

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 579.222.3
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-3-321-329>

Поступило в редакцию 30.03.2022
Received 30.03.2022

К. В. Кантор, И. А. Проскурнина, Н. В. Сверчкова, академик Э. И. Коломиец

Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

АНАЛИЗ АНТИМИКРОБНЫХ МЕТАБОЛИТОВ БАКТЕРИЙ *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* БИМ В-1125 – ОСНОВЫ БИОПРЕПАРАТА БАКТО-ХЕЛС

Аннотация. Выделены и охарактеризованы антимикробные метаболиты штамма бактерий *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1125 – основы пробиотического препарата для профилактики и лечения болезней рыб ценных видов. Установлена экстрацеллюлярная локализация антимикробных соединений; показана их устойчивость в диапазоне температур 50–100 °С и в диапазоне рН 2–10. С помощью тонкослойной хроматографии и жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии экспериментально доказана продукция штаммом метаболитов липопептидной природы, относящихся к семейству итурина и сурфактина (итурин А, итурин А4, изомеры итурина А6-А7, сурфактин А, сурфактин С, изомеры сурфактина В).

Ключевые слова: *Bacillus*, пробиотик, антимикробные метаболиты, липопептиды, сурфактин, итурин, тонкослойная хроматография, масс-спектрометрия

Для цитирования. Анализ антимикробных метаболитов бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В-1125 – основы биопрепарата Бакто-хелс / К. В. Кантор [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 3. – С. 321–329. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-3-321-329>

Karina V. Kantor, Irina A. Proskurnina, Natalia V. Sverchkova, Academician Emilia I. Kolomiets

Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

ANALYSIS OF ANTIMICROBIAL METABOLITES OF BACTERIA *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* BIM B-1125 – THE BASIS OF BACTO-HEALTH BIOLOGICAL PREPARATION

Abstract. Antimicrobial metabolites of bacterial strain *B. amyloliquefaciens* BIM B-1125, the basis of Bacto-health preparation, demonstrating antagonism against the representatives of the opportunistic microbiota of valuable fish species, were isolated and characterized. Extracellular localization of antimicrobial compounds was established; their stability is shown in the temperature range of 50–100 °C and in the pH range of 2–10. The lipopeptide nature of antimicrobial metabolites was shown using thin layer chromatography. The mass spectrometric analysis of the active fraction confirmed the production of lipopeptide metabolites belonging to the iturin and surfactin families (iturin A, iturin A4, iturin A6-A7 isomers, surfactin A, surfactin C, and surfactin B isomers).

Keywords: *Bacillus*, probiotic, antimicrobial metabolites, lipopeptides, surfactin, iturin, thin layer chromatography, mass spectrometry

For citation. Kantor K. V., Proskurnina I. A., Sverchkova N. V., Kolomiets E. I. Analysis of antimicrobial metabolites of bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* BIM B-1125 – the basis of Bacto-health biological preparation. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2022, vol. 66, no. 3, pp. 321–329 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2022-66-3-321-329>

Введение. В связи с активным развитием промышленного рыбоводства в Республике Беларусь остро стоит вопрос о разработке эффективных стратегий борьбы с возбудителями болезней рыб. Традиционным способом лечения и профилактики бактериальных заболеваний в аквакультуре является применение антибиотиков. Однако это приводит к возникновению антибиотикорезистентности у патогенных бактерий и циркуляции генов антибиотикоустойчивости в микробоценозах, что негативно сказывается на окружающей среде и здоровье человека [1]. Экологически приемлемой альтернативой антибиотикам служит использование пробиотических микробных препаратов, характеризующихся высокой биологической активностью и способностью повышать устойчивость организма к заболеваниям различной этиологии. Так, значительный интерес представляют пробиотики на основе бактерий рода *Bacillus* ввиду их технологичности и высокой антимикробной активности, обусловленной продукцией ряда биологически активных соединений [2], которые по механизму синтеза и структуре классифицируются на

рибосомально синтезируемые бактериоцины и продуцируемые при участии нерибосомальных ферментов поликетиды и липопептиды.

Бактериоцины представляют собой синтезируемые рибосомами амфифильные и/или гидрофобные антимикробные пептиды размером от 12 до 50 аминокислотных остатков. Они демонстрируют большое структурное разнообразие и проявляют бактерицидную активность в основном против близкородственных видов [3]; при этом бациллярные бактериоцины (коагулин, тохицин, бациллоцин, амилолизин) обладают более широким спектром действия, чем большинство бактериоцинов молочнокислых бактерий [2]. Механизмы антагонизма этих соединений связаны с их мембранотропностью и заключаются в способности увеличивать проницаемость или вызывать деполяризацию мембран клеток патогена. Некоторые бактериоцины способны, кроме того, подавлять жизнедеятельность клеток, воздействуя на процесс их деления.

Поликетиды являются одной из самых больших групп бактериальных вторичных метаболитов. Они представляют собой ансамбли из жирных кислот, синтезируемые поликетид-синтазами – нерибосомальными ферментами модульного строения. Для этих соединений характерен широкий спектр биологической активности, в т. ч. антифунгальной. Действие поликетидов на клетки патогенных микроорганизмов разнообразно: так, диффицидин подавляет гены, связанные с синтезом клеточной стенки и репликацией ДНК [4], а макролактин N из *B. subtilis* A29 способен ингибировать пептидеформилазу золотистого стафилококка, что препятствует его способности продуцировать ряд белков [5].

Наиболее изученным классом антимикробных метаболитов бактерий рода *Bacillus* являются липопептиды. Они синтезируются нерибосомально при помощи модульных ферментов пептид-синтаз [6] и состоят из гидрофильной пептидной части (7–10 аминокислотных остатков), связанной с гидрофобным жирным хвостом [7]. Бациллярные липопептиды на основании своего строения относят к трем основным семействам: сурфактины, итурины и фенгицины [8]. Для липопептидов семейства сурфактинов (сурфактин, лихенизин, пумилацидин) характерно наличие сложноэфирной или пептидной связи между β -гидроксижирной кислотой и С-концевой карбоксильной группой аминокислоты. Они содержат 7 аминокислотных остатков, из которых третий и шестой находятся в D-конфигурации [2]. Следует отметить, что аминокислоты и гидроксижирные кислоты в составе этих соединений варьируют как в зависимости от вида и штамма бактерий, так и от условий культивирования. Ввиду того, что сурфактины действуют на липидный бислой различных биологических мембран, они эффективны в отношении широкого круга грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также проявляют антифунгальные свойства [7]. Итурины (итурин, бацилломицин, мювенсин, микосубтилин) содержат 7 аминокислотных остатков, из которых второй, третий и шестой всегда находятся в D-конфигурации, и характеризуются наличием сложноэфирной или пептидной связи между жирной кислотой β -NH₂ и С-концевой карбоксильной группой аминокислоты [2]. Пептидная часть данных соединений также демонстрирует высокий полиморфизм, приводящий к различным биологическим и физиолого-биохимическим свойствам; при этом антибактериальное действие итуринов весьма ограничено [7]. Соединения семейства фенгицинов (фенгицин, плипастатин) имеют сложноэфирную или пептидную связь между β -ОН жирной кислотой и С-концевой карбоксильной группой аминокислоты и содержат 10 аминокислотных остатков, из которых второй, четвертый, шестой и девятый находятся в D-конфигурации [2]. Эти соединения чаще всего действуют специфически против мицелиальных грибов [7].

Следует отметить, что ряд исследований демонстрирует перспективность применения именно бациллярных липопептидов для профилактики и лечения болезней рыб в аквакультуре [9], связанную, в том числе, со способностью этих соединений ингибировать рост полирезистентных патогенов. Так, показано, что изоформы сурфактина *B. amyloliquefaciens* M1 проявляют антимикробную активность в отношении штаммов *Vibrio anguillarum* [10] со множественной антибиотикорезистентностью, а липопептиды *Bacillus* sp. 176 подавляют рост *V. alginolyticus* [1].

Цель работы – выделение и характеристика антимикробных метаболитов, продуцируемых штаммом бактерий *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1125 – основой биопрепарата для профилактики и лечения бактериальных болезней ценных видов рыб.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служили антимикробные метаболиты штамма *B. amyloliquifaciens* БИМ В-1125, демонстрирующего высокую степень антагонизма в отношении возбудителей болезней ценных видов рыб [11]. В качестве тест-объекта использовали культуру бактерий *Aeromonas hydrophyla* 51, изолированную из селезенки сеголетка пораженной аэромоназом стерляди.

Глубинное культивирование исследуемого штамма проводили на среде Мейнелла в колбах на шейкере-инкубаторе со скоростью перемешивания 200 ± 20 об/мин при температуре 30°C , инкубацию тест-объекта – в аналогичных условиях на мясо-пептонном бульоне.

Антагонистическую активность во всех представленных опытах оценивали методом отсроченного антагонизма. Для исследования использовали ночную культуру тест-объекта, соответствующую по оптической плотности стандарту мутности Тарасевича № 10. Локализацию антимикробных метаболитов устанавливали посредством оценки антагонистической активности клеточной фракции, гомогената клеток и бесклеточной культуральной жидкости (КЖ). Клеточную фракцию получали путем центрифугирования КЖ (10 000 об/мин, 15 мин) и последующего ресуспензирования осадка в калий-фосфатном буфере до начального объема. Для получения гомогената клетки разрушали ультразвуком с использованием дезинтегратора. Бесклеточная культуральная жидкость была получена при пропускании супернатанта через мембранный фильтр из полиэфирсульфона с диаметром пор 0,2 мкм.

Устойчивость антимикробных метаболитов к действию различных рН оценивали в диапазоне рН 2–12 согласно [12]. Для исследования устойчивости антимикробных метаболитов к температурным воздействиям бесклеточную КЖ выдерживали в течение 5, 15 и 30 мин при 50 , 60 , 70 , 80 , 90 и 100°C , после чего все образцы охлаждали до комнатной температуры и оценивали уровень их антагонистической активности [13].

Выделение антимикробных метаболитов осуществляли посредством их экстракции из бесклеточной культуральной жидкости гидрофобными (бензол, хлороформ, бутанол) и гидрофильными (метанол, этанол, изопропанол) растворителями (соотношение растворителя к КЖ составляло 1 : 1). При использовании гидрофильных растворителей бесклеточную КЖ предварительно выпаривали на роторном испарителе, затем проводили экстракцию в течение 12 ч. Экстракцию метаболитов гидрофобными соединениями проводили в делительных воронках. Разделение смеси выделенных метаболитов проводили методом тонкослойной хроматографии с использованием пластинок «Silufol UV-254» при восходящем потоке элюента в экспериментально подобранной системе *n*-бутанол : уксусная кислота : вода (4 : 1 : 1). Антибактериальную активность полученных фракций тестировали методом биоавтографии. Характеристику химического состава полученных фракций давали после обработки пластинок дистиллированной водой и нингидрином [12].

Для идентификации соединений класса липопептидов экстракт активной фракции и стандарты липопептидов (сурфактин и итурин из *B. subtilis*, Sigma-Aldrich) наносили на пластинки силикагель 60 и проводили тонкослойную хроматографию (ТСХ) при восходящем потоке элюента в системе хлороформ : метанол : вода (8 : 1 : 1) согласно [14; 15].

Масс-спектрометрический анализ содержания липопептидов в экстракте проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе Agilent 1200 с масс-селективным детектором типа тройной квадруполь Agilent 6410 и диодно-матричным детектором. Разделение компонентов осуществляли на колонке Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 длиной 100 мм с размером частиц 1,8 мкм. Анализ проводили в режиме градиентного элюирования, в качестве подвижной фазы использовали 0,05 %-ный водный раствор муравьиной кислоты в деионизированной воде (раствор А) и 0,05 %-ный раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле (раствор В). Линейный градиент включал от 25 до 95 % фазы В за 15 мин, время анализа – 26 мин. Объем инъекции составлял 5 мкл, скорость потока – 0,3 мл/мин. Для построения калибровочной кривой использовали растворы коммерческих стандартов итурина и сурфактина (Sigma-Aldrich) в ацетонитриле в диапазоне концентраций от 25 до 100 мкг/мл. Обсчет образцов проводили по хроматограммам с масс-детектора и УФ-детектора ($\lambda = 195$ нм).

Результаты и их обсуждение. При установлении локализации антимикробных метаболитов штамма показано, что бесклеточная культуральная жидкость, полученная путем фильтрации супернатанта через мембрану из полиэфирсульфона с диаметром пор 0,2 мкм, подавляет рост *A. hydrophyla* 51 в той же мере, что и культуральная жидкость, тогда как клеточная фракция и гомогенат клеток демонстрируют только остаточную антагонистическую активность (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Антагонистическая активность культуральной жидкости штамма бактерий *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1125 и ее фракций

Table 1. Antagonistic activity of the culture liquid of the bacterial strain *B. amyloliquefaciens* BIM B-1125 and its fractions

Фракции КЖ Culture fluid fractions	Диаметр зоны подавления роста <i>A. hydrophyla</i> 51, мм Inhibition zone diameter <i>A. hydrophyla</i> 51, mm
Бесклеточная КЖ	32 ± 0,3
Клеточная фракция	12 ± 0,5
Гомогенат клеток	10 ± 0,3
КЖ	33 ± 0,5

На основании полученных данных сделан вывод об экстрацеллюлярной локализации антимикробных метаболитов, вследствие чего для дальнейших исследований выбрана бесклеточная фракция КЖ штамма.

При исследовании чувствительности антимикробных метаболитов к действию pH и температуры установлено, что антагонистическая активность выбранной фракции остается неизменной в диапазоне температур 50–100 °С и в диапазоне pH 2–10, тогда как при pH 11–12 ее уровень незначительно снижается (на 9–11 %), что свидетельствует о частичной инактивации продуцируемых соединений в щелочной среде (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Устойчивость антимикробных метаболитов штамма бактерий *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1125 к воздействию высоких температур и различного уровня pH

Table 2. Tolerance of antimicrobial metabolites of the *B. amyloliquefaciens* BIM B-1125 to high temperatures and different pH levels

Условия инкубации бесклеточной культуральной жидкости Conditions for incubation of cell-free culture fluid	Диаметр зоны подавления роста <i>A. hydrophyla</i> 51, мм Inhibition zone diameter <i>A. hydrophyla</i> 51, mm
25 °С, 5 мин (контроль)	32 ± 0,3
50 °С, 5 мин	32 ± 0,2
60 °С, 5 мин	31 ± 0,6
70 °С, 5 мин	32 ± 0,4
80 °С, 5 мин	30 ± 0,5
90 °С, 5 мин	31 ± 0,3
100 °С, 5 мин	30 ± 0,6
25 °С, 15 мин (контроль)	32 ± 0,3
50 °С, 15 мин	31 ± 0,2
60 °С, 15 мин	32 ± 0,4
70 °С, 15 мин	32 ± 0,1
80 °С, 15 мин	30 ± 0,4
90 °С, 15 мин	31 ± 0,3
100 °С, 15 мин	31 ± 0,5
25 °С, 30 мин (контроль)	32 ± 0,3
50 °С, 30 мин	32 ± 0,5
60 °С, 30 мин	31 ± 0,4
70 °С, 30 мин	33 ± 0,2
80 °С, 30 мин	30 ± 0,5
90 °С, 30 мин	31 ± 0,4
100 °С, 30 мин	30 ± 0,4
pH 2	30 ± 0,4

Окончание табл. 2

Условия инкубации бесклеточной культуральной жидкости Conditions for incubation of cell-free culture fluid	Диаметр зоны подавления роста <i>A. hydrophyla</i> 51, мм Inhibition zone diameter <i>A. hydrophyla</i> 51, mm
pH 3	30 ± 0,5
pH 4	32 ± 0,2
pH 5	31 ± 0,6
pH 6	32 ± 0,5
pH 7 (контроль)	32 ± 0,3
pH 8	31 ± 0,5
pH 9	30 ± 0,2
pH 10	30 ± 0,3
pH 11	27 ± 0,2
pH 12	26 ± 0,7

Высокий уровень резистентности антимикробных экзо-метаболитов изучаемого штамма к действию pH и температуры позволяет сделать предположение о липопептидной природе данных веществ, так как согласно литературным данным [7] липопептиды бактерий рода *Bacillus* характеризуются устойчивостью к воздействию различных физико-химических факторов за счет своей циклической структуры и наличия в ней нетипичных элементов, таких как D-аминокислоты.

При выборе оптимального экстрагента для антимикробных метаболитов установлено, что из всех использованных в опыте соединений самая высокая экстрагирующая способность характерна для метанола (зона лизиса – 30 ± 0,2 мм), тогда как степень экстракции другими испытанными растворителями ниже (этанол – 26 ± 0,4 мм, изопропанол – 23 ± 0,4 мм, бутанол – 26 ± 0,5 мм) или отсутствует (бензол и хлороформ). Антимикробное действие метанольного экстракта сопоставимо с таковым для супернатанта культуральной жидкости штамма (рис. 1).

При визуализации хроматограммы метанольного экстракта бесклеточной КЖ (при УФ 254 нм), полученной методом ТСХ в системе *n*-бутанол : уксусная кислота : вода (4 : 1 : 1), зафиксировано 6 фракций. Методом биоавтографии выявлена активная фракция с Rf 0,34, характеризующаяся высоким антагонистическим действием (зона лизиса на газоне

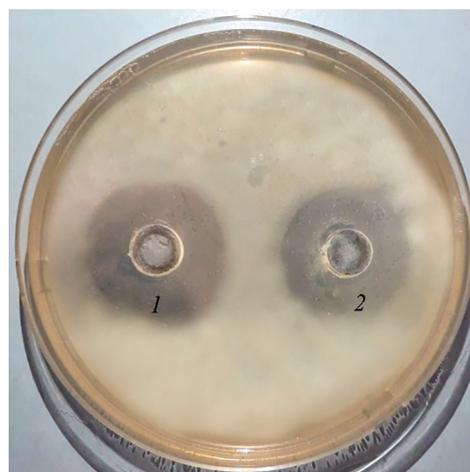


Рис. 1. Антагонистическое действие бесклеточной культуральной жидкости (1) и метанольного экстракта бесклеточной культуральной жидкости (2) штамма бактерий *B. amyloliquefaciens* BIM B-1125

Fig. 1. Antagonistic effect of cell-free culture fluid (1) and methanolic extract of cell-free culture fluid (2) of the bacterial strain *B. amyloliquefaciens* BIM B-1125

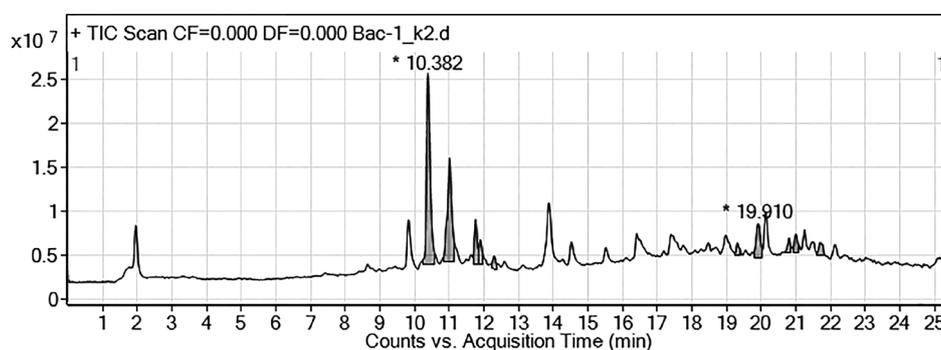


Рис. 2. Хроматограмма липопептидов, продуцируемых штаммом *B. amyloliquefaciens* BIM B-1125 (метанольный экстракт)

Fig. 2. The chromatogram of lipopeptides produced by the strain *B. amyloliquefaciens* BIM B-1125 (methanolic extract)

Т а б л и ц а 3. Концентрация липопептидов в метанольном экстракте культуральной жидкости штамма *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1125

Table 3. The concentration of lipopeptides in the methanolic extract of the culture liquid of the strain *B. amyloliquefaciens* BIM B-1125

Семейство липопептидов Lipopeptide family	Масса/заряд Weight/charge	Изоформа Isoform	Время удержания, мин Holding time, min	Концентрация, мкг/мл* Concentration, µg/ml
Итурин	1043,2	Итурин А	10,382	36,83
	1057,2	Итурин А4	11,010	23,67
	1071,2	Итурин А6-А7	11,762; 11,896	9,69
Сурфактин	1008,3	Сурфактин А (С13)	19,900	11,23
	1022,3	Сурфактин В (С14)	20,806; 21,001	5,55
	1036,3	Сурфактин С (С15)	21,722	1,90

Примечание: * – для изомеров указана суммарная концентрация.

Note: * – for isomers, the total concentration is indicated.

A. hydrophyla 51 – 25 ± 0,2 мм). При обработке данного пятна на хроматографической пластинке нингидрином зафиксировано появление окраски, что свидетельствует о наличии аминокислот и пептидов в ее составе; обработка дистиллированной водой выявила наличие метаболитов с поверхностно-активными свойствами. На амфифильность антимикробных метаболитов указы-

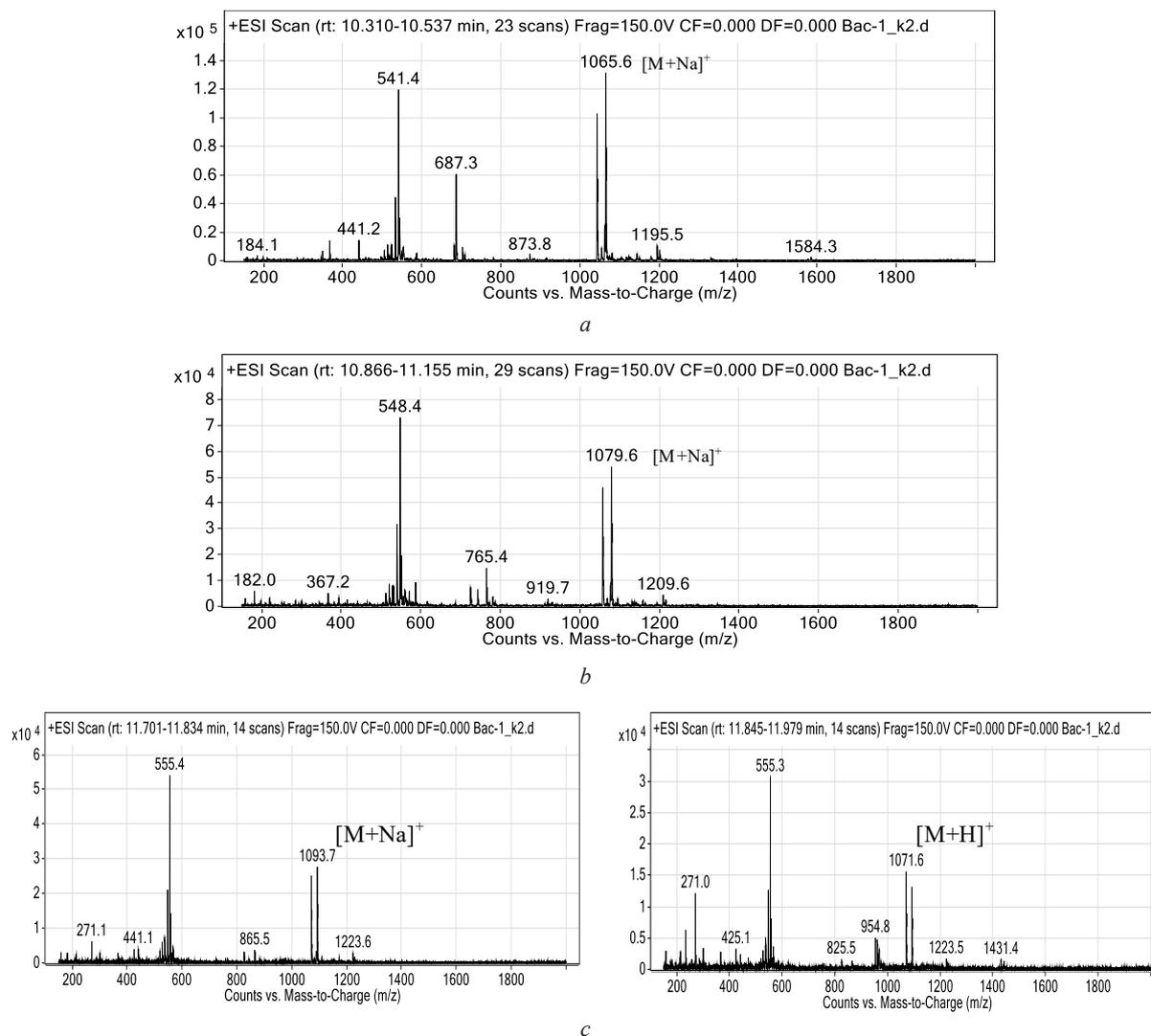


Рис. 3. Масс-спектры содержащихся в метанольном экстракте культуральной жидкости штамма *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1125 итурина А (а), итурина А4 (б) и гомологов итурина А6-А7 (с)

Fig. 3. The LC-MS spectrum contained in the methanolic extract of the culture liquid of the strain *B. amyloliquefaciens* BIM B-1125 of iturin A (a), iturin A4 (b) and iturin A6-A7 (c)

вает также их низкая степень экстракции неполярными соединениями (бензол, хлороформ) [16]. Исходя из представленных выше данных, можно сделать предположение о наличии в активной фракции соединений класса липопептидов.

Для идентификации соединений класса липопептидов экстракт активной фракции и коммерческие стандарты сурфактина и итурина (Sigma Aldrich) наносили на пластинки силикагель 60 и проводили ТСХ при восходящем потоке элюента в системе хлороформ : метанол : вода (8 : 1 : 1). При визуализации хроматограммы в УФ свете (254 нм) были зафиксированы пятна с Rf 0,3 и 0,7 для стандартов сурфактина и итурина соответственно и пятна с Rf 0,33 и 0,71 для исследуемой метанольной фракции, что свидетельствует о продукции штаммом *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1125 липопептидов семейства сурфактина и итурина.

Масс-спектрометрический анализ метанольного экстракта бесклеточной культуральной жидкости подтвердил наличие в нем липопептидов семейств итурина и сурфактина (время удержания в промежутках 10–12 и 19–22 мин соответственно) (рис. 2).

Согласно полученным данным, в исследуемом образце достоверно обнаружены липопептиды итурин А, итурин А4 (концентрация 36,83 и 23,67 мкг/мл), изомеры итурина А6-А7 (6,17 и 3,52 мкг/мл), а также сурфактин А (11,23 мкг/мл), сурфактин С (1,9 мкг/мл) и изомеры сурфактина В (2,36 и 3,19 мкг/мл) (табл. 3). Детектированы протонированные молекулярные

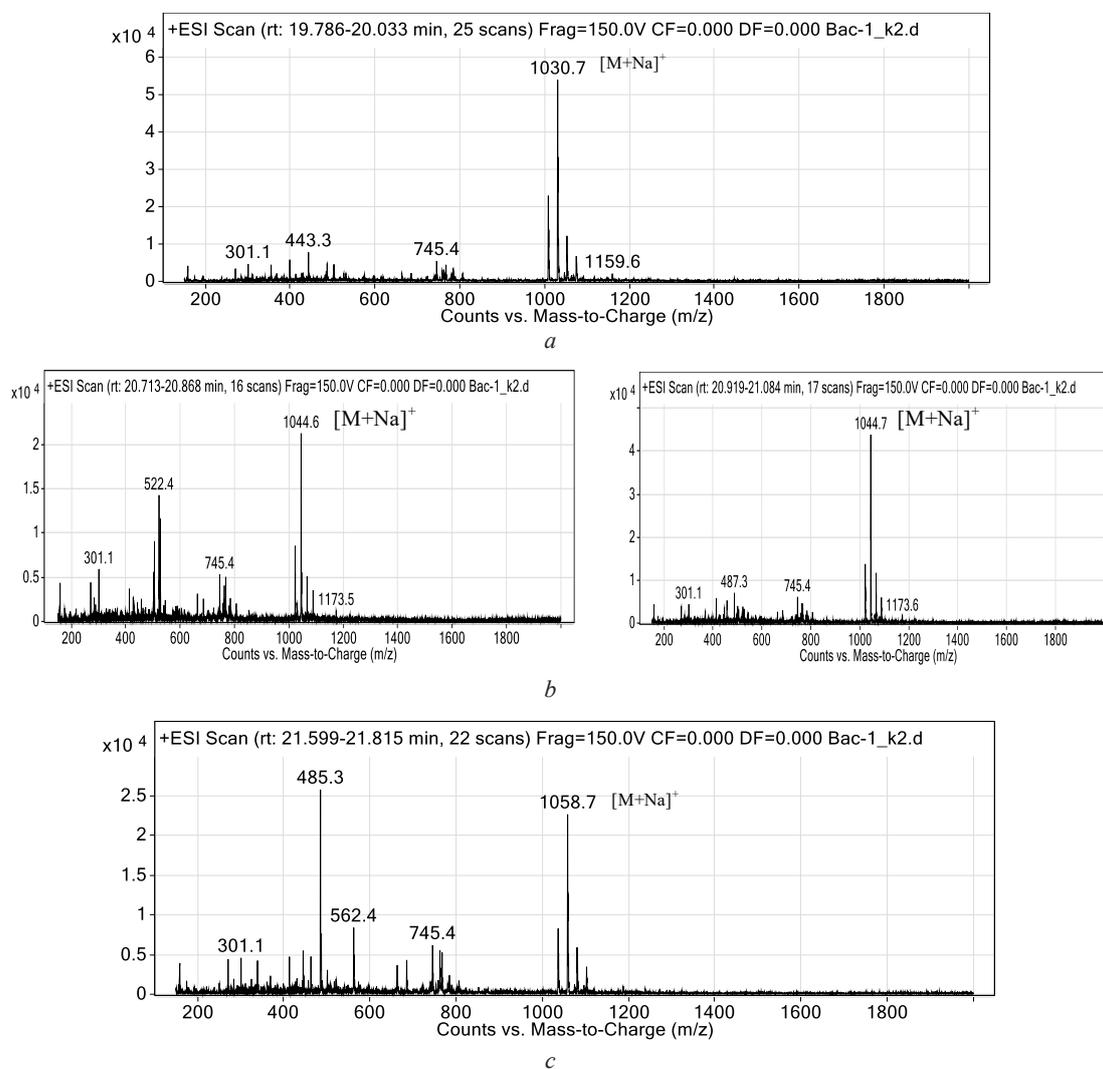


Рис. 4. Масс-спектры содержащихся в метанольном экстракте культуральной жидкости штамма *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1125 сурфактина А (С13) (а), гомологов сурфактина В (С14) (б) и сурфактина С (С15) (с)

Fig. 4. The LC-MS spectrum contained in the methanolic extract of the culture liquid of the strain *B. amyloliquefaciens* BIM В-1125 of surfactin А (С13) (а), surfactin В (С14) (б) and surfactin С (С15) (с)

ионы $[M + H]^+$ и аддукты $[M + Na]^+$ липопептидов семейств итурина и сурфактина. Хроматограммы и масс-спектры обнаруженных соединений отображены на рис. 3, 4.

Заключение. Выделены и охарактеризованы антимикробные метаболиты штамма бактерий *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1125. Показана экстрацеллюлярная локализация антимикробных метаболитов, а также их термостабильность в диапазоне температур 50–100 °С и устойчивость к низким значениям рН. Подтверждена липопептидная природа фракций, демонстрирующих антагонизм в отношении *A. hydrophyla* 51. С помощью жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии экспериментально доказано наличие в метанольном экстракте бесклеточной КЖ, проявляющем антимикробную активность, липопептидов семейств итурина и сурфактина (итурин А, итурин А4, изомеры итурина А6-А7, сурфактин А, сурфактин С, изомеры сурфактина В). Липопептидная природа антимикробных метаболитов обеспечивает высокую конкурентоспособность биопрепарата Бакто-хелс в аквабиоценозах.

Список использованных источников

1. Isolation and characterization of cyclic lipopeptides with broad-spectrum antimicrobial activity from *Bacillus siamensis* JFL15 / Ben-Hong Xu [et al.] // 3 Biotech. – 2018. – Vol. 8, N 10. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1443-4>
2. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new era for antibiotics / C. D. Sumi [et al.] // Can. J. Microbiol. – 2015. – Vol. 61, N 2. – P. 93–103. <https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0613>
3. Isolation of the *Bacillus subtilis* antimicrobial peptide subtilosin from the dairy product-derived *Bacillus amyloliquefaciens* / K. E. Sutyak [et al.] // J. Applied Microbiol. – 2008. – Vol. 104, N 4. – P. 1067–1074. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03626.x>
4. Antimicrobial *Bacillus*: metabolites and their mode of action / C. Tran [et al.] // Antibiotics. – 2022. – Vol. 11, N 1. – P. 88. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010088>
5. Macrolactin N, a new peptide deformylase inhibitor produced by *Bacillus subtilis* / J. S. Yoo [et al.] // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2006. – Vol. 16, N 18. – P. 4889–4892. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.06.058>
6. Bacillaceae-derived peptide antibiotics since 2000 / P. Zhao [et al.] // Peptides. – 2018. – Vol. 101. – P. 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2017.12.018>
7. Lesson from Ecotoxicity: Revisiting the Microbial Lipopeptides for the Management of Emerging Diseases for Crop Protection / D. Malviya [et al.] // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2020. – Vol. 17, N 4. – P. 1434. <https://doi.org/10.3390/ijerph17041434>
8. Identification of lipopeptides in *Bacillus megaterium* by two-step ultrafiltration and LC-ESI-MS/MC / Y. Ma [et al.] // AMB Express. – 2016. – Vol. 6, N 1. – P. 79. <https://doi.org/10.1186/s13568-016-0252-6>
9. Characterization and mechanism of anti-*Aeromonas salmonicida* activity of a marine probiotic strain, *Bacillus velezensis* V4 / X.-Y. Gao [et al.] // Appl. Microbiol. and Biotechnol. – 2017. – Vol. 101, N 9. – P. 3759–3768. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8095-x>
10. Antibacterial activity of the lipopeptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* M1 against multidrug-resistant *Vibrio* spp. isolated from diseased marine animals / H. M. Xu [et al.] // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2014. – Vol. 98, N 1. – P. 127–136. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5291-1>
11. Ферментативная активность штамма *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В-1125 – антагониста патогенной микрофлоры ценных видов рыб / К. В. Кантор [и др.] // Биотехнологии микроорганизмов: материалы Междунар. науч.-практ. конф., Минск, БГУ, 27–29 нояб. 2019 г. – Минск, 2019. – С. 74–77.
12. A Broad-Spectrum Antimicrobial Activity of *Bacillus subtilis* RLID 12.1 / R. Ramachandran [et al.] // Scientific World Journal. – 2014. – Vol. 2014. – 10 p. <https://doi.org/10.1155/2014/968487>
13. Purification and Characterization of a Bacteriocin, BacBS2, produced by *Bacillus velezensis* BS2 isolated from Meongge Jeotgal / V. Perumal [et al.] // J. Microbiol. Biotechnol. – 2019. – Vol. 29, N 7. – P. 1033–1042. <https://doi.org/10.4014/jmb.1903.03065>
14. Production and characterization of surfactin-like biosurfactant by novel strain *Bacillus nealsonii* S2MT and its potential for oil contaminated soil remediation / I. A. Phulpoto [et al.] // Microbial. Cell Factories. – 2020. – Vol. 19, N 1. – Art. 145. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01402-4>
15. Biological control of peach brown rot (*Monilinia* spp.) by *Bacillus subtilis* CPA-8 is based on production of fengycin-like lipopeptides / V. Yanez-Mendizabal [et al.] // Eur. J. Plant. Pathol. – 2012. – Vol. 132, N 4. – P. 609–619. <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9905-0>
16. Выделение и предварительная характеристика антигрибных соединений штамма *Bacillus subtilis* ИБ-54 – антагониста почвенных микромицетов / А. И. Мелентьев [и др.] // Тр. БГУ. – 2010. – Т. 5, ч. 1. – С. 200–209.

References

1. Ben-Hong Xu, Zhi-Wei Ye, Qian-Wang Zheng, Tao Wei, Jun-Fang Lin, Li-Qiong Guo. Isolation and characterization of cyclic lipopeptides with broad-spectrum antimicrobial activity from *Bacillus siamensis* JFL15. 3 Biotech, 2018, vol. 8, no. 10. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1443-4>

2. Sumi C. D., Yang B. W., Yeo I.-C., Hahm Y. T. Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new era for antibiotics. *Canadian Journal of Microbiology*, 2015, vol. 61, no. 2, pp. 93–103. <https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0613>
3. Sutyak K. E., Wirawan R. E., Aroucheva A. A., Chikindas M. L. Isolation of the *Bacillus subtilis* antimicrobial peptide subtilisin from the dairy product-derived *Bacillus amyloliquefaciens*. *Journal of Applied Microbiology*, 2008, vol. 104, no. 4, pp. 1067–1074. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03626.x>
4. Tran C., Cock I. E., Chen X., Feng Y. Antimicrobial *Bacillus*: metabolites and their mode of action. *Antibiotics*, 2022, vol. 11, no. 1, p. 88. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010088>
5. Yoo J.-S., Zheng C.-J., Lee S., Kwak J.-H., Kim W.-G. Macrolactin N, a new peptide deformylase inhibitor produced by *Bacillus subtilis*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2006, vol. 16, no. 18, pp. 4889–4892. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.06.058>
6. Zhao P., Xue Y., Gao W., Li J., Zu X., Fu D., Bai X., Zuo Y., Hu Z., Zhang F. Bacillaceae-derived peptide antibiotics since 2000. *Peptides*, 2018, vol. 101, pp. 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2017.12.018>
7. Malviya D., Sahu P. K., Singh U. B., Paul S., Gupta A., Gupta A. R., Singh S., Kumar M., Paul D., Rai J. P., Singh H. V., Brahmprakash G. P. Lesson from Ecotoxicity: Revisiting the Microbial Lipopeptides for the Management of Emerging Diseases for Crop Protection. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2020, vol. 17, no. 4, p. 1434. <https://doi.org/10.3390/ijerph17041434>
8. Ma Y., Kong Q., Qin C., Chen Y., Lv R., Zhou G. Identification of lipopeptides in *Bacillus megaterium* by two-step ultrafiltration and LC-ESI-MS/MS. *AMB Express*, 2016, vol. 6, no. 1, p. 79. <https://doi.org/10.1186/s13568-016-0252-6>
9. Gao X.-Y., Liu Y., Miao L.-L., Li E.-W., Sun G., Liu Y., Liu Z.-P. Characterization and mechanism of anti-*Aeromonas salmonicida* activity of a marine probiotic strain, *Bacillus velezensis* V4. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, vol. 101, no. 9, pp. 3759–3768. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8095-x>
10. Xu H.-M., Rong Y.-J., Zhao M.-X., Song B., Chi Z.-M. Antibacterial activity of the lipopeptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* M1 against multidrug-resistant *Vibrio* spp. isolated from diseased marine animals. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, vol. 98, no. 1, pp. 127–136. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5291-1>
11. Kantor K. V., Proskurnina I. A., Sverchkova N. V., Romanovskaya T. V., Kolomiets E. I. Enzymatic activity of the strain *Bacillus amyloliquefaciens* BIM B-1125 – an antagonist of pathogenic microflora of valuable fish species. *Biotehnologii mikroorganizmov: Materialy Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoj konferencii* [Biotechnologies of microorganisms: Materials of the International Scientific-Practical Conference]. Minsk, 2019, pp. 74–77 (in Russian).
12. Ramachandran R., Chalasani A. G., Lal R., Roy U. A Broad-Spectrum Antimicrobial Activity of *Bacillus subtilis* RLID 12.1. *Scientific World Journal*, 2014, vol. 2014, 10 p. <https://doi.org/10.1155/2014/968487>
13. Perumal V., Yao Z., Kim J. A., Kim H. J., Kim J. H. Purification and Characterization of a Bacteriocin, BacBS2, produced by *Bacillus velezensis* BS2 isolated from Meongge Jeotgal. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2019, vol. 29, no. 7, pp. 1033–1042. <https://doi.org/10.4014/jmb.1903.03065>
14. Phulpoto I. A., Yu Z., Hu B., Wang Y., Ndayisenga F., Li J., Liang H., Qazi M. A. Production and characterization of surfactin-like biosurfactant by novel strain *Bacillus nealsonii* S2MT and its potential for oil contaminated soil remediation. *Microbial Cell Factories*, 2020, vol. 19, no. 1, art. 145. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01402-4>
15. Yáñez-Mendizábal V., Zerriouh H., Viñas R., Torres R., Usall J., de Vicente A., Pérez-García A., Teixidó N. Biological control of peach brown rot (*Monilinia* spp.) by *Bacillus subtilis* CPA-8 is based on production of fengycin-like lipopeptides. *European Journal of Plant Pathology*, 2012, vol. 132, no. 4, p. 609–619. <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9905-0>
16. Melent'ev A. I., Kurchenko V. P., Leont'ev V. N., Galimzjanova N. F., Kuz'mina L. Ju., Gilvanova E. A., Usanov N. G., Boiko T. F., Semenova E. A., Aktuganov G. E. Isolation and preliminary characterization of antifungal compounds of *Bacillus subtilis* strain IB-54, an antagonist of soil micromycetes. *Trudy BGU* [Proceedings of BSU], 2010, vol. 5, no. 1, pp. 200–209 (in Russian).

Информация об авторах

Кантор Карина Викторовна – науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kantorkarina@rambler.ru.

Проскурнина Ирина Александровна – заведующий сектором. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: irina_pros@tut.by.

Сверчкова Наталья Владимировна – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: sverchkova@mbio.bas-net.by.

Коломиец Эмилия Ивановна – академик, д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kolomiets@mbio.bas-net.by.

Information about the authors

Kantor Karina V. – Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kantorkarina@rambler.ru.

Proskurnina Irina A. – Head of the Sector. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: irina_pros@tut.by.

Sverchkova Natalia V. – Ph. D. (Biology), Leading Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sverchkova@mbio.bas-net.by.

Kolomiets Emilia I. – Academician, D. Sc. (Biology), Professor, Chief Researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kolomiets@mbio.bas-net.by.