

ТІСТЕЧОК С. І.^{1, 2} МАРКЕВИЧ С. Б.¹ПІНЧУК С. А.^{1, 2}ФЕДОРЕНКО В. О.¹ ГРОМИКО О. М.¹ ¹ Львівський національний університет ім. І. Франка,
Україна, 79000, м. Львів, вул. Університетська, 1² ТОВ «Експлоджен»,

Україна, 79053, м. Львів, вул. Володимира Великого, 16

 Stepan.Tistechok@lnu.edu.ua

ФІЛОГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА АНТИБІОТИЧНА АКТИВНІСТЬ ПРИРОДНИХ ІЗОЛЯТІВ РОДУ *SACCHAROPOLYSPORA*

Мета. Рідкісні роди актиноміцетів, такі як рід *Saccharopolyspora* є цінним джерелом біологічно активних сполук з різноманітними активностями. З огляду на це, метою цього дослідження було дослідити філогенію природних ізолятів ризосферних актиноміцетів Кримського півострова роду *Saccharopolyspora* та їхній потенціал до синтезу антибіотичних сполук. **Методи.** У роботі використано мікробіологічні, біоінформатичні, молекулярно-генетичні та статистичні методи. **Результати.** Досліджено філогенію ризосферних актиноміцетів у межах роду *Saccharopolyspora*, використовуючи нуклеотидні послідовності генів 16S рРНК, *gyrB* та *rpoB*. Показано внутрішньородову диференціацію ізолятів у межах роду *Saccharopolyspora*. Встановлено імовірну належність ізолятів *Saccharopolyspora* sp. Ое 2-284 та Оа 2-139 до одного виду. Виявлено, що антимікробна активність ізолятів суттєво залежить від умов культивування. Найбільш виражену антибіотичну активність продемонстрував ізолят *Saccharopolyspora* sp. Ое 2-284, який пригнічував ріст як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій. Ізолят Оа 2-139 проявляв помірну активність, тоді як Je 1-415 та Ya 6-223 не виявляли антимікробної активності проти використаних тест-культур мікроорганізмів. Жоден ізолят не був активним проти *Candida albicans* Berkhout. **Висновки.** Філогенетичний аналіз на основі генів 16S рРНК, *gyrB* та *rpoB* афіліював досліджувані ізоляти до роду *Saccharopolyspora*. Окремі ізоляти роду *Saccharopolyspora* демон-

струють значний біосинтетичний потенціал до продукування біологічно активних сполук антимікробної дії.

Ключові слова: актиноміцети, *Saccharopolyspora*, філогенетичний аналіз, антимікробна активність.

Актиноміцети є однією з найбільших таксономічних груп в царстві *Bacteria*, для яких характерна екологічна пластичність та здатність виживати у широкому спектрі середовищ. Вони є грампозитивними бактеріями з високим вмістом G + C пар у геномі (Barka et al., 2015). Проте, головною цінністю цих бактерій є їхня здатність продукувати біологічно активні сполуки з антибіотичною дією. Більшість відомих сьогодні протимікробних препаратів продукуються актиноміцетами, зокрема вони були виділені з роду *Streptomyces*. Цей рід актиноміцетів продукує понад дві третини клінічно важливих антибіотиків (Mast and Stegmann, 2019). Однак, останніми роками спостерігається значне сповільнення відкриття та впровадження нових антибіотичних сполук. Відсутність впровадження нових антибіотиків та неконтрольоване використання наявних призводить до значного розвитку та поширення патогенних мікроорганізмів з множинною стійкістю до антибіотиків. Тому, пошук нових антибіотиків і зміни способу їх використання є важливим інструментом для подолання проблеми антибіотикорезистентності (Ventola, 2015).



© 2026 Тістечок С. І., Маркевич С. Б., Пінчук С. А., Федоренко В. О., Громико О. М. This work is licensed under CC BY 4.0. To view a copy of this license, visit <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Представники роду актиноміцетів *Saccharopolyspora* є визнаними продуцентами антибіотичних сполук. Першим антибіотиком, продукування якого було описано для представників роду *Saccharopolyspora*, став еритроміцин А. Ця сполука демонструє виражену антибактеріальну активність щодо широкого кола мікроорганізмів (Jelić and Antolović, 2016). Окрім еритроміцину, у представників цього роду виявлено різноманітні вторинні метаболіти, що характеризуються інсектицидними, антибактеріальними, протипухлинними, противірусними та іншими біологічними властивостями (Sayed et al., 2020). Таким чином, сполуки, синтезовані представниками роду *Saccharopolyspora*, відзначаються широким спектром біологічної активності та мають значний потенціал для використання у харчовій промисловості, медицині та аграрному секторі.

Метою нашого дослідження була філогенетична характеристика природних ризосферних ізолятів *Saccharopolyspora*, виділених на території Кримського півострова, та їхній потенціал до синтезу антибіотичних сполук.

Матеріали і методи

У дослідженні використано природні ізоляти актиноміцетів, виділені з ризосфери рослин Кримського півострова: Je 1-415, Oe 2-284, Oe 2-139 та Ya 6-223. Для визначення здатності ізолятів продукувати антимікробні метаболіти як тест-культури використовували *Escherichia coli* (Migula) Castellani and Chalmers ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter) Migula ATCC 9027, *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn ATCC 31324, *Mycobacterium smegmatis* (Trevisan) Lehmann and Neumann DSMZ 43286, *Staphylococcus aureus* Rosenbach ATCC 25923 та *Candida albicans* Berkhout UNCSM-002. Усі штами, використані у роботі, зберігаються у Колекції культур мікроорганізмів – продуцентів антибіотиків Львівського національного університету імені Івана Франка (<https://mccap.org.ua/>). Ізоляти актиноміцетів і тест-культури грибів вирощували при температурі 28–30 °C, тоді як тест-культури бактерій культивували при 37 °C.

Філогенетичний аналіз здійснювали, використовуючи послідовності генів 16S рРНК і послідовності частини генів *gyrB* та *rpoB* ізольованих актиноміцетів та їхніх найспорідненіших видів. Філогенетичні дерева будували з використанням алгоритму з'єднання сусідів в

програмі Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) версія X (Kumar et al., 2018). Нуклеотидні послідовності генів 16S рРНК ізолятів Je 1-415, Oe 2-284, Oe 2-139 та Ya 6-223 задепоновані у базі даних генетичної інформації GenBank

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), де їм присвоєні ідентифікаційні номери OP720560, PX318277, PX318269 та PX318042, відповідно.

Вивчення антибіотичної активності ізолятів здійснювали методом агарових блоків. Для цього на агаризованих середовищах ISP2, ISP3, SG, GYM (Kieser et al., 2000) та MED-1 (мальтозний екстракт – 3 г/л, триптон – 2,5 г/л, дріжджовий екстракт – 2,5 г/л, глюкоза – 0,5 г/л, крохмаль – 12 г/л, агар – 20 г/л, рН 7,2.) вирощували ізоляти актиноміцетів протягом 7–8 діб при 28–30 °C. Поява зони пригнічення росту тест-культур навколо агарового блока свідчила про здатність ізолятів продукувати антибіотичні сполуки. Здійснювали вимірювання діаметру зон навколо кожного блока.

Результати та обговорення

Філогенетичну належність досліджуваних ізолятів визначали на основі аналізу нуклеотидних послідовностей гена 16S рРНК. Порівняння отриманих послідовностей із базою даних NCBI за допомогою BLAST засвідчило їхню високу подібність (98,24–99,93%) до представників роду *Saccharopolyspora*. Зокрема, ізолят Je 1-415 найбільш споріднений зі штамом *Saccharopolyspora karakumensis* Saygin et al. 5K548 (MG770750), Oe 2-139 із *Saccharopolyspora kobensis* (Lacey) Nouiou et al. IMA1 (MG255179), Oe 2-284 із *Saccharopolyspora hirsuta* Lacey and Goodfellow ATCC 27875 (NR_118870), Ya 6-223 із *Saccharopolyspora hordei* Goodfellow et al. F2002 (OP218503). Побудоване філогенетичне дерево на основі послідовності генів 16S рРНК, що включало досліджувані ізоляти, найближчих родичів і репрезентативні штами роду, підтвердило їхню кластеризацію в межах роду *Saccharopolyspora* (рис. 1). При цьому простежується певна внутрішньородова диференціація, зокрема ізоляти Oe 2-284, Oe 2-139 і Ya 6-223 формують спільну кладу зі штамми *S. hordei* та *S. hirsuta*, у свою чергу ізолят Je 1-415 групується з штамми *S. karakumensis* і *Saccharopolyspora pathumthaniensis* Sinma et al.

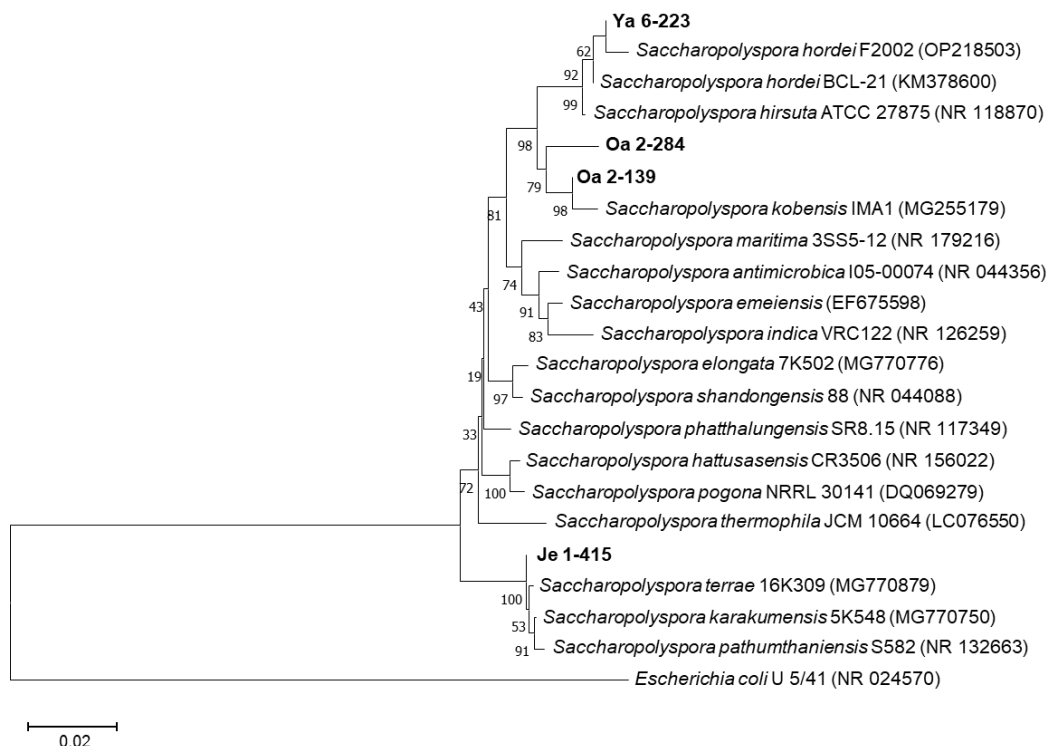


Рис. 1. Філогенетичне дерево на основі нуклеотидних послідовностей генів 16S рРНК досліджуваних ізолятів (виділені жирним) найближчих сусідів і вибраних типових штамів роду *Saccharopolyspora*. Послідовність гена 16S рРНК *E. coli* U5/41 використали для укорінення дерева. Смужка вказує на 0,02 заміни на нуклеотидну позицію.

Отримані результати підтверджують афіліацію природних ізолятів до роду *Saccharopolyspora*. Для з'ясування філогенетичних зв'язків досліджуваних штамів у межах роду ми дослідили два гени «домашнього господарства» *gyrB* та *rpoB* (Guo et al., 2008, Tis-tchok et al., 2021). У результаті секвенування та філогенетичного аналізу гена *gyrB*, який кодує субодиницю У ДНК-гірази, ми виявили, що

ізоляти Оа 2-284, Оа 2-139 та Ya 6-223 є найбільш спорідненими зі штамом *S. hordei* IFO 15046 (рівень гомології 94,52, 95,73, та 100,00%, відповідно). У свою чергу, найближчими родичами ізолята Je 1-415 за геном *gyrB* є *Saccharopolyspora gregorii* Goodfellow et al. BM8-3 та *Saccharopolyspora gloriosae* Qin et al. MLY014 з гомологією 86,98 та 86,10%, відповідно (рис. 2 А).

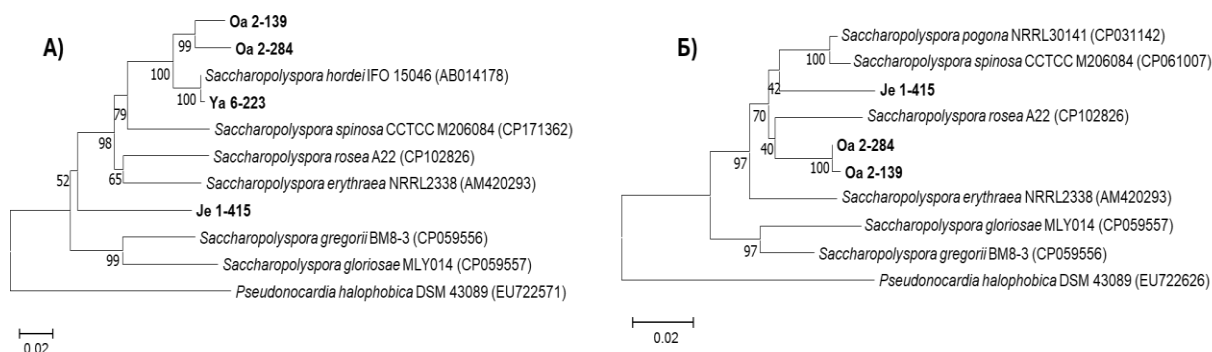


Рис. 2. Філогенетичне дерево на основі нуклеотидних послідовностей фрагментів генів *gyrB* (А) та *rpoB* (Б) досліджуваних ізолятів (виділені жирним) найближчих сусідів і вибраних типових штамів роду *Saccharopolyspora*. Послідовності генів *gyrB* та *rpoB* *Pseudonocardia halophobica* (Akimov et al.) McVeigh et al. DSM 43089 використали для укорінення дерев. Смужка вказує на 0,02 заміни на нуклеотидну позицію.

Аналіз нуклеотидної послідовності фрагменту гена *rpoB*, який кодує В субодиницю РНК-полімерази виявив, що до ізолятів Je 1-415, Оа 2-284 та Оа 2-139 найбільш спорідним є штам *Saccharopolyspora pogona* Lewer et al. NRRL30141 із рівнем гомології 95,04, 95,42 та 95,51%, відповідно. Найближчим гомологом ізолята Ya 6-223 за аналізом цього гена виявився *Saccharopolyspora rosea* Tang et al. A22 (95,12% гомології) (Рис. 2 Б). Отримані дані вказують на те, що ізоляти *Saccharopolyspora* sp. Оа 2-284 та Оа 2-139 мають спільних гомологів за генами 16S рРНК, *gyrB* та *rpoB*. Така подібність дозволяє припустити, що ізоляти *Saccharopolyspora* sp. Оа 2-284 та Оа 2-139 можуть бути штамми одного виду.

Як уже згадувалось раніше, представники роду *Saccharopolyspora* здатні продукувати значну кількість антибіотичних сполук з різноманітними активностями. З огляду на це, ми дослідили антибіотичну активність досліджуваних ізолятів проти панелі тест-культур мікроорганізмів. Для більш об'єктивної оцінки біосинтетичного потенціалу ізолятів застосовували різні поживні середовища з відмінним хімічним складом. Відомо, що склад поживного середовища є одним із ключових факторів, який регулює експресію біосинтетичних генних кластерів у актиноміцетів, що може призводити до активації або, навпаки, репресії синтезу вторинних метаболітів, включаючи антибіотики (Hoskisson and Fernández-Martínez, 2018, Romero-Rodríguez et al., 2018). Антимікробну активність досліджуваних ізолятів оцінювали проти грампозитивних (*B. subtilis*, *M. smegmatis*, *S. aureus*), грамнегативних (*E. coli*, *P. aeruginosa*) бактерій та дріжджоподібного гриба *C. albicans*. Найбільш виражену антибіотичну активність продемонстрував ізолят *Saccharopolyspora* sp. Ое 2-284. При культивуванні на середовищах SG та GYM ізолят *Saccharopolyspora* sp. Ое 2-284 пригнічував ріст усіх використаних грампозитивних та грамнегативних бактерій. Зокрема, максимальні

показники зафіксовано на середовищі GYM, де діаметри зон затримки росту досягали 14–17 мм проти більшості досліджених бактерій. Ймовірно, при рості на середовищі GYM ізолят *Saccharopolyspora* sp. Ое 2-284 має оптимальні умови для синтезу антибіотичних сполук. Також, ізолят *Saccharopolyspora* sp. Оа 2-139 показав помірну антимікробну активність, яка суттєво залежала від складу поживного середовища. Висока активність окремих ізолятів може свідчити про наявність у їхніх геномах біосинтетичних кластерів, які експресуються та утворюють активні сполуки. На середовищах MED-1 та SG ізолят *Saccharopolyspora* sp. Оа 2-139 пригнічував ріст лише *B. subtilis* та *M. smegmatis*. Однак, при вирощуванні на середовищі GYM, ізолят *Saccharopolyspora* sp. Оа 2-139 виявляв активність проти усіх використаних тест-культур бактерій. На відміну від ізолятів *Saccharopolyspora* sp. Ое 2-284 та *Saccharopolyspora* sp. Оа 2-139, ізоляти *Saccharopolyspora* sp. Je 1-415 та *Saccharopolyspora* sp. Ya 6-223 не проявляли антимікробної активності на жодному із досліджених середовищ. Крім того, жоден з досліджуваних ізолятів не виявляв антибіотичної активності проти *C. albicans* (табл.). Відсутність антимікробної активності не обов'язково вказує на відсутність біосинтетичного потенціалу, оскільки відповідні гени можуть залишатися неекспресованими у лабораторних умовах (Bridget et al., 2025).

Отже, отримані результати вказують на біосинтетичний потенціал природних ізолятів роду *Saccharopolyspora*, як потенційних продуцентів антибактерійних сполук. Подальші дослідження, зокрема хімічний аналіз вторинних метаболітів цих ізолятів, особливо *Saccharopolyspora* sp. Ое 2-284, можуть сприяти ідентифікації сполук, відповідальних за антибіотичну активність, та визначенню їхнього потенціалу для практичного застосування.

Таблиця. Діаметр зон інгібування росту тест-культур мікроорганізмів навколо агарових блоків (d = 8 мм) ізолятів роду *Saccharopolyspora*, мм

Ізоляти	Середовище	Тест-культури					
		<i>M. smegmatis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
Je 1-415	MED-1	0	0	0	0	0	0
	SG	0	0	0	0	0	0
	GYM	0	0	0	0	0	0
	ISP-2	0	0	0	0	0	0
	ISP-3	0	0	0	0	0	0
Oa 2-139	MED-1	13 ± 1	15 ± 1	0	0	0	0
	SG	9 ± 1	11 ± 1	0	0	0	0
	GYM	15 ± 2	17 ± 2	12 ± 2	9 ± 1	9 ± 1	0
	ISP-2	0	0	0	0	0	0
	ISP-3	0	0	0	0	0	0
Oe 2-284	MED-1	10 ± 1	12 ± 1	10 ± 1	0	12 ± 1	0
	SG	14 ± 1	12 ± 1	13 ± 1	10 ± 1	14 ± 2	0
	GYM	16 ± 2	17 ± 2	14 ± 2	14 ± 2	17 ± 2	0
	ISP-2	0	0	0	0	0	0
	ISP-3	12 ± 1	13 ± 1	11 ± 2	0	11 ± 1	0
Ya 6-223	MED-1	0	0	0	0	0	0
	SG	0	0	0	0	0	0
	GYM	0	0	0	0	0	0
	ISP-2	0	0	0	0	0	0
	ISP-3	0	0	0	0	0	0

Висновки

У результаті філогенетичного аналізу, який базувався на основі нуклеотидних послідовностей генів 16S рРНК, *gyrB* та *rpoB*, ізоляти актиноміцетів афілійовані до роду *Saccharopolyspora*. Досліджувані ізоляти характеризуються різним рівнем антимікробної активності, яка суттєво залежить від умов культивування. Показано, що для ізолята *Saccharopolyspora* sp. Oe 2-284 характерна найкраща антимікробна активність проти грампозитивних і грамнегативних бактерій, що свід-

чить про його значний біосинтетичний потенціал. Отримані дані вказують на доцільність подальших досліджень, спрямованих на ідентифікацію вторинних метаболітів та оцінку їх потенціалу для практичного застосування.

Інформація про фінансову підтримку, подяки: роботу проведено за фінансової підтримки Міністерства освіти і науки України в рамках проєктів Н/309-2003 та Бг-21НФ.

Конфлікт інтересів: автор Громико О. М. є членом редакційної колегії збірника наукових праць «Фактори експериментальної еволюції організмів». Інші автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Список використаних джерел

1. Barka E. A., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant N., Jacquard C., Meier-Kolthoff J. P., Klenk H.-P., Clément Ch., Ouhdouch Y., P van Wezel G. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2015. Vol. 80 (1). P. 1–43. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00019-15>.
2. Bridget A. F., Budhathoki R., Huo C., Joshi S., Parajuli N., Sohng J. K., Kim K. H. Activation of cryptic biosynthetic pathways in *Saccharopolyspora spinosa* through deletion of the spinosyn gene cluster: induction of cryptic and bioactive natural products. *Archives of Pharmacal Research*. 2025. Vol. 48. P. 514–527. <https://doi.org/10.1007/s12272-025-01553-1>.
3. Guo Y., Zheng W., Rong X., Huang Y. A multilocus phylogeny of the *Streptomyces* griseus 16S rRNA gene clade: use of multilocus sequence analysis for streptomycete systematics. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2008. Vol. 58. P. 149–159. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.065224-0>.
4. Hoskisson P. A., Fernández-Martínez L. T. Regulation of specialised metabolites in *Actinobacteria* – expanding the paradigms. *Environmental microbiology reports*. 2018. Vol. 10 (3). P. 231–238. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12629>.
5. Jelić D., Antolović R. From erythromycin to azithromycin and new potential ribosome-binding antimicrobials. *Antibiotics (Basel)*. 2016. Vol. 5 (3). P. 29. <https://doi.org/10.3390/antibiotics5030029>.
6. Kieser T., Bibb M. J., Buttner M. J., Chater K. F., Hopwood D. A. Practical *Streptomyces* genetics. Norwich (United Kingdom) : John Innes Foundation, 2000. 620 p.
7. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 2018. Vol. 35 (6). P. 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>.

8. Mast Y., Stegmann E. Actinomycetes: the antibiotics producers. *Antibiotics*. 2019. Vol. 8 (3). 105. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030105>.
9. Romero-Rodríguez A., Maldonado-Carmona N., Ruiz-Villafán B., Koirala N., Rocha D., Sánchez S. Interplay between carbon, nitrogen and phosphate utilization in the control of secondary metabolite production in *Streptomyces*. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2018. Vol. 111 (5). P. 761–781. <https://doi.org/10.1007/s10482-018-1073-1>.
10. Sayed A. M., Abdel-Wahab N. M., Hassan H. M., Abdelmohsen U. R. *Saccharopolyspora*: an underexplored source for bioactive natural products. *Journal of Applied Microbiology*. 2020. Vol. 128 (2). P. 314–329. <https://doi.org/10.1111/jam.14360>.
11. Tistechok S. I., Tymchuk I. V., Kornychuk O. P., Fedorenko V. O., Luzhetskyy A. M., Gromyko O. M. Genetic identification and antimicrobial activity of *Streptomyces* sp. strain Je 1–6 isolated from rhizosphere soil of *Juniperus excelsa* Bieb. *Cytology and Genetics*. 2021. Vol. 55 (1). P. 28–35. <https://doi.org/10.3103/S0095452721010138>.
12. Ventola C. L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P&T: a peer-reviewed journal for formulary management*. 2015. Vol. 40 (4). P. 277–283.

TISTECHOK S. I.^{1,2}, MARKEYCH S. B.¹, PINCHUK S. A.¹, FEDORENKO V. O.¹, GROMYKO O. M.¹

¹ Ivan Franko National University of Lviv,
Ukraine, 79005, Lviv, Universytetska str., 1

² Explogen LLC,
Ukraine, 79053, Lviv, Volodymyra Velykogo str., 16

PHYLOGENETIC CHARACTERISATION AND ANTIBIOTIC ACTIVITY OF NATURAL ISOLATES OF THE GENUS *SACCHAROPOLYSPORA*

Aim. Rare genera of actinomycetes, such as the genus *Saccharopolyspora*, are a valuable source of bioactive compounds with diverse activities. The aim of this study was to investigate the phylogeny of natural isolates of rhizospheric actinomycetes from the Crimean Peninsula belonging to the genus *Saccharopolyspora* and their potential to produce antibiotic compounds. **Methods.** Microbiological, bioinformatic, molecular genetics, and statistical methods were employed in this study. **Results.** The phylogeny of the rhizospheric actinomycetes within the genus *Saccharopolyspora* was investigated using nucleotide sequences of the 16S rRNA, *gyrB*, and *rpoB* genes. Intrageneric differentiation of isolates within the genus *Saccharopolyspora* was demonstrated. It was established that the isolates *Saccharopolyspora* sp. Oe 2-284 and *Saccharopolyspora* sp. Oa 2-139 likely belong to the same species. It was found that the antimicrobial activity of the isolates depends significantly on the cultivation conditions. The most pronounced antibiotic activity was demonstrated by the *Saccharopolyspora* sp. Oe 2-284 isolate, which inhibited the growth of both Gram-positive and Gram-negative bacteria. The isolate Oa 2-139 exhibited moderate activity, whereas isolates Je 1-415 and Ya 6-223 showed no antimicrobial activity against the test microorganisms used. None of the isolates exhibited activity against *Candida albicans* Berkhout. **Conclusions.** Phylogenetic analysis based on the 16S rRNA, *gyrB*, and *rpoB* genes affiliated the studied isolates with the genus *Saccharopolyspora*. Certain isolates of the genus *Saccharopolyspora* demonstrate biosynthetic potential to produce biologically active compounds with antimicrobial activity.

Keywords: actinomycetes, *Saccharopolyspora*, phylogenetic analysis, antimicrobial activity.

Надходження статті: 31 березня 2026 р.

Прийняття до друку після рецензування: 27 квітня 2026 р.

Публікація: 30 червня 2026 р.