

## CO-CULTIVATION AS A FACTOR REGULATING THE SECONDARY METABOLISM OF ACTINOBACTERIA

T. Pirog<sup>1,2</sup>, A. Okhmakevych<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National University of Food Technologies

<sup>2</sup>Institute of Microbiology and Virology of NASU

---

**Key words:**

*Actinobacteria*  
*Co-culture*  
*New metabolites*  
*Biological activity*

---

**Article history:**

Received 08.05.2025

Received in revised form

27.05.2025

Accepted 11.06.2025

---

**Corresponding author:**

T. Pirog

**E-mail:**

tapirog@nuft.edu.ua

**Citation:** Пирог Т. П., Охмакевич А. М. (2025). Спільне культивування як фактор регуляції вторинного метаболізму актинобактерій. *Наукові праці НУХТ*, 31(3), 74—87.  
DOI: 10.24263/2225-2924-2025-31-3-7

---

**ABSTRACT**

Actinobacteria are an inexhaustible source of practically valuable secondary metabolites with a wide range of applications. Currently, two approaches are used to search for new natural biologically active substances: classical and postgenomic. The classical approach is long and laborious, as it involves isolating potential producers of practically valuable compounds from natural conditions and development of biotechnologies for their production. The postgenomic approach, which includes genomics, metabolomics and proteomics, requires appropriate expensive equipment, reagents, etc. An alternative to these two approaches is the co-cultivation of microorganisms — a simple, cheap, but quite effective approach to increase the activity of existing and/or search for new compounds.

The literature data on the combined cultivation of actinobacteria with other microorganisms was summarized, which resulted in the formation of new compounds with different biological activity that are not typical for monocultures and an increase in the synthesis of known metabolites.

When actinobacteria are cultivated together with actinobacteria, bacteria and micromycetes, new biologically active substances of various chemical natures with antimicrobial and cytotoxic activity (alkaloids, cyclic esters, cyclopeptides, polyketides, etc.) were formed, and the synthesis of antibiotics was also intensified. However, the concentration of oxytetracycline synthesized during combined cultivation was significantly lower than for potential industrial producers. Therefore, future research should be aimed at studying the complex regulation of secondary metabolism to establish all the mechanisms that ensure increased synthesis of metabolites during co-cultivation of microorganisms.

## СПІЛЬНЕ КУЛЬТИВУВАННЯ ЯК ФАКТОР РЕГУЛЯЦІЇ ВТОРИННОГО МЕТАБОЛІЗМУ АКТИНОБАКТЕРІЙ

Т. П. Пирог<sup>1,2</sup>, А. М. Охмакевич<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Національний університет харчових технологій

<sup>2</sup>Інститут мікробіології та вірусології НАНУ

*Актинобактерії є невичерпним джерелом практично цінних вторинних метаболітів широкого спектра застосування. Нині для пошуку нових природних біологічно активних речовин використовують два підходи: класичний і постгеномний. Класичний є тривалим і трудомістким, оскільки передбачає виділення з природних умов потенційних продуцентів практично цінних сполук і створення біотехнологій їх одержання. Постгеномний підхід, який охоплює геноміку, метаболоміку і протеоміку, потребує відповідного дорогого обладнання, реагентів тощо. Альтернативою цим двом підходам є спільне культивування мікроорганізмів — простий, дешевий, але достатньо ефективний підхід для підвищення активності уже існуючих та/або пошуку нових сполук.*

*У статті узагальнено літературні дані щодо комбінованого вирощування актинобактерій з іншими мікроорганізмами, результатом якого є утворення нових, не характерних для монокультур сполук з різною біологічною активністю та підвищення синтезу відомих метаболітів.*

*Під час спільного культивування актинобактерій з актинобактеріями, бактеріями і мікроміцетами спостерігається утворення різних за хімічною природою нових біологічно активних речовин з антимікробною та цитотоксичною активністю (алкалоїди, циклічні ефіри, циклопептиди, полікетиди тощо), а також підвищення синтезу антибіотиків. Разом з тим концентрація синтезованого під час комбінованого культивування окситетрацикліну є суттєво нижчою, ніж для потенційних промислових продуцентів, тому майбутні дослідження повинні бути спрямовані на вивчення складної регуляції вторинного метаболізму для встановлення всіх механізмів, що забезпечують підвищення синтезу метаболітів під час спільного культивування мікроорганізмів.*

**Ключові слова:** актинобактерії, співкультура, нові метаболіти, біологічна активність.

**Постановка проблеми.** Майже дві третини відомих на сьогодні біологічно активних речовин (антибіотики, пропухлинні, антифунгальні, імуносупресивні препарати тощо) синтезуються актинобактеріями, причому продуцентами 65% цих сполук є представники роду *Streptomyces* (Jose, Maharshi, & Jha, 2021). Стрептоміцети є важливим ресурсом для одержання практично цінних продуктів для потреб медицини (Almalki, 2020; Sánchez-Suárez, Coy-Barrera, Villamil, & Díaz, 2020; Lacey, & Rutledge, 2022; Abdella та ін., 2023).

Нині відомо багато біологічно активних продуктів мікробного синтезу, проте деякі з них характеризуються або недостатньо високою біологічною активністю, або їх концентрація у культуральній рідині є невисокою, тому постає необхідність

пошуку шляхів вирішення цієї проблеми (Dashti, Grkovic, Abdelmohsen, Hentschel, & Quinn, 2014; Jiang та ін., 2021; Maimone, de Oliveira, Santos, & de Lira, 2021).

**Огляд останніх досліджень і публікацій.** Традиційними підходами до вдосконалення технологій мікробного синтезу є оптимізація складу поживного середовища і умов культивування (Пирог, Вороненко, 2023; Dhagat, & Lujjavarapu, 2021; Geethu, Chandrashekar, & Divyashree, 2023) а також вдосконалення штамів методами метаболічної та генетичної інженерії (Ding, & Ye, 2023; Pšeničnik та ін., 2024; Ravagnan, & Schmid, 2024). Проте останніми роками привертає до себе увагу інноваційний метод спільного культивування (Sharma та ін., 2017; Selegato, & Castro-Gamboa, 2023; Named та ін., 2024) продуцентів з конкурентними мікроорганізмами або внесення у середовище біологічних індукторів, що дає змогу ще повніше використовувати потенціал «культивованих форм». У нашому попередньому дослідженні (Пирог, & Парфенюк, 2023) ми акцентували увагу на тому, що поняття «спільне культивування» та «біологічний індуктор» є різними, оскільки в першому випадку інокулянт продуцента і конкурентного мікроорганізму вносять у середовище в практично однаковій концентрації, у другому — інокулянт індуктора вносять у значно нижчій концентрації, ніж посівний матеріал продуцента. Біологічними індукторами найчастіше є живі або інактивовані клітини, а також відповідний супернатант, у випадку ж спільного культивування — вносяться тільки живі клітини конкурентного мікроорганізму.

Культивування продуцентів антимікробних вторинних метаболітів з іншими мікроорганізмами може супроводжуватись (Wang та ін., 2021; Li та ін., 2022): зміною концентрації метаболітів; синтезом метаболітів, не характерних для монокультур; відсутністю синтезу метаболітів, що утворювались у монокультурі; підвищенням антимікробної активності метаболітів і розширення спектра мікроорганізмів, щодо яких вона виявляється. Водночас у разі комбінованого культивування мікроорганізмів ніколи не спостерігалися випадки, щоб антимікробна активність синтезованих метаболітів знижувалася або втрачалася (Wang та ін., 2021).

У працях (Song, Ma, Bechthold, & Yu, 2020; Liang та ін., 2020) повідомляється, що продуценти реагують по-різному на різні індуктори у середовищі культивування, і тому індукційні механізми спільного культивування залишаються неясними. Загалом виділяють три основних типи індукції (Wang та ін., 2021): прямий фізичний контакт клітин, вплив молекулярних сполук конкурентного мікроорганізму, горизонтальне перенесення генів.

Передбачити наперед результат спільного культивування мікроорганізмів не можливо, тому дослідження цієї проблеми є актуальними. Крім того, не всі автори визначали біологічні властивості синтезованих у результаті спільного вирощування вторинних метаболітів. Залежно від умов культивування їх біологічна активність може суттєво змінюватись, тому немає гарантій, що метаболіти будуть характеризуватись бажаними властивостями, що обмежує їх практичне застосування натепер.

У нещодавно опублікованому огляді літератури (Pirog, & Ivanov, 2023) ми проаналізували інформацію про синтез метаболітів, не характерних для монокультур, у процесі спільного культивування двох штамів мікроміцетів, мікроміцетів з бактеріями, бактерій з бактеріями. У статті (Пирог, & Парфенюк, 2023) наведено дані

щодо використання дріжджів як конкурентних мікроорганізмів.

**Мета дослідження:** узагальнення літературних даних щодо комбінованого вирощування актинобактерій з іншими мікроорганізмами, результатом якого є утворення нових, не характерних для монокультур сполук з антимікробною, цитотоксичною та іншою активністю, підвищення синтезу метаболітів або їх біологічної активності.

**Матеріали і методи.** Матеріалами дослідження стали наукові публікації зарубіжних учених у провідних періодичних і спеціалізованих світових виданнях, що стосуються синтезу нових біологічно активних метаболітів у результаті спільного культивування актинобактерій з актинобактеріями, іншими бактеріями і мікроміцетами.

**Викладення основних результатів дослідження.** Утворення нових сполук у процесі спільного культивування актинобактерій з іншими мікроорганізмами. У літературі є інформація про спільне культивування з актинобактеріями, бактеріями та мікроміцетами таких продуцентів вторинних метаболітів, як актинобактерії роду *Streptomyces* (Wang та ін., 2014; Wakefield, Hassan, Jaspars, Ebel, & Rateb, 2017; Shin та ін., 2018; Yu та ін., 2019; Maglangit та ін., 2020), *Rhodococcus* (Alhadrami та ін., 2021), *Actinokineospora* (Dashti, Grkovic, Abdelmohsen, Hentschel, & Quinn, 2014), *Amycolatopsis* (Pan та ін., 2021), *Saccharomonospora* (El-Hawary та ін., 2018), а також *Micromonospora* (S Hifnawy та ін., 2020). Дані про нові біологічно активні метаболіти, синтезовані актинобактеріями у співкультури з іншими мікроорганізмами, наведено у табл. 1.

**Таблиця 1. Спільне культивування актинобактерій з іншими мікроорганізмами: синтез метаболітів, не характерних для монокультур**

Мікроорганізми	Синтезовані метаболіти	Антимікробна активність	Цитотоксична та інша активність	Література
Актинобактерії — бактерії				
<i>Streptomyces</i> sp. MA37+ <i>Pseudomonas</i> sp. (номер штаму не вказано)	Алкалоїд індокарбозол BE-13793C	МІК>140 мкМ щодо <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, <i>Staphylococcus aureus</i> MRSA ATCC 33591, <i>Streptococcus</i> B. ATCC 12386 <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Висока антипроліферативна активність щодо людських колоректальних клітин аденокарциноми ATCC НТВ-38 (IC <sub>50</sub> 3,16 мкМ), відсутність цитотоксичної активності щодо нормальних легеневих клітин ATCC CCL-171 (IC <sub>50</sub> >140 мкМ), відсутня антитрипонсомальна активність (IC <sub>50</sub> >50 мкМ)	Maglangit та ін., 2020
<i>Streptomyces</i> sp. JB5+ <i>Bacillus</i> sp. GN1	Дентигеру-міцин E (циклічний гексапептид)	—	Помірна цитотоксична активність проти ракових клітин: легенів A549 (IC <sub>50</sub> 38 мкМ),	Shin та ін., 2018

			<p>колоректальних НСТ116 (IC<sub>50</sub> 28 мкМ), молочної залози MDA-MB-231 (IC<sub>50</sub> 28 мкМ), печінки SK-HEP-1 (IC<sub>50</sub> 27 мкМ), шлунку SNU638 (IC<sub>50</sub> 39 мкМ). Незначна цитотоксична активність проти нормальних епітеліальних клітин MCF-10A IC<sub>50</sub>&gt;50 мкМ</p>	
Актинобактерії — актинобактерії				
<i>Rhodococcus</i> sp. UR59+ <i>Actinokineospora spheciopsongiae</i> EG49	Ангусцикліни Е, Н, G, тетрагулол, антрахінон капілястерхінон В	—	Антималарійна активність сумарного екстракту (IC <sub>50</sub> 0,13 мкг/мл)	Alhadrami та ін., 2021
<i>Actinokineospora</i> sp. EG49+ <i>Nocardiodopsis</i> sp. RV163	Алкалоїд 1,6-дигідроксифенозин	Зона затримки росту, мм (25 мкг/диск): <i>bacillus</i> sp. P25 — 11; <i>actinokineospora</i> sp. EG49 — 15	Активний проти <i>Trypanosoma bruce</i> TC 221 (IC <sub>50</sub> 19 мкМ)	Dashti, Grkovic, Abdelmohsen, Hentschel & Quinn, 2014
<i>Amycolatopsis</i> sp. 26-4+ <i>Tsukamurella pulmonis</i> TP-B0596	Аміколапептини А-С (циклічні нонадепсипептиди)	—	—	Pan та ін., 2021
<i>Saccharomonospora</i> sp. UR22+ <i>Dietzia</i> sp. UR66	Сахаромоноспорин А (алкалоїд)	—	Інгібітор кінази Pim-1 (IC <sub>50</sub> 0,3 мкМ); антипроліферативна активність проти аденокарциноми товстої кишки людини HT-29 (IC <sub>50</sub> 3,6 мкМ), полієліцитарного лейкозу людини HL-6 (IC <sub>50</sub> 2,8 мкМ)	El-Hawary та ін., 2018
	Конволютамідин F	—	Антипроліферативна активність проти HT-29 та HL-6 (IC <sub>50</sub> >100 мкМ)	
	(S) 6-бром-3-гідрокси-3-(1H-індол-3-іл)-індолін-2-он	—	Інгібітор кінази Pim-1 (IC <sub>50</sub> 0,95 мкМ); антипроліферативна активність проти HT-29 (IC <sub>50</sub> 3,7 мкМ), HL-6 (IC <sub>50</sub> 4,2 мкМ)	

	Нонактин	—	Антипроліферативна активність проти НТ-29 та HL-6 (IC <sub>50</sub> >100 мкМ)	
	Вібріндол	—	Антипроліферативна активність проти НТ-29 та HL-6 (IC <sub>50</sub> >100 мкМ)	
<i>Micromonospora</i> sp. UR 56+ <i>Actinokineospora</i> sp. EG49	Диметилфеназин-1,6-дикарбоксилат	Інгібування росту (%) за концентрації 15 мкМ: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC9144 — 57,2; <i>Bacillus subtilis</i> ATCC29212 — 19,6; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853 — 23,4; <i>Escherichia coli</i> ATCC25922 — 9,9	Цитотоксична активність проти ракових клітин людини ліній W138, HCT116, HePG-2, MCF7 (IC <sub>50</sub> 63...100 мкМ)	S Hifnawy та ін., 2020
	Фенкоміцин	Інгібування росту (%) за концентрації 15 мкМ: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC9144 — 68,9; <i>Bacillus subtilis</i> ATCC29212 — 32,1; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853 — 23,3; <i>Escherichia coli</i> ATCC25922 — 11,1	Цитотоксична активність проти ракових клітин людини ліній W138, HCT116, HePG-2, MCF7 (IC <sub>50</sub> 61...82 мкМ)	
	Туберміцин	Інгібування росту (%) за концентрації 15 мкМ: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC9144 — 0; <i>Bacillus subtilis</i> ATCC29212 — 1,7; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853 — 94,2; <i>Escherichia coli</i> ATCC25922 — 24,3	Цитотоксична активність проти ракових клітин людини ліній W138, HCT116, HePG-2, MCF7 (IC <sub>50</sub> 51...100 мкМ)	
	N-(2-гідроксифеніл)-ацетамід	Інгібування росту тест-культур за концентрації 15 мкМ практично відсутнє (0—4%)	Цитотоксична активність проти ракових клітин людини ліній W138, HCT116, HePG-2, MCF7 (IC <sub>50</sub> 10...36 мкМ)	

	п-анізамід	Інгібування росту (%) за концентрації 15 мкМ: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC9144 — 53,2; <i>Bacillus subtilis</i> ATCC29212 — 42,2; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853 — 70,2; <i>Escherichia coli</i> ATCC25922 — 19,3	Цитотоксична активність проти ракових клітин людини ліній WI38, HCT116, HePG-2, MCF7 (IC <sub>50</sub> >100 мкМ)	
Актинобактерії — мікроміцети				
<i>Streptomyces fradiae</i> 007+ <i>Penicillium</i> sp. WC-29-5	Ароматичний полікетид (9R,14S)-епокси-11-дезоксифунікон	—	Цитотоксична активність проти пухлинних клітин H1975 (IC <sub>50</sub> 3,97 мкМ)	Wang та ін., 2014
	Ароматичний полікетид (9S,14R)-епокси-11-дезоксифунікон	—	Цитотоксична активність проти пухлинних клітин HL-60 та H1975 (IC <sub>50</sub> 3,73 та 5,73 мкМ відповідно)	
<i>Streptomyces rochei</i> MB037+ <i>Rhinocladiella similis</i> 35	Борелідин J (жирна кислота)	МІК щодо метицилінрезистентного <i>Staphylococcus aureus</i> (номер штаму не вказано) 0,195 мкг/мл	—	Yu та ін., 2019
	Борелідин К (жирна кислота)	МІК щодо метицилінрезистентного <i>Staphylococcus aureus</i> (номер штаму не вказано) 1,563 мкг/мл	—	
<i>Streptomyces leeuwenhoekii</i> C58+ <i>Aspergillus fumigatus</i> MR2012	Пенталенова кислота	—	—	Wakefield, Hassan, Jaspars, Ebel, & Rateb, 2017

Примітка: «—» — дані не наведено.

Зазначимо, що більшість з утворюваних у результаті комбінованого культивування сполук (1,6-дигідрокси-фенозин, диметилфеназин-1,6-дикарбоксилат, фенкоміцин, туберміцин, п-анізамід) проявляли як антимікробну, так і цитотоксичну активність, деякі (сахаромоноспорин А, конволютамідин F, (9R,14S)-епокси-11-

дезоксифунікон) — тільки цитотоксичну, деякі (борелідини J і K) — тільки антимікробну (див. табл. 1).

У статтях (Wakefield, Hassan, Jaspars, Ebel, & Rateb, 2017; Pan та ін., 2021) дослідники не визначали біологічну активність аміколапептинів А-С та пенталенової кислоти, що ставить під сумнів практичне значення нових синтезованих сполук.

У працях (Wang та ін., 2014; El-Hawary та ін., 2018; Shin та ін., 2018; Alhadrami та ін., 2021) не перевіряли антимікробну активність утворених нових метаболітів, проте більшість із них характеризувалася помірною або значною цитотоксичною/антипроліферативною/антималарійною активністю, що робить їх потенційними компонентами лікарських засобів для лікування онкологічних та інших серйозних захворювань людини у майбутньому. Алкалоїду індокарбозолу BE-13793C (Maglangit та ін., 2020) не властива антимікробна активність, цитотоксична активність проти нормальних клітин і трипаносомальна активність, проте він характеризується високою антипроліферативною активністю щодо клітин аденокарциноми, тому його можна розглядати як потенційний компонент нових лікарських засобів для лікування цього захворювання.

Дослідники (Yu та ін., 2019) встановили, що синтезовані борелідини J, K характеризувались високою антибактеріальною активністю проти метицилінрезистентного *Staphylococcus aureus* (номер штаму не вказано), що надає можливість їх використовувати як альтернативу антибіотику метициліну.

Успішний результат комбінованого культивування мікроорганізмів залежить від способу підготовки інокуляту кожної з монокультур, співвідношення посівного матеріалу і послідовності його внесення.

Так, у праці (Shin та ін., 2018) встановлено, що співвідношення інокуляту *Streptomyces* sp. JB5 та *Bacillus* sp. GN1 впливало на концентрацію синтезованого дентигеруміцину E. У разі співвідношення посівного матеріалу монокультур 10:1 досягався максимальний рівень синтезу цільового продукту.

Wakefield із співавт. (Wakefield, Hassan, Jaspars, Ebel, & Rateb, 2017) показали, що конкурентний мікроорганізм (мікроміцет *A. fumigatus* MR2012) росте повільніше, ніж продуцент (актинобактерія *S. leeuwenhoekii* C58), тому спочатку у середовище для спільного культивування вносили інокулят штаму MR2012 і тільки через дві доби — штаму-продуцента C58.

У праці (Alhadrami та ін., 2021) показано, що посівний матеріал *Rhodococcus* sp. UR59 було отримано на середовищі M1, тоді як одержання інокуляту *A. sphaerosporiae* EG49 та біосинтезу ангуциклінів E, H, G, тетрагулолу, антрахінону, капіластерхінону В використовували середовище ISP2. У статті (Pan та ін., 2021) вирощування інокуляту *Amycolatopsis* sp. 26-4 та *T. pulmonis* TP-B0596 здійснювали в середовищі ISP2, а спільне культивування, в результаті якого спостерігали синтез аміколапептинів А-С, — у середовищі ISP3. На нашу думку, вибір різних середовищ для одержання посівного матеріалу і комбінованого культивування мікроорганізмів суттєво ускладнює масштабування процесу на промислове ферментаційне обладнання.

Зазначимо, що більшість авторів не досліджували можливі механізми конкуренції між мікроорганізмами, що лежать в основі синтезу нових, не характерних для монокультур, метаболітів. Ми вважаємо, що дослідження механізмів взаємо-

дії при спільному культивуванні актинобактерій з іншими мікроорганізмами є актуальним, тому що їх розуміння допоможе оптимізувати виробничі процеси біосинтезу практично важливих метаболітів.

У літературі є поодинокі повідомлення про те, що актинобактерії можуть бути конкурентними мікроорганізмами або індукторами синтезу мікроміцетами метаболітів, не характерних для монокультур (Wakefield, Hassan, Jaspars, Ebel, & Rateb, 2017; Stroe та ін., 2020), причому як індуктори використовують не тільки живі клітини актинобактерій, а й відповідний супернатант (Stroe та ін., 2020).

У статті (Stroe та ін., 2020) зазначається, що результатом спільного вирощування мікроміцета *A. fumigatus* ATCC 46645 (продуцент) з актинобактерією *Streptomyces rapamycinicus* (номер штаму не вказано) був синтез фумігерміну, якому притаманна антимікробна активність, проте показники цієї активності не наведено. Комбіноване культивування *A. fumigatus* MR2012 з *S. leeuwenhoekii* C34 супроводжувалося утворенням нових метаболітів (лютерід D, псевротін G, терезін D та метилпсевротін A), біологічну активність яких не досліджували (Wakefield, Hassan, Jaspars, Ebel, & Rateb, 2017).

Загалом, технологія спільного культивування актинобактерій з іншими мікроорганізмами для отримання нових метаболітів є доволі перспективною для практичного застосування, проте потребує більш детального вивчення механізмів конкуренції і регуляції біосинтезу.

**Підвищення синтезу метаболітів як результат спільного культивування актинобактерій з актинобактеріями та мікроміцетами.** У літературі нам вдалося знайти приклади спільного культивування актинобактерій роду *Streptomyces* з конкурентними мікроміцетами або актинобактеріями, які впливали на концентрацію синтезованих метаболітів (Nguyen, Kitani, Shimma, & Nihira 2018; Yu та ін., 2019; Boruta, & Ścigaczewska, 2021a, Boruta, Ścigaczewska, & Bizukojć, 2021b; Boruta, Ścigaczewska, Ruda, & Bizukojć, 2023) (табл. 2).

**Таблиця 2. Спільне культивування актинобактерій з іншими мікроорганізмами: вплив на синтез метаболітів**

Мікроорганізми	Метаболіти	Концентрація метаболітів		Література
		монокультура	співкультура	
Актинобактерії — мікроміцети				
<i>Streptomyces rimosus</i> ATCC 10970+ <i>Aspergillus terreus</i> ATCC 20542	Антибіотик окситетрациклін	20 мг/л	16 мг/л	Boruta, Ścigaczewska, & Bizukojć, 2021b
<i>Streptomyces rochei</i> MB037+ <i>Rhinochladella similis</i> 35	7-метокси-2,3-диметил-хромон-4-он	Концентрація суттєво підвищилась*	—	Yu та ін., 2019
<i>Streptomyces rimosus</i> ATCC 10970+ <i>Penicillium rubens</i> ATCC 28089	Римочидин В	Концентрація суттєво підвищилась*	—	Boruta, Ścigaczewska, Ruda, & Bizukojć, 2023
	2-метилгіоцис-зеатин	Концентрація суттєво підвищилась*	—	

<i>Streptomyces leeuwenhoekii</i> C58+ <i>Aspergillus fumigatus</i> MR2012	Чаксапегтин	Підвищення концентрації у два рази	—	Wakefield, Hassan, Jaspars, Ebel, & Rateb, 2017
	Нокардамін	Підвищення концентрації у два рази	—	
<i>Streptomyces rimosus</i> ATCC 10970 + <i>Mucor racemosus</i> ATCC 7924	Антибіотик окситетрациклін	~ 0,9 мг/л	3,5 мг/л	Boruta, & Ścigaczewska, 2021a
Актинобактерії — актинобактерії				
<i>Streptomyces rimosus</i> ATCC 10970+ <i>Streptomyces noursei</i> ATCC 10970	Антибіотик окситетрациклін	3,5 мг/л	10,3 мг/л	Boruta, & Ścigaczewska, 2021a
<i>Streptomyces avermitilis aco</i> + <i>Streptomyces albus</i> J1074 або <i>Streptomyces albus</i> <i>Laço</i>	Похідні авермектину	Підвищення концентрації порівняно з монокультурою <i>Streptomyces avermitilis aco</i> *	—	Nguyen, Kitani, Shimma, & Nihira, 2018

**Примітка:** «—» — інформацію не наведено; \* — висновок про підвищення синтезу зроблено за величиною піків на хроматограмах.

У статтях (Boruta, & Ścigaczewska, 2021a; Boruta, Ścigaczewska, & Bizukoјć, 2021b) досліджували синтез окситетрацикліну штамом актинобактерій *S. rimosus* ATCC 10970 під час спільного культивування з мікроміцетами *M. racemosus* ATCC 7924, *A. terreus* ATCC 20542 і актинобактеріями *S. noursei* ATCC 10970. Підвищення синтезу цього антибіотика у 3—4 рази спостерігали у разі використання як конкурентних мікроорганізмів *M. racemosus* ATCC 7924 і *S. noursei* ATCC 10970 (див. табл. 2). У процесі співкультивування *S. rimosus* ATCC 10970 з *A. terreus* ATCC 20542 концентрація окситетрацикліну дещо знижувалася порівняно з показниками для монокультури (16 і 20 мг/л відповідно). Зазначимо, що автори праць (Boruta, & Ścigaczewska, 2021a; Boruta, Ścigaczewska, & Bizukoјć, 2021b) не досліджували можливі механізми регуляції синтезу антибіотика за наявності різних конкурентних мікроорганізмів. Ці ж автори у подальших дослідженнях (Boruta, Ścigaczewska, Ruda, & Bizukoјć, 2023) ще не встановили механізми конкуренції і планують вивчати це питання у майбутньому.

У 2024 р. було опубліковано ще одну роботу колективу авторів (Boruta, Foruś, Pawlikowska, Englart, & Bizukoјć, 2024), в якій встановлено, що концентрація окситетрацикліну у співкультурі *S. rimosus* ATCC 10970 з *A. terreus* ATCC 20542 підвищувалася порівняно з такою для штаму ATCC 10970 тільки при початковому значенні рН середовища 5,9. У цьому ж році ці ж дослідники (Boruta, Englart, Foruś, & Pawlikowska, 2024) показали, що спектр метаболітів, синтезованих під час спільного культивування *S. rimosus* ATCC 10970 з *A. terreus* ATCC 20542, залежав

від співвідношення інокуляту монокультур. Так, підвищення синтезу окситетрацикліну у співкультурі спостерігали лише за співвідношення посівного матеріалу актинобактерій і мікроміцетів  $(19,0—19,5):(0,5—1,0)$  відповідно.

Дані, наведені у табл. 2, свідчать про те, що концентрація окситетрацикліну, синтезована монокультурою *S. rimosus* ATCC 10970, була різною і становила від 0,9—3,5 (Boruta, & Ścigaczewska, 2021a) до 20 мг/л (Boruta, Ścigaczewska, & Bizukojć, 2021b). Автори пояснюють такі результати використанням для вирощування штаму ATCC 10970 поживних середовищ різного складу.

Nguyen зі співавт. (Nguyen, Kitani, Shimma, & Nihira, 2018) встановили, що спільне культивування продуцента авермектинів *S. avermitilis aco* з генноінженерним штамом *Streptomyces albus Daco* супроводжувалося підвищенням концентрації синтезованих похідних авермектину. Автори стверджують, що механізм регуляції авермектинів полягає у синтезі *S. albus Daco* стрептоміцетних гормонів бутенолідного типу, тобто має місце вплив молекулярних сполук конкурентного мікроорганізму.

У праці (Boruta, Ścigaczewska, Ruda, & Bizukojć, 2023) показано, що результатом спільного культивування *S. rimosus* ATCC 10970 з *P. rubens* ATCC 28089 стало підвищення синтезу як актинобактеріальних (римоцидин В, 2-метилтіо-цис-зеактин), так і грибних (хризогін, бензилпеніцилова кислота, преаустиноїд D) метаболітів.

Wakefield із співавт. (Wakefield, Hassan, Jaspars, Ebel, & Rateb, 2017) встановили, що під час культивування *S. leeuwenhoekii* C58 з *A. fumigatus* MR2012 концентрація актинобактеріальних метаболітів чапсапептину та нокардаміну підвищувалася у два рази, також утворювалися метаболіти, не характерні для монокультур.

Зазначимо, що автори праць (Nguyen, Kitani, Shimma, & Nihira 2018; Yu та ін., 2019; Boruta, Ścigaczewska, Ruda, & Bizukojć, 2023) не визначали концентрацію вторинних метаболітів у г/л (мг/л), а робили висновки про підвищення їх синтезу за величиною піків на хроматограмах, що не дає змоги коректно оцінити результат спільного культивування актинобактерій з іншими мікроорганізмами і порівняти показники синтезу з такими для інших продуцентів цих сполук.

Крім того, лише в одній статті (Yu та ін., 2019) дослідники аналізували біологічні властивості синтезованого під час спільного вирощування метаболіту. Так, 7-метокси-2,3-диметилхромон-4-он характеризувався антимікробною активністю щодо *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus* з показником мінімальних інгібуючих концентрацій 25 мкг/мл.

Аналіз статей, наведених у табл. 2, свідчить про те, що дослідження спільного культивування актинобактерій з іншими мікроорганізмами з метою впливу на концентрацію вторинних метаболітів актинобактерій роду *Streptomyces* потребує доопрацювання, оскільки у працях (Nguyen, Kitani, Shimma, & Nihira, 2018; Boruta, & Ścigaczewska, 2021a) автори використовували три різні поживні середовища для одержання інокуляту монокультур і біосинтезу або агаризовані середовища для одержання посівного матеріалу. Крім того, тільки у (Boruta, Ścigaczewska, & Bizukojć, 2021b, Boruta, Ścigaczewska, Ruda, & Bizukojć, 2023) спільне вирощування актинобактерій з іншими мікроорганізмами здійснювали не в колбах на качалках, а в біореакторах, що є першим кроком до масштабування технології на промислове обладнання.

Привертає увагу і той факт, що наведена у табл. 2 концентрація синтезованих метаболітів є доволі невисокою: концентрація окситетрацикліну становить всього 10—20 мг/л, тоді як з літератури відомо, що генно-інженерні штами *S. rimosus* синтезують 2,7—4,7 г/л цього антибіотика (Pšeničnik та ін., 2024), а деякі — до 5—6 г/л (Pikl та ін., 2021).

### Висновки

Отже, стратегія спільного культивування актинобактерій з іншими мікроорганізмами, за якої продуцент цільового продукту вирощується разом із конкурентними мікроорганізмами, є багатообіцяючим напрямом щодо підвищення активності вже існуючих та/або пошуку нових сполук, не притаманних монокультурам, метаболітів з антимікробною та цитотоксичною дією. Крім цього, метод комбінованого культивування перевершує інші підходи з точки зору вартості та простоти, оскільки не потребує дорогих реагентів чи методів маніпулювання генами. Проте для розуміння складної регуляції вторинного метаболізму необхідним є встановлення всіх механізмів, що забезпечують утворення нових (або підвищення синтезу уже відомих) метаболітів під час спільного культивування мікроорганізмів.

### Література

Пирог, Т. П., Вороненко, А. А. (2023). Шляхи підвищення ефективності технологій синтезу мікробних екзополісахаридів. Частина 1. Встановлення оптимальних умов біосинтезу. *Наукові праці НУХТ*, 29(1), 7—24. <https://doi.org/10.24263/2225-2924-2023-29-1-3>.

Пирог, Т. П., Парфенюк, М. А. (2023). Вплив конкурентних еукаріотичних мікроорганізмів на синтез та властивості вторинних метаболітів. Частина 2. Дріжджі як регулятори синтезу та біологічної активності вторинних метаболітів. *Наукові праці НУХТ*, 29(4), 50—60. <https://doi.org/10.24263/2225-2924-2023-29-4-6>.

Abdella, B., Abdella, M., ElSharif, H. A., ElAhwany, A. M. D., El-Sersy, N. A., Ghozlan, H. A., & Sabry, S. A. (2023). Identification of potent anti-*Candida* metabolites produced by the soft coral associated *Streptomyces* sp. HC14 using chemoinformatics. *Scientific Reports*, 13(1), 12564. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-39568-7>.

Alhadrami, H. A., Thissera, B., Hassan, M. H. A., Behery, F. A., Ngwa, C. J., Hassan, H. M., ..., & Rateb, M. E. (2021). Bio-guided isolation of antimalarial metabolites from the coculture of two red sea sponge-derived *Actinokineospora* and *Rhodococcus* spp. *Marine Drugs*, 19(2), 109. <https://doi.org/10.3390/md19020109>.

Almalki, M. A. (2020). In-vitro screening and biosynthesis of secondary metabolites from a new *Streptomyces* sp. SA1 from a marine environment. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 21(13), 1333—1341. <https://doi.org/10.2174/1389201021666200622120850>.

Boruta, T., & Ścigaczewska, A. (2021a). Enhanced oxytetracycline production by *Streptomyces rimosus* in submerged co-cultures with *Streptomyces noursei*. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(19), 6036. <https://doi.org/10.3390/molecules26196036>.

Boruta, T., Englart, G., Foryś, M., & Pawlikowska W. (2024). The repertoire and levels of secondary metabolites in microbial cocultures depend on the inoculation ratio: a case study involving *Aspergillus terreus* and *Streptomyces rimosus*. *Biotechnology Letters*, 46(4), 601—614. <https://doi.org/10.1007/s10529-024-03500-4>.

Boruta, T., Foryś, M., Pawlikowska, W., Englart, G., & Bizukojć, M. (2024). Initial pH determines the morphological characteristics and secondary metabolite production in *Aspergillus terreus* and *Streptomyces rimosus* cocultures. *Archives of Microbiology*, 206(12), 452. <https://doi.org/10.1007/s00203-024-04186-y>.

Boruta, T., Ścigaczewska, A., & Bizukojć, M. (2021b). «Microbial wars» in a stirred tank bioreactor: investigating the co-cultures of *Streptomyces rimosus* and *Aspergillus terreus*, filamentous microorganisms equipped with a rich arsenal of secondary metabolites. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 713639. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.713639>.

Boruta, T., Ścigaczewska, A., Ruda, A., & Bizukojć, M. (2023). Effects of the coculture initiation method on the production of secondary metabolites in bioreactor cocultures of *Penicillium rubens* and *Streptomyces rimosus*. *Molecules*, 28(16), 6044. <https://doi.org/10.3390/molecules28166044>.

Dashti, Y., Grkovic, T., Abdelmohsen, U. R., Hentschel, U., & Quinn, R. J. (2014). Production of induced secondary metabolites by a co-culture of sponge-associated actinomycetes, *Actinokineospora* sp. EG49 and *Nocardioopsis* sp. RV163. *Marine Drugs*, 12(5), 3046—3059. <https://doi.org/10.3390/md12053046>.

Dhagat, S., & Jujjavarapu, S. E. (2021). Simulated annealing and artificial neural network as optimization tools to enhance yields of bioemulsifier and exopolysaccharides by thermophilic *Brevibacillus borstelensis*. *The Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105499. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105499>.

Ding, Q., & Ye, C. (2023). Microbial cell factories based on filamentous bacteria, yeasts, and fungi. *Microbial Cell Factories*, 22(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02025-1>.

El-Hawary, S. S., Sayed, A. M., Mohammed, R., Khanfar, M. A., Rateb, M. E., Mohammed, T. A., ..., & Abdelmohsen, U. R. (2018). New Pim-1 kinase inhibitor from the co-culture of two sponge-associated *Actinomycetes*. *Frontiers in Chemistry*, 6, 538. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00538>.

Geethu, M., Chandrashekar, H. R., & Divyashree, M. S. (2021). Statistical optimisation of polyhydroxyalkanoate production in *Bacillus endophyticus* using sucrose as sole source of carbon. *Archives of Microbiology*, 203(10), 5993—6005. <https://doi.org/10.1007/s00203-021-02554-6>.

Hamed, A. A., Ghareeb, M. A., Kelany, A. K., Abdelraof, M., Kabary, H. A., Soliman, N. R., & Elawady, M. E. (2024). Induction of antimicrobial, antioxidant metabolites production by co-cultivation of two red-sea-sponge-associated *Aspergillus* sp. CO<sub>2</sub> and *Bacillus* sp. COBZ21. *BMC Biotechnology*, 24(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s12896-024-00830-z>.

Jiang, Y., Matsumoto, T., Kuranaga, T., Lu, S., Wang, W., Onaka, H., & Kakeya, H. (2021). Longicatenamides A-D, two diastereomeric pairs of cyclic hexapeptides produced by combined-culture of *Streptomyces* sp. KUSC\_F05 and *Tsukamurella pulmonis* TP-B0596. *Journal of Antibiotics* (Tokyo), 74(5), 307—316. <https://doi.org/10.1038/s41429-020-00400-3>.

Jose, P. A., Maharshi, A., & Jha, B. (2021). Actinobacteria in natural products research: progress and prospects. *Microbiological Research*, 246, 126708. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126708>.

Lacey, H. J., & Rutledge, P. J. (2022). Recently discovered secondary metabolites from *Streptomyces* species. *Molecules*, 27(3), 887. <https://doi.org/10.3390/molecules27030887>.

Li, J., Zhang, L., Yao, G., Zhu, L., Lin, J., Wang, C., ..., & Mei, X. (2022). Synergistic effect of co-culture rhizosphere *Streptomyces*: a promising strategy to enhance antimicrobial activity and plant growth-promoting function. *Frontiers in Microbiology*, 13, 976484. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.976484>.

Liang, L., Wang, G., Haltli, B., Marchbank, D. H., Stryhn, H., Correa, H., & Kerr, R. G. (2020). Metabolomic comparison and assessment of co-cultivation and a heat-killed inducer strategy in activation of cryptic biosynthetic pathways. *Journal of Natural Products*, 83(9), 2696—2705. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c00621>.

Maglangit, F., Fang, Q., Kyeremeh, K., Sternberg, J. M., Ebel, R., & Deng, H. A. (2020). A co-culturing approach enables discovery and biosynthesis of a bioactive indole alkaloid metabolite. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(2), 256. <https://doi.org/10.3390/molecules25020256>.

Maimone, N. M., de Oliveira, L. F. P., Santos, S. N., & de Lira, S. P. (2021). Elicitation of *Streptomyces lunalinharesii* secondary metabolism through co-cultivation with *Rhizoctonia solani*. *Microbiological Research*, 251, 126836. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126836>.

Nguyen, T. B., Kitani, S., Shimma, S., & Nihira, T. (2018). Butenolides from *Streptomyces albus* J1074 act as external signals to stimulate avermectin production in *Streptomyces avermitilis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(9), e02791—17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02791-17>.

Pan, C., Kuranaga, T., Cao, X., Suzuki, T., Dohmae, N., Shinzato, ..., & Kakeya, H. (2021). Amycolapeptins A and B, cyclic nonadepsipeptides produced by combined-culture of *Amycolatopsis* sp. and *Tsukamurella pulmonis*. *Journal of Organic Chemistry*, 86(2), 1843—1849. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.0c02660>.

Pikl, Š., Carrillo Rincón, A. F., Slemc, L., Goranovič, D., Avbelj, M., Gjuračić, K., ... & Magdevska V. (2021). Multiple copies of the oxytetracycline gene cluster in selected *Streptomyces rimosus* strains can provide significantly increased titers. *Microbial Cell Factories*, 20(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01522-5>.

Pirog, T. P., & Ivanov M. S. (2023). Microbial co-cultivation: discovery of novel secondary metabolites with different biological activities. *Biotechnology Acta*, 16(1), 21—39. <https://doi.org/10.15407/biotech.16.01.021>.

Pšeničnik, A., Slemc, L., Avbelj, M., Tome, M., Šala, M., Herron, P., ..., & Petković, H. (2024). Oxytetracycline hyper-production through targeted genome reduction of *Streptomyces rimosus*. *mSystems*, 9(5), e0025024. <https://doi.org/10.1128/msystems.00250-24>.

Ravagnan, G., & Schmid, J. (2024). Promising non-model microbial cell factories obtained by genome reduction. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 12, 1427248. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1427248>.

Sánchez-Suárez, J., Coy-Barrera, E., Villamil, L., & Díaz, L. (2020). *Streptomyces*-derived metabolites with potential photoprotective properties — a systematic literature review and meta-analysis on the reported chemodiversity. *Molecules*, 25(14), 3221. <https://doi.org/10.3390/molecules25143221>.

Selegato, D. M., & Castro-Gamboa, I. (2023). Enhancing chemical and biological diversity by co-cultivation. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1117559. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1117559>.

Sharma, R., Jamwal, V., Singh, V. P., Wazir, P., Awasthi, P., Singh, D., ..., & Chaubey, A. (2017). Revelation and cloning of valinomycin synthetase genes in *Streptomyces lavendulae* ACR-DA1 and their expression analysis under different fermentation and elicitation conditions. *Journal of Biotechnology*, 253, 40—47. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.05.008>.

S Hifnawy, M., Hassan, H. M., Mohammed, R., M Fouda, M., Sayed, A. M., A Hamed, A., ..., & Abdelmohsen, U. R. (2020). Induction of antibacterial metabolites by co-cultivation of two red-sea-sponge-associated *Actinomyces Micromonospora* sp. UR56 and *Actinokinespora* sp. EG49. *Marine Drugs*, 18(5), 243. <https://doi.org/10.3390/md18050243>.

Shin, D., Byun, W. S., Moon, K., Kwon, Y., Bae, M., Um, S., ..., & Oh, D. C. (2018). Coculture of marine *Streptomyces* sp. with *Bacillus* sp. produces a new piperazic acid-bearing cyclic peptide. *Frontiers in Chemistry*, 6, 418. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00498>.

Song, Z., Ma, Z., Bechthold, A., & Yu, X. (2020). Effects of addition of elicitors on rimocidin biosynthesis in *Streptomyces rimosus* M527. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, 4445—4455. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10565-4>.

Stroe, M. C., Netzker, T., Scherlach, K., Krüger, T., Hertweck, C., Valiante, V., & Brakhage, A. A. (2020). Targeted induction of a silent fungal gene cluster encoding the bacteria-specific germination inhibitor fumigermin. *eLife*, 9, e52541. <https://doi.org/10.7554/eLife.52541>.

Wakefield, J., Hassan, H. M., Jaspars, M., Ebel, R., & Rateb, M. E. (2017). Dual induction of new microbial secondary metabolites by fungal bacterial co-cultivation. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1284. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01284>.

Wang, K., Liu, N., Shang, F., Huang, J., Yan, B., Liu, M., & Huang, Y. (2021a). Activation of secondary metabolism in red soil-derived *Streptomyces* via co-culture with mycolic acid-containing bacteria. *Microorganisms*, 9(11), 2187. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112187>.

Wang, Y., Wang, L., Zhuang, Y., Kong, F., Zhang, C., & Zhu, W. (2014). Phenolic polyketides from the co-cultivation of marine-derived *Penicillium* sp. WC-29-5 and *Streptomyces fradiae* 007. *Marine Drugs*, 12(4), 2079—2088. <https://doi.org/10.3390/md12042079>.

Yu, M., Li, Y., Banakar, S. P., Liu, L., Shao, C., Li, Z., & Wang, C. (2019). New metabolites from the co-culture of marine-derived actinomycete *Streptomyces rochei* MB037 and fungus *Rhinochadiella similis* 35. *Frontiers in Microbiology*, 10, 915. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00915>.