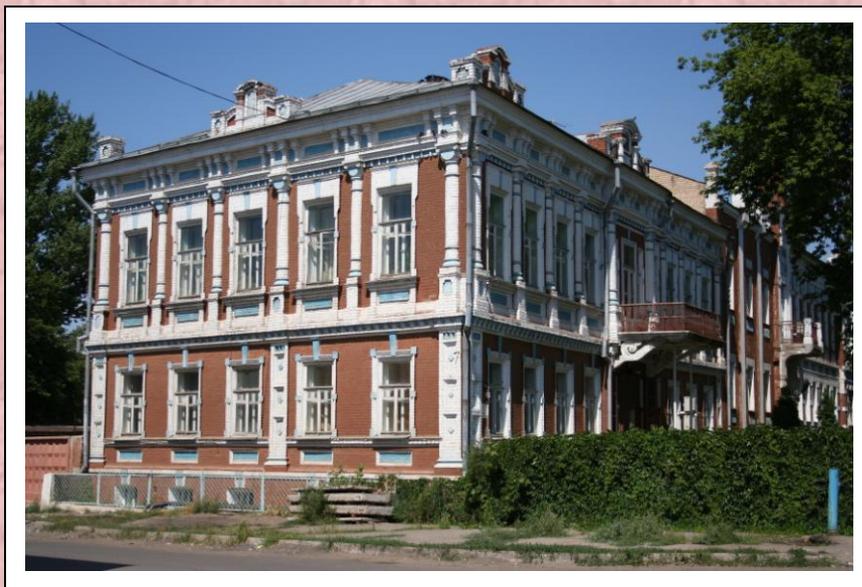


ISSN 2304-9081

Учредители:
Уральское отделение РАН
Оренбургский научный центр УрО РАН

Бюллетень
Оренбургского научного центра
УрО РАН
(электронный журнал)



2013 * № 1

On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

© А.В. Семенов, 2013

УДК 579.264

А.В. Семенов

АНТАГОНИЗМ КАК РЕЗУЛЬТАТ МЕЖМИКРОБНЫХ ОТНОШЕНИЙ

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, г. Оренбург, Россия

На примере микробного антагонизма обосновывается тезис, что свойства микроорганизмов в условиях сообщества – это результат межмикробных отношений.

Ключевые слова: экология микроорганизмов, межмикробные отношения, антагонизм

Semenov A.V.

ANTAGONISM AS A RESULT CROSS-SPECIES INTERACTION BETWEEN MICRO-ORGANISMS

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis UrB RAS, Orenburg, Russia

On the example of microbial antagonism author proves that the properties of microorganisms in community - is the result cross-species interaction between microorganisms.

Key words: microbial ecology; cross-species interaction; antagonism;

Антагонизм – один из основных типов симбиотических отношений между организмами, в результате которых один из участников взаимодействий (антагонист), получает селективное преимущество в борьбе за выживание за счет конкурентных свойств: продукции антибиотических веществ, высоких ростовых и адаптационных возможностей.

Антагонистические свойства бактерий является одним из механизмов формирования и функционирования микробиоценоза [2].

В природе бактерии обитают не обособленно, а в составе сообщества, поэтому свойства бактерий, следовательно, и функции в присутствии других микроорганизмов, могут отличаться от наблюдаемых в чистых культурах, что диктует необходимость исследования свойств бактерий в условиях межмикробных отношений, что в данной работе продемонстрировано на примере микробного антагонизма.

Традиционно антагонистическая активность рассматривается как способность одного вида микроба подавлять развитие или задерживать рост других микроорганизмов [5]. Вместе с тем, совместное культивирование бактерий является важным условием проявления антагонизма и продукции антимикробных веществ [5]. Например, известно, что методы исследования антагонизма, основанные на сокультивировании штаммов, выявляют признак чаще и в большей

выраженности [13, 25]. Основной причиной такого явления является наложение «эффектов *in vivo*», которые нельзя обнаружить при отдельном культивировании, в частности – более быстрое истощение антагонистом питательных ресурсов [25] и «метаболический пресс», связанный с негативным действием стационарной культуры антагониста на метаболизм тест-штамма [29]. Г. Шиллер в 1914 г., а Н. Макаровская в 1966 г. (по [5]) высказывали предположение о зависимости проявлений антагонизма от чувствительной тест-культуры. Но только в 1994 г. S.F. Varefoot et al. [14] при исследовании бактериоциногении *Lactobacillus acidophilus* в отношении *L. delbrueckii*, были получены первые доказательства этого положения. Впоследствии данная зависимость была установлена при изучении взаимоотношений между антагонистом *Carnobacterium divergens* и чувствительным *Carnobacterium piscicola* [30], *L. plantarum* NC8 и чувствительными *L. fermentum*, *L. hilgardii*, *L. sake*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Pediococcus pentosaceus* [23], бактериями-симбионтами водорослей и чувствительными *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *E. coli* [24], *Planococcus sp.* и чувствительным *Serratia licuefaciens* [15], цианобактерией, *Streptomyces sp* и чувствительными грибами [19, 26].

Стимулирующее антагонизм действие чувствительных культур было связано с их термостабильными, низкомолекулярными веществами неопределённой природы [24, 25, 30], клеточными стенками [19, 26]. S.F. Varefoot et al. [14] удалось выделить и охарактеризовать «пептид индукции».

Наши исследования антагонизма бактерий-симбионтов человека выявили аналогичную закономерность – появление антагонистической активности у микроорганизмов происходило, в основном, после их контакта с чувствительным тест-штаммом бактерий. Исследование механизма данного явления позволило установить [7, 8], что клеточные компоненты чувствительных бактериальных культур (метаболиты и фрагменты клеточных стенок), стимулируют у штамма-антагониста продукцию антимикробных веществ, в частности литических ферментов (рис. 1).

Однако в природных микробиоценозах и сложных искусственных сообществах антагонисты подвергаются влиянию ассоциативных микроорганизмов, отличных от чувствительных культур, что также может приводить к изменению выраженности признака. В качестве примера можно привести коммерческие поликомпонентные пробиотики – «Окарин» [6], «Бификол», «Бифиформ», «Ли-

некс» [1], смеси бактерий *L. plantarum* и *L. fermentum* [9] и т.д., в которых смесь бактерий, обладает большей антагонистической активностью по сравнению с чистыми культурами. Причем биопрепарат может представлять собой как механическую смесь штаммов-антагонистов, так и выращенную совместно смешанную культуру.

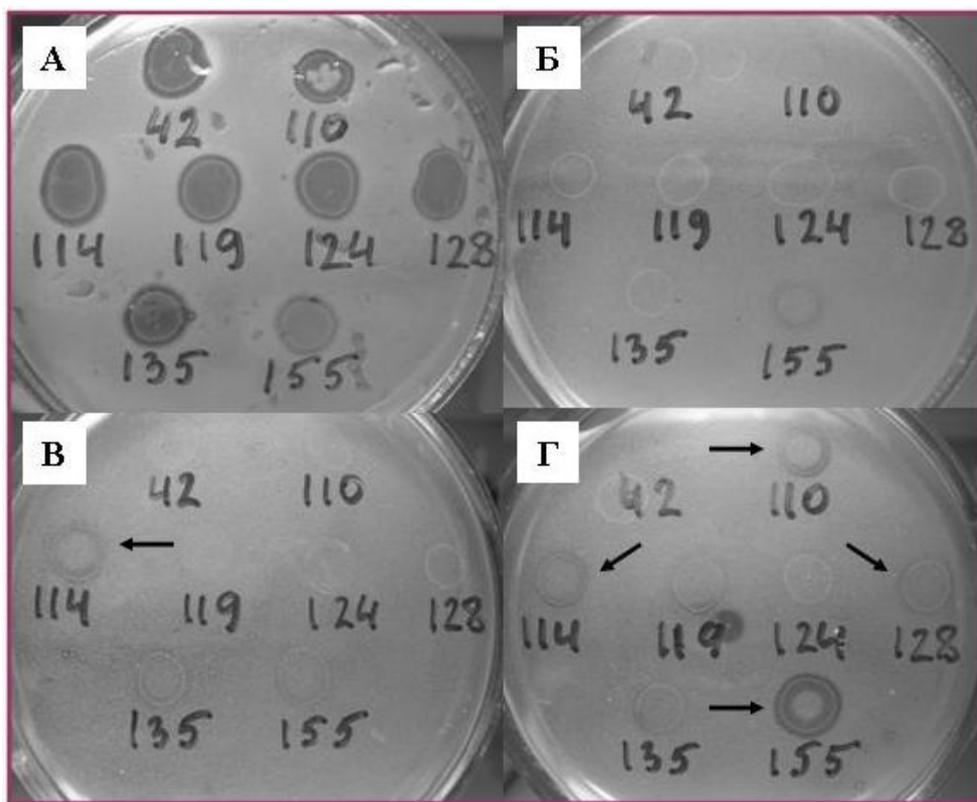


Рис. 1. Антагонистическая активность штаммов *E. faecalis*, выросших в различных условиях – при контакте с тест-штаммом *M. luteus* (А), без контакта с ним: на чистом агаре (Б), при росте в присутствии клеточных компонентов тест-штамма - с метаболитами (В) и пептидогликаном *M. luteus* (Г). Стрелками указано появление или усиление зон задержки роста тест-штамма *M. luteus*.

Описано наличие аналогичных индуцирующих антагонизм эффектов при взаимодействии в микроорганизмами псевдомонад, у которых синтез антимикробных веществ является кворум сенсинг-зависимым и запускается ацилгомосеринлактонами (рис. 2, по [18]).

Исследование близкородственного антагонизма *L. acidophilus* показало, что микробное влияние на антагонизм у лактобацилл не ограничивается действием чувствительной культуры бактерий (табл. 1, по [14]). Так, усиление антагонистической активности *L. acidophilus* в отношении *L. delbrueckii* наблюдали под действием нечувствительных *L. casei*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L.*

viridescens, *S. pyogenes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Bacillus cereus* и *Listeria monocytogenes*.

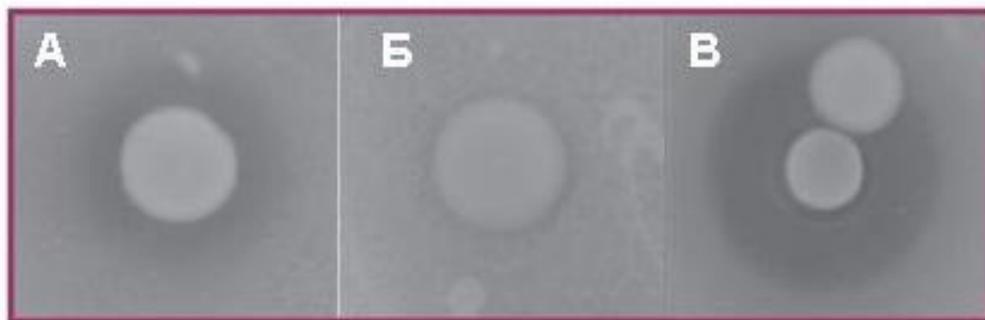


Рис. 2. Антагонистическая активность штамма *Pseudomonas fluorescens* CHA0 по отношению к *Bacillus subtilis*: в контроле (А) и под влиянием *P. corrugate* LMG2172 (Б).

Б – указано отсутствие антагонизма у *P. corrugate* LMG2172.

Таблица 1. Влияние микроорганизмов на антагонизм *L. acidophilus* N2 в отношении *L. delbrueckii* (по [14])

| Вид микроорганизма | Индущирующая активность | Чувствительность к индуцируемым антимикробным веществам |
|--|-------------------------|---|
| <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 4797 | + | + |
| <i>L. helveticus</i> ATCC 15009 | + | + |
| <i>L. casei</i> ATCC 393 | + | - |
| <i>L. fennentum</i> NCDO 1750 | + | - |
| <i>L. plantarum</i> NCDO 1752 | + | - |
| <i>L. acidophilus</i> VPI 6032 | + | - |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 | + | - |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | + | - |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 | + | - |
| <i>Bacillus cereus</i> ATCC 232 | + | - |
| <i>Listeria monocytogenes</i> V-6f | + | - |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | - | - |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048 | - | - |
| <i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100 | - | - |
| <i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022 | - | - |
| <i>Citrobacter freundii</i> ATCC 3624 | - | - |

При исследовании микробной регуляции антагонистической активности лактобацилл нами получены сходные результаты (рис. 3, по [11]). При этом обнаружено, что влияние бактерий на антагонизм не ограничивается только индифферентным и стимулирующим действием, а может быть ингибирующим.

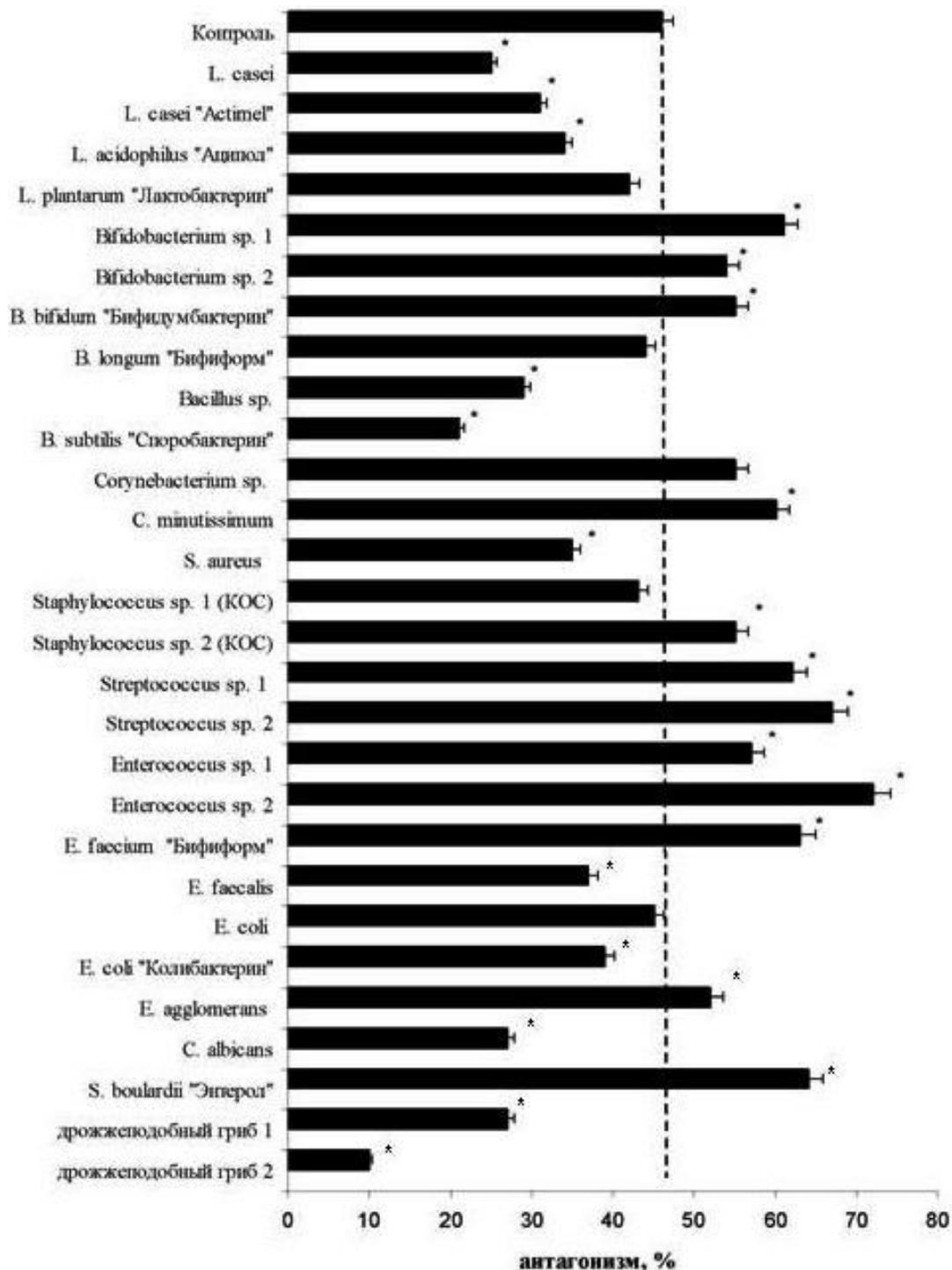


Рис. 3. Влияние микроорганизмов различных таксонов на антагонистическую активность *Lactobacillus* sp. в отношении *Staphylococcus aureus*. ATCC 6538P. * – $p < 0,05$, по сравнению с контролем антагонизма.

Из краткого анализа представленных данных следует, что факторы, механизмы и эффекты микробной регуляции антагонистической активности бактерий могут быть разнообразными. К усилению антагонистических свойств культуры способны приводить как условия улучшения её метаболических и ростовых характеристик [3-5], так и действие специфических индукторов [12, 14, 16, 22, 23]. Ингибирование антагонистической активности может быть связано с инактивацией бактерией-регулятором антимикробных факторов [10], с негативным действием на активность генов продуктов обмена, например формиата [21], а также с отрицательным влиянием на метаболизм антагониста бактерии-регулятора, например за счет её антимикробных веществ. В случае микробной регуляции внутривидового антагонизма, обусловленного, вероятно, бактериоцинами, ингибирование признака можно объяснить интерферирующим действием фосфолипидов мембран [20] или действием протеаз бактерий-регуляторов, разрушающих антибиотики [32] или индукторы их синтеза [27, 28]. Повышение близкородственного антагонизма под действием метаболитов микроорганизмов может быть связано с перекрестным действием кворум молекул, опосредующих проявление бактериоциногенности [14, 17, 23, 31].

Таким образом, на примере микробного антагонизма показано, что свойства микроорганизмов в условиях сообщества – это результат межмикробных взаимоотношений.

(Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 13-04-97048)

ЛИТЕРАТУРА.

1. Бондаренко В.М., Воробьев А.А. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией. Журн. микробиол. 2004. 1: 36-43.
2. Бухарин О.В., Вальшев А.В., Гильмутдинова Ф.Г. и др. Экология микроорганизмов человека. Екатеринбург: УрО РАН, 2006. 546 с.
3. Вахитов Т.Я., Петров Л.Н., Бондаренко В.М. Концепция пробиотического препарата, содержащего оригинальные микробные метаболиты. Журн. микробиол. 2005. 5: 108-114.
4. Вахитов Т.Я. Регуляторные функции бактериальных экзометаболитов на внутривидовом и межвидовых уровнях. Дисс.... докт. биол. наук. СПб., 2007. 42 с.
5. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М.: Наука, 2004. 503 с.
6. Карапетян О.Г., Кульчицкая М.А. Способ получения пробиотика на основе кишечной палочки *Escherichia coli* Г-35-1/59, *Escherichia coli* Г-35-2/60, *Escherichia coli* Г-35-3/61 и фекального энтерококка *Enterococcus faecalis* Г-35-4/62. Патент на изобретение № 229221. Бюлл. 2007. №3.
7. Семенов А.В. Характеристика антагонистической активности бактерий при межмикробных взаимодействиях. Дисс.... канд. биол. наук. Оренбург, 2009. 132 с.
8. Семенов А.В. Исследование роли чувствительных тест-культур в проявлении антагонизма бактериями-симбионтами человека. Саратовский научно-мед. журнал. 2011. 2: 441-445.
9. Соловьева И.В., Соколова К.Я., Ефимов Е.И., Иванова Т.П., Точилина А.Г., Белова И.В.

- Способ приготовления пробиотика. Патент на изобретение № 2280465. Бюлл. 2006. №21.
10. Сидоренко С.В., Тишков В.И. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам. Успехи биол. химии. 2004. 44: 263-306.
 11. Черкасов С.В., Семенов А.В. Микробная регуляция антагонистической активности лактобактерий. Сибирский мед. журнал. 2012. 2: 78-82.
 12. Черныш А.Ю. Антагонистическое действие пробиотических лактобактерий в отношении патогенных стрептококков различных серологических групп. Автореф. ...канд. мед. наук. СПб., 2008. 19 с.
 13. Усвяцов Б.Я. Бактериоциногенез стрептококков. Дисс....канд.мед.наук. Оренбург, 1967. 306 с.
 14. Barefoot S.F. et al. Identification and purification of a protein that induces production of the *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin lactacin B. *Appl. Environ. Microbiol.* 1994. 60(10): 3522-3528.
 15. Billaud A., Austin B. Inhibition on the fish pathogen *Serratia licuefaeciens* by an antibiotic producing isolate of *Planococcus* recovered from sea water. *J. Fish Diseases.* 1990. 13: 553-556.
 16. Bronneke V., Fiedler F. Production of bacteriolytic enzymes by *Streptomyces globisporus* regulated by exogenous bacterial cell walls. *Appl. Environ. Microbiol.* 1994. 60(3): 785-791.
 17. Brurberg M., Nes I., Eijsink V. Pheromone-induced production of antimicrobial peptides in *Lactobacillus*. *Mol. Microbiol.* 1997. 26: 347-360.
 18. Dubuis C., Haas D. Cross-Species GacA-Controlled Induction of Antibiosis in *Pseudomonads*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007. 73(21): 650-654.
 19. Fguira L., Smaoui S., Karray-Rebai I. et al. The antifungal activity of the terrestrial *Streptomyces* US80 strain is induced by heat-killed fungi. *Biotechnology Journal.* 2008. 3(3): 1058-1066.
 20. Henning S., Metz R. and Hammes W.P. New aspects for the application of nisin to food products based on its mode of action. *Int. J. Food Microbiol.* 1986. 3: 135-141.
 21. Kirkpatrick C., Maurer L., Oyelakin N. et al. Acetate and formate stress: opposite response in the proteome of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 2001. 183 (21): 6466-6477.
 22. Kleerebezem M., Quadri L., Kuipers O., de Vos W. Quorum sensing by peptide pheromones and two-component signal-transduction system in Gram-positive bacteria. *Mol. Microbiol.* 1997. 24: 895-904.
 23. Maldonado A., Jimenez-Diaz R., Ruiz-Barba J. Induction of plantaricin production in *Lactobacillus plantarum* NC8 after coculture with specific gram-positive bacteria is mediated by an autoinduction mechanism. *J. Bacteriol.* 2004. 186(5): 1556-1564.
 24. Mearns-Spragg A. Cross-species induction and encasement of antimicrobial activity produced by epibiotic bacteria from marine algae and invertebrates, after exposure to terrestrial bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.* 1998. 26: 142-146.
 25. Nakamura L., Hartman R. *Lactobacillus*-Yeast interrelationships. *J. Bacteriol.* 1960. 52: 42-48.
 26. Patterson G., Bolis C. Fungal cell wall polysaccharides elicit an antifungal secondary metabolite (phytoalexin) in the cyanobacterium *Scytonema ocellatum*. *J. Phycology.* 1997. 33(1): 54-60.
 27. Rasmussen T., Givskov M. Quorum sensing inhibitors: a bargain of effects *Microbiology.* 2006. 152: 895-904.
 28. Roche D. Communications blackout? Do N-acylhomoserine lactone-degrading enzymes have any role in quorum sensing? *Microbiology.* 2004. 150: 2023-2028.
 29. Schiermann D., Olson S. Antagonism by Gram-Negative Bacteria to Growth of *Yersinia enterocolitica* in Mixed Cultures. *Appl. Environ. Microbiol.* 1984. 48(3): 539-544.
 30. Sip A., Grajek W., Boyaval P. Enhancement of bacteriocin production by *Carnobacterium divergens* AS7 in the presence of a bacteriocin-sensitive strain *Carnobacterium piscicola*. *Int. J. Food Microbiol.* 1998. 42: 63-69.
 31. Sturme M., Francke C., Siezen R., de Vos W., Kleerebezem M. Making sense of quorum sensing in lactobacilli: a special focus on *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Microbiology.* 2007. 153: 3939-3947.
 32. Vandenberg P. Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial

growth. FEMS Microbiol. Rev. 1993. 12: 224-238.

Поступила 30.03.2013

(Контактная информация: Семенов Александр Васильевич - кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории по изучению механизмов формирования микробиоценозов человека Института клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН; 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11. тел/факс: (3532) 77-44-63, e-mail: lever3@yandex.ru).