52. Moghaddam JA, Boehringer N, Burdziak A, Kunte HJ, Galinski EA, Schäberle TF. Different strategies of osmoadaptation in the closely related marine myxobacteria *Enhygromyxa salina* SWB007 and *Plesiocystis pacifica* SIR-1. *Microbiology (Reading)*. 2016;162(4):651–661. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000250>
53. Moghaddam AJ, Crüseemann M, Alanjary M, Harms H, Dávila-Céspedes A et al. Analysis of the genome and metabolome of marine myxobacteria reveals high potential for biosynthesis of novel specialized metabolites. *Sci Rep.* 2018;8(1):16600. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34954-y>
54. Moghaddam AJ, Poehlein A, Fisch K, Alanjary M, Daniel R et al. Draft genome sequences of the obligatory marine myxobacterial strains *Enhygromyxa salina* SWB005 and SWB007. *Genome Announc.* 2018;6(17):e00324-18. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00324-18>
55. Mohr KI. Diversity of myxobacteria – we only see the tip of the iceberg. *Microorganisms*. 2018;6(3):84. <https://doi.org/10.3390/microorganisms6030084>
56. Murphy P, Comstock J, Khan T, Zhang J, Welch R, Igoshin OA. Cell behaviors underlying *Myxococcus xanthus* aggregate dispersal. *mSystems*. 2023;8(5):e00425-23. <https://doi.org/10.1128/msystems.00425-23>
57. Ojika M, Inukai Y, Kito Y, Hirata M, Iizuka T, Fudou R. Miuraenamides: antimicrobial cyclic depsipeptides isolated from a rare and slightly halophilic myxobacterium. *Chem Asian J.* 2008;3(1):126–133. <https://doi.org/10.1002/asia.200700233>
58. Payne JAE, Schoppet M, Hansen MH, Cryle MJ. Diversity of nature's assembly lines – recent discoveries in non-ribosomal peptide synthesis. *Mol. BioSyst.* 2017;13:9–22. <https://doi.org/10.1039/C6MB00675B>
59. Ravenschlag K, Sahm K, Pernthaler J, Amann R. High bacterial diversity in permanently cold marine sediments. *Appl Environ Microbiol.* 1999;65(9):1–8. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.9.3982-3989.1999>
60. Ronald G, La Clair JJ, Müller R. Future directions of marine myxobacterial natural product discovery inferred from metagenomics. *Mar. Drugs*. 2018;16(9):303. <https://doi.org/10.3390/md16090303>
61. Saggi SK, Nath A, Kumar S. Myxobacteria: biology and bioactive secondary metabolites. *Research in Microbiology*. 2023;174:104079. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2023.104079>
62. Saha S. Exploring myxobacteria for drugs. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*. 2024;10(6):289–315. www.wjpls.org
63. Salmanov AG, Shchekhlov DV, Mamonova M, Shchekhlov YE, Litus VI et al. Healthcare associated infections in patients with combat wounds and antimicrobial resistance of the responsible pathogens in Ukraine: results of a multicenter study (2022–2024). *Wiad Lek.* 2025;78(8):1624–1634. <https://doi.org/10.36740/WLek/209517>



64. Sanford RA, Cole JR, Tiedje JM. Characterization and description of *Anaeromyxobacter dehalogenans* gen. nov., sp. nov., an aryl-halo-respiring facultative anaerobic myxobacterium. *Appl Environ Microbiol.* 2002;68(2):893–900. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.2.893-900.2002>
65. Schäberle TF, Goralski E, Neu E, Erol Ö, Hölzl G et al. Marine myxobacteria as a source of antibiotics – comparison of physiology, polyketide-type genes and antibiotic production of three new isolates of *Enhygromyxa salina*. *Mar. Drugs.* 2010;8(9):2466–2479. <https://doi.org/10.3390/md8092466>
66. Schäberle TF, Lohr F, Schmitz A, König GM. Antibiotics from myxobacteria. *Nat. Prod. Rep.* 2014;31:953–972. <https://doi.org/10.1039/C4NP00011K>
67. Shrivastava A, Sharma RK. Myxobacteria and their products: current trends and future perspectives in industrial applications. *Folia Microbiol (Praha).* 2021;66(4):483–507. <https://doi.org/10.1007/s12223-021-00875-z>
68. Sorokoumova LK, Kozhokaru AA, Yaremin SYu, Zhorniak OI. Monitoring of the dynamics of antimicrobial resistance among wounded in the conditions of armed conflict. *Ukrainian Journal of Military Medicine.* 2025;6(2):105–110. [https://doi.org/10.46847/ujmm.2025.2\(6\)-105](https://doi.org/10.46847/ujmm.2025.2(6)-105)
69. Sumiya E, Shimogawa H, Sasaki H, Tsutsumi M, Yoshita K et al. Cell-morphology profiling of a natural product library identifies bisbromoamide and miuraenamides A as actin filament stabilizers. *ACS Chem Biol.* 2011;6(5):425–431. <https://doi.org/10.1021/cb1003459>
70. Sun Y, Feng Z, Tomura T, Suzuki A, Miyano S et al. Heterologous production of the marine myxobacterial antibiotic haliangicin and its unnatural analogues generated by engineering of the biochemical pathway. *Sci Rep.* 2016;6:22091. <https://doi.org/10.1038/srep22091>
71. Sun Y, Tomura T, Sato J, Iizuka T, Fudou R, Ojika M. Isolation and biosynthetic analysis of haliamide, a new PKS-NRPS hybrid metabolite from the marine myxobacterium *Haliangium ochraceum*. *Molecules.* 2016;21(1):59. <https://doi.org/10.3390/molecules21010059>
72. Swetha RG, Arakal BS, Rajendran S, Sekar K, Whitworth DE et al. MyxoPortal: a database of myxobacterial genomic features. *Database.* 2024;2024:baae056. <https://doi.org/10.1093/database/baae056>
73. Timmermans ML, Paudel YP, Ross AC. Investigating the biosynthesis of natural products from marine proteobacteria: a survey of molecules and strategies. *Mar Drugs.* 2017; 15(8): 235. <https://doi.org/10.3390/md15080235>
74. Tomura T, Nagashima S, Yamazaki S, Iizuka T, Fudou R, Ojika M. An unusual diterpene—enhygromic acid and deoxyenhygrolides from a marine myxobacterium, *Enhygromyxa* sp. *Mar. Drugs.* 2017;15(4):109. <https://doi.org/10.3390/md15040109>
75. Treude N, Rosencrantz D, Liesack W, Schnell S. Strain FAc12, a dissimilatory iron-reducing member of the *Anaeromyxobacter* subgroup of Myxococcales. *FEMS Microbiol Ecol.* 2003;44(2):261–269. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(03\)00048-5](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(03)00048-5)
76. Wang B, Hu W, Liu H, Zhang CY, Zhao JY et al. Adaptation of salt-tolerant *Myxococcus* strains and their motility systems to the ocean conditions. *Microb Ecol.* 2007;54(1):43–51. <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9169-y>



77. Wang C, Xiao Y, Wang Y, Liu Y, Yao Q, Zhu H. Comparative genomics and transcriptomics insight into myxobacterial metabolism potentials and multiple predatory strategies. *Front Microbiol.* 2023;14:1146523. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1146523>
78. Wang D-G, Wang C-Y, Hu J-Q, Wang J-J, Liu W-C. Constructing a myxobacterial natural product database to facilitate NMR-based metabolomics bioprospecting of myxobacteria. *Anal. Chem.* 2023;95(12):5256–5266. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c05145>
79. Wang C-Y, Hu J-Q, Wang D-G, Li Y-Z, Wu C. Recent advances in discovery and biosynthesis of natural products from myxobacteria: an overview from 2017 to 2023. *Nat. Prod. Rep.* 2024;41:905–934. <https://doi.org/10.1039/D3NP00062A>
80. Weissman KJ, Müller R. Myxobacterial secondary metabolites: bioactivities and modes-of-action. *Nat Prod Rep.* 2010;27(9):1276–1295. <https://doi.org/10.1039/c001260m>
81. Whitworth DE, Jurkevitch E, Pérez J, Fuhrmann G, Koval SF. Editorial: mechanisms of prokaryotic predation. *Front. Microbiol.* 2020;11:2071. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.02071>
82. Wrótniak-Drzewiecka W, Brzezińska AJ, Dahm H, Ingle AP, Rai M. Current trends in myxobacteria research. *Ann Microbiol.* 2016;66:17–33. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1104-3>
83. Wu D, Hugenholtz P, Mavromatis K, Pukall R, Dalin E et al. A phylogeny-driven genomic encyclopaedia of bacteria and archaea. *Nature.* 2009;462(7276):1056–1060. <https://doi.org/10.1038/nature08656>
84. Xiao Y, Wei X, Ebright R, Wall D. Antibiotic production by myxobacteria plays a role in predation. *J Bacteriol.* 2011;193(18):4626–4633. <https://doi.org/10.1128/jb.05052-11>
85. Xiao Y, Gerth K, Müller R, Wall D. Myxobacterium-produced antibiotic TA (myxovirescin) inhibits type II signal peptidase. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(4):2014–2021. <https://doi.org/10.1128/AAC.06148-11>
86. Yamamoto E, Muramatsu H, Nagai K. *Vulgatibacter incomptus* gen. nov., sp. nov. and *Labilithrix luteola* gen. nov., sp. nov., two myxobacteria isolated from soil in Yakushima Island, and the description of Vulgatibacteraceae fam. nov., Labilitrichaceae fam. nov. and Anaeromyxobacteraceae fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2014;64(Pt 10):3360–3368. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.063198-0>
87. Zhang YQ, Li YZ, Wang B, Wu ZH, Zhang CY et al. Characteristics and living patterns of marine myxobacterial isolates. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71(6):3331–3336. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.6.3331-3336.2005>
88. Zusman DR, Scott AE, Yang Z, Kirby JR. Chemosensory pathways, motility and development in *Myxococcus xanthus*. *Nat Rev Microbiol.* 2007;5(11):862–872. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1770>
89. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN). <https://lpsn.dsmz.de>.
90. <http://www.marinespecies.org>

Стаття надійшла до редакції 19.11.2025 р.



ІНФОРМАЦІЙНЕ ПОВІДОМЛЕННЯ ДЛЯ АВТОРІВ

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

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

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

Мова (мови) видання: українська, англійська.

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

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

Вимоги до оформлення статей, які подаються до редакції журналу:

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

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

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

При написанні статті необхідно дотримуватися такого плану:

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



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

Текст статті має включати такі складові:

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

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

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

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

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

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

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

Латинські біологічні назви видів, родів подаються курсивом латиницею.



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

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

Розділ «Матеріали і методи»:

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

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

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

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

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

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

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

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



Список використаної літератури

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

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

Патентні документи розміщуються у кінці списку посилань.

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

Стиль оформлення – NLM (National Library of Medicine).

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

Назви статей наводять англійською мовою.

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

Зразки посилання літератури

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

На монографії

Андреюк К. І., Козлова І. П., Коптева Ж. П., Піляшенко-Новохатний А. І., Заніна В. В., Пуріш Л. М. Мікробна корозія підземних споруд. Київ: Наукова думка. – 2005. – 258 с.

Мікробіологічні методи очищення стічних вод від органічних забруднювачів: монографія / В. О. Іваниця, Т. В. Гудзенко, Б. М. Галкін, О. В. Волювач, О. Г. Горшково – Одеса: Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 2020 – 135 с.

Капрельянц Л. В., Йоргачова О. Г. Функціональні продукти. – Одеса, 2003. – С. 229–237.

Гвоздяк Р. І., Пасічник Л. А., Яковлева Л. М., Мороз С. М., Литвинчук О. О. Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби рослин. – К.: ТОВ «НВП «Інтерсервіс», 2011. – 444 с.

Rogers H., Perkins H., Ward I. Microbial cell walls and membranes. – London; New York: Fcfd. Press, 2020. – 364 p.

На журнальні статті

Страшнова І. В., Потапенко К. С., Коротаєва Н. В., Лісютін Г. В., Метеліцина І. П. Антагоністичні властивості чорноморських стрептоміцетів, виділених із обростань черепашнику і мідій // Мікробіологія і біотехнологія – 2022. – № 3(56). – Р. 6–23. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2022.3\(56\).268585](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2022.3(56).268585)



Boubekri K., Soumare A., Mardad I., Lyamlouli K., Ouhdouch Y. et al. Multifunctional role of actinobacteria in agricultural production sustainability: a review // *Microbiological Research*. – 2022. – Vol. 261. – P. 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127059>

Булигіна Т. В., Варбанець Л. Д., Пасічник Л. А., Житкевич Н. В. Резистентність до антимікробних препаратів бактерій *Pantoea agglomerans* // *Мікробіологія і біотехнологія*. – 2016. – № 1. – С. 68–75.

На тези доповідей

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

На депоновані наукові роботи

Защинська О. С. Мікробні сидерофори як можливі фактори антагонізму бактерій *Bacillus megaterium* щодо патогенних *Agrobacterium spp.* // Збірка матеріалів наукового товариства студентів, аспірантів і молодих учених. – Одеса: Репозитарій наукової бібліотеки ОНУ імені І. І. Мечникова, 2019. – С. 17–18.

На стандарти

ДСТУ 7355:1213 Молоко, молочні продукти та закваски. Метод визначення кількості біфідобактерій. – 14 с.

Державна служба статистики України. Посівні площі сільськогосподарських культур за їх видами. Доступ онлайн: <http://www.ukrstat.gov.ua/> [цитовано 28 берез. 2021].

На патенти

Патент України № 90119, МПК C02F 1/24. Спосіб мікробіологічного очищення води від іонів цинку / Волювач О. В., Горшкова О. Г., Беляєва Т. О., Конуп І. П., Баранов О. О. (Україна). – N 90119; заявл. 24.12.2013; опубл. 12.05.2014, Бюл. N 9.

Патент на винахід Україна, МПК A23G 3/34, 3/48. Спосіб одержання кондитерського антиоксидантного продукту, власник Одес. нац. технол. Університет / Пилипенко Л. М., Рогова Н. В., Килименчук О. О., Крусір Г. В., Севастьянова О. В., Біленька І. Р. Заявка на винахід No a 2022 03697 Україна, заявл. 04.10.22. Патент на винахід Україна, МПК A23G 3/34, 3/48.

На автореферати дисертацій

Білявська Л. О. Актинобактерії роду *Streptomyces* і їхні метаболіти у біорегуляції рос-лин : дис. ... док. біол. наук : 03.00.07. Київ, 2018. – 485 с.

Зразки посилань літератури, транслітерованих латиницею

References

Стиль оформлення для списку джерел латиницею – NLM (National Library of Medicine), зразок:

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

Статті в журналах:

Shtenikov MD, Strashnova IV, Korotaieva NV, Tytarenko NV et al. Characteristics of marine strain *Streptomyces* sp. with antimicrobial and cytotoxic



activity. *Biosyst. Divers.* 2023;31(4):451–459. <https://doi.org/10.15421/012354>

Qi D, Liu Q, Zou L, Zhang M, Li K et al. Taxonomic identification and antagonistic activity of *Streptomyces luomodiensis* sp. nov. against phytopathogenic fungi. *Front. Microbiol.* 2024;15:1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1402653>

Матеріали з'їздів, конференцій:

Strashnova I, Andriuschenko O, Vasyliieva N, Shtnenikov M, Korotaieva N. Antagonistic potential of Black Sea actinobacteria. *Abstract book of 9th International Weigl Conference, 27–29 June, 2024, Rzeszow, Poland, 2024:53–54.*

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

Yin R, Francis F, Bragard C, Liu Y, Chen J. Study on transmission efficiency of CMV transmitted by *Myzus persicae* from different places. In: *Proceedings of 9th International Symposium on Aphids*, Beijing, China. 2013:49–50.

Дисертаційні роботи:

Koreneva AA. *Biological properties of medicinal plants viruses*. PhD thesis, Taras Shevchenko National University of Kyiv, 2009:22.

Збірники:

Zinchenko OYu, Shmatkova NV, Seyfullina IY Evaluation of antiviral activity 4-dimethylaminobenzaldehyde 2-hydroxybenzoyl-, nicotinoyl- and isonicotinoylhydrazones and their chelates with SnCl₄ on "phage-host" model. *"Modern aspects of science", 21th volume of the international collective monograph / Vědecká perspektiva.* 2022:62–73.

Dunich A, Mishchenko L. Heavy metals content in virus infected purple coneflower plants. *Bull T Shevchenko Nat Univ Kyiv Ser Biol.* 2013;65(3):22–26.

Патенти, заявки:

Patent Ukraine na vynahid No 116299. Method of defenolization of industrial effluents / Ivanycja V.O., Gorshkova O.G., Gudzenko T.V., Voljuvach O.V., Konup I.P., Bjelajeva T.O. Nomer zajavky No a201608635 vid 25.07.2016 r. Opubl. 26.02.2018, Bjul. No 4. [in Ukrainian].

Patent Ukraine na vynahid No116058. Method of biological treatment of surface water / Gvozdyak P.I., Kaparnyk A.I., Dombrovskij K.O., Rylskij O.F., Bolgova O.S. Opubl. 25.01.2018., Bjul. No 2. [in Ukrainian].

Статті з електронних журналів

Author AA, Author BB, Author CC. Title of article. *Title of Journal.* 2005;10(2):49–53, available at: www.ascusc.org/jcmc/vol5/issue2/

За наявності в статті DOI (Digital Object Identifier), яка є міжнародним ISO стандартом (<http://www.doi.org/>), в списку літератури вказати її ідентифікатор, наприклад:

Author AA, Author BB, Author CC. Title of article. *Title of Journal.* 2005;10(2):49–53. <https://doi.org/10.1134/S1023193508080077>



Датою надходження статті вважають день, коли до редколегії надійшов перший варіант тексту статті.

Після одержання коректури статті автор повинен виправити лише помилки і терміново відіслати статтю на адресу редколегії або повідомити про свої правки по телефону чи електронною поштою.

У разі затримки редакція, додержуючись графіка, залишає за собою право здати коректуру до друкарні (у виробництво) без авторських правок.

Підпис автора у кінці статті означає, що автор передає права на видання своєї статті редакції. Автор гарантує, що стаття оригінальна; ні стаття, ні рисунки до неї не були опубліковані в інших виданнях.



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

Верстка С. О. Остапенко

Підп. до друку 20.12.2025 р. Формат 70x100/16.

Ум.-друк. арк. 9,75. Наклад 100 пр.

Зам. № 3066.

Видавець:

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

Виготовлювач: