

Jolanta Solecka<sup>1\*</sup>, Joanna Ziemska<sup>1</sup>, Aleksandra Rajnisz<sup>1</sup>, Anna Laskowska<sup>1</sup>, Adam Guśpiel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Samodzielna Pracownia Związków Biologicznie Czynnych, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego  
Państwowy Zakład Higieny, Chocimska 24, 00-791 Warszawa, tel. +48 22 542-14-23

Wpłynęło w maju 2012 r.

1. Wstęp. 2. Bioaktywne metabolity promieniowców. 3. Miejsca występowania promieniowców. 4. Promieniowce bytujące w glebie. 5. Promieniowce w środowisku morskim. 6. Inne źródła. 7. Podsumowanie

### Actinomycetes – occurrence and production of biologically active compounds

**Abstract:** Actinomycetes are prolific producers of many bioactive metabolites, including antibacterial, antifungal, antiviral or anticancer substances. They belong to Gram-positive bacteria and are isolated from different environments. Among actinomycetes, the *Streptomyces* genus plays a major role in productivity of metabolites with biological activity and is most widespread all over the world. From the beginning of golden era of antibiotics, actinomycetes metabolites were mainly isolated from the soil. As the obtaining the previously discovered metabolites from terrestrial habitats increases, there are attempts to look for new sources, e.g. seas, oceans, etc. Marine isolates are different from soil actinomycetes in their chemical structures, mode of action or biological activity. Marine sponges are especially rich in actinomycete strains. However, actinomycetes are also isolated from fallen leaves, ants' nests, deserts, Antarctica sediments and snow cores, caves or spider materials.

1. Introduction. 2. Bioactive metabolites from actinomycetes. 3. Actinomycetes in different environments. 4. Soil actinomycetes. 5. Actinomycetes in marine environment. 6. Other sources. 7. Summary

**Słowa kluczowe:** bioaktywne metabolity, gąbki, promieniowce, *Streptomyces*, źródła

**Key words:** bioactive metabolites, sponges, actinomycetes, *Streptomyces*, sources

## 1. Wstęp

Promieniowce (*Actinomycetes*) należą do bakterii Gram-dodatnich o nieregularnej, cylindrycznej budowie z tendencją do rozgałęziania się. Budowa ta upodabnia je do grzybów nitkowatych. Splątki nitek wrastające w podłoże tworzą pseudogrzzybnię podstawową (substratową) i powietrzną. Promieniowce rozmnażają się przez podział (fragmentację) pseudogrzzybni i wytwarzanie zarodników.

Nazwa *Actinomyces* została nadana przez niemieckiego botanika Carla Otto H a r z a w a w 1877 roku. Panowała wówczas powszechnie choroba bydła, zwana promieniową, powodująca zniekształcenie kości i obrzęki. Była ona wywołana przez promieniowce chorobotwórcze, *Actinomyces bovis*. W 1916 r. bakteriolog Robert E a r l e B u c h a n a n nadał nazwę rzędowi *Actinomycetales* [20]. Promieniowce należą do gromady XXVI (Phylum XXVI) *Actinobacteria* phyl. nov. W obrębie klasy I (Class I) *Actinobacteria* wyróżnia się 16 rzędów (Orders), 43 rodziny (Families) i 227 rodzajów (Genera) według Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [17]. Jednakże w literaturze opisywane są już inne, nowoodkryte rodzaje i należące do nich gatunki [40]. Promieniowce w porównaniu do innych bakterii charakteryzują się dużym

genomem, a także wysoką zawartością G + C w DNA [49]. Zazwyczaj 5–10% genomu promieniowców, stanowią geny odpowiedzialne za wtórny metabolizm [3].

Promieniowce występują powszechnie w glebie, ale także w wodach słodkich i słonych, kompostach czy oborniku. Biorą udział w procesie rozkładu szczątków zwierzęcych i materiałów biologicznych, takich jak celuloza, chityna, lignina. Jest to możliwe dzięki wytwarzaniu przez te bakterie wielu enzymów: cellulaz, chitynaz, ksylanaz [20]. Ponadto, promieniowce są producentami enzymów biorących udział w lizie ścian komórkowych mikroorganizmów (bakterii i grzybów), np. lizozymu, hydrolaz peptydylo-peptydowych, glukanaż, mannanaz oraz chitynaz [49].

Niektóre z nich (np. promieniowce z rodzaju *Frankia*) wchodzą w symbiozę z roślinami wyższymi, wiążąc azot. Przekształcają również powstały w procesach rozkładu materii organicznej amoniak w azotany, które są łatwiej przyswajalną formą azotu dla korzeni roślin. Inne wiążą azot z powietrza, czyniąc go także bardziej dostępnym dla roślin [20].

Opisuje się również promieniowce produkujące wiele barwników (brązowych, czarnych) odpowiedzialnych za ciemny kolor humusu. Wytwarzają one także m.in. antybiotyki o fioletowym zabarwieniu, mederrodyne

\* Autor korespondencyjny: Samodzielna Pracownia Związków Biologicznie Czynnych, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego Państwowy Zakład Higieny, Chocimska 24, 00-791 Warszawa; tel. +48 22 542-13-87; e-mail: jsolecka@pzh.gov.pl

(mederrhodin), niebieską aktynorodynę (actinorhodin), brązową medermycynę (medermycin) [20].

Autorytetem w dziedzinie hodowli omawianych drobnoustrojów był Selman Waksman, odkrywca streptomycyny i innych antybiotyków wytwarzanych przez te mikroorganizmy. Waksman, będąc studentem pobierał próbki gleby otaczającej uniwersytet w New Brunswick, na którym studiował. Następnie posiewał je na płytki z podłożem i obserwował wzrost mikroorganizmów. Szybko zaobserwował występowanie kolonii podobnych do bakteryjnych, ale pod mikroskopem przypominających grzyby. Kolonie te często wytwarzały barwniki. Ich ilość była różna w zależności od rodzaju gleby, jej pH, głębokości wydobywania i czy była to ziemia uprawna. Odkrycia te zmieniły życie W a k s m a n a, który zajął się na stałe hodowlą promieniowców [20].

## 2. Bioaktywne metabolity promieniowców

Promieniowce należą do czołowych producentów związków o aktywności biologicznej, w tym o działaniu przeciwbakteryjnym, przeciwwirusowym, przeciwgrzybiczym, przeciwnowotworowym, przeciwrakowym. Oszacowano, iż 80% poznanych antybiotyków pochodzenia naturalnego to metabolity promieniowców [29]. Spośród wielu rodzajów promieniowców to *Streptomyces*, *Saccharopolyspora*, *Amycolatopsis*, *Micromonospora*, *Actinoplanes* są odpowiedzialne za wytwarzanie większości biomolekuł istotnych komercyjnie. Rodzaj *Streptomyces*, należący do rodziny *Streptomycetaceae* i liczący około 500 gatunków wytwarza w przybliżeniu 80% wszystkich bioaktywnych metabolitów promieniowców [12]. Systematykę rodzaju *Streptomyces* przedstawiono w Tabeli I [17].

Przykładami znanych związków bioaktywnych wytwarzanych przez promieniowce są streptomycyna, nystatyna, amfoterycyna B, aktynomycyna, awermektyna, takrolimus. Streptomycyna została wyizolowana w 1943 r. przez ucznia W a k s m a n a, Alberta S c h a t z a, który zauważył, iż szczep *Streptomyces griseus* (*S. griseus*) wytwarza związek o aktywności wobec bakterii Gram-ujemnych i prątków gruźlicy. W 1952 r. za odkrycie streptomycyny Waksman otrzymał nagrodę Nobla [20]. Nystatyna, związek o działaniu przeciwgrzybiczym

wytwarzany przez *S. noursei*, została odkryta w 1950 r. przez naukowców Rachel B r o w n i Elizabeth H a z e n. Kolejnym przykładem związków przeciwgrzybiczych jest amfoterycyna B, wytwarzana przez *S. nodosus*. Waksman odkrył również aktynomycynę, produkowaną przez szczep *S. antibioticus*, która obecnie znalazła zastosowanie jako lek przeciwnowotworowy m.in. w leczeniu guza Wilmsa u dzieci [20, 49].

Promieniowce są producentami wielu antybiotyków. Wytwarzają związki przeciwbakteryjne należące do  $\beta$ -laktamów, aminoglikozydów, tetracyklin, makrolidów, glikopeptydów, lipopeptydów i innych. Przykłady antybiotyków należących do wymienionych grup umieszczono w Tabeli II. Kwas klawulanowy, inhibitor  $\beta$ -laktamaz jest wytwarzany przez *S. clavuligerus* [46, 49]. Złota era antybiotyków przypadała na lata 50–60. XX wieku. Ilość nowych odkryć w ostatnich latach znacznie spadła [20]. Jednakże w związku z narastającą opornością szczepów bakterii, zwłaszcza szczepów klinicznych, istnieje nieustanna potrzeba odkrywania nowych leków przeciwbakteryjnych, w tym pochodzenia naturalnego. Dlatego prowadzone są izolacje drobnoustrojów z różnych miejsc na Ziemi w kierunku pozyskania nowych szczepów promieniowców wytwarzających substancje antybiotyczne.

Metabolity promieniowców charakteryzuje duża różnorodność i złożoność struktur chemicznych. Pod względem budowy chemicznej związki wytwarzane przez promieniowce należą m.in. do poliketydów, peptydów, butenolidów, chinonów, makrolidów, alkaloidów, laktonów, laktamów, terpenów, terpenoidów [46]. Szczepy promieniowców relatywnie rzadko produkują związki o budowie terpenoidów i flawonoidów, często wytwarzają struktury makrocyclicznych laktonów, laktamów, cyklopeptydów, depsyptydów i policyklicznych pochodnych chinonów [6].

## 3. Miejsca występowania promieniowców

Promieniowce występują w różnych miejscach na Ziemi, aczkolwiek najbardziej pierwotnym źródłem ich izolacji jest gleba. Proces izolacji promieniowców z gleby jest zazwyczaj prosty. Ponadto pozyskiwanie promieniowców z gleby nie jest czasochłonne i nie wymaga dużych nakładów finansowych. Promieniowce występują także w innych źródłach: korzeniach roślin, opadłych liściach, mrowiskach, piasku pustynnym i wielu innych. Jednakże szczepy te są często izolowane z omawianych miejsc w ilościach mniejszych niż z gleby. Istotnym źródłem pozyskiwania promieniowców są morza i oceany, z których wielokrotnie izoluje się promieniowce wytwarzające metabolity o ciekawych strukturach chemicznych i aktywności biologicznej, często odmiennych od tych pozyskiwanych z gleby. Opisywano

Tabela I  
Pozycja systematyczna rodzaju *Streptomyces* (wg Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [17])

Gromada XXVI (Phylum XXVI)	<i>Actinobacteria</i> phyl.nov.
Klasa I (Class I)	<i>Actinobacteria</i>
Rząd XIV (Order XIV)	<i>Streptomycetales</i> ord. nov.
Rodzina I (Family I)	<i>Streptomycetaceae</i>
Rodzaj I (Genus I)	<i>Streptomyces</i>

Tabela II

Przykłady antybiotyków wytwarzanych przez promieniowce

Grupa antybiotyków	Przykład antybiotyku	Gatunek promieniowca	Piśmiennictwo
<b>β-laktamy</b>	Cefamycyna A, B, C	<i>Amycolatopsis lactamdurans</i> (dawniej <i>Streptomyces lactamdurans</i> ), <i>S. clavuligerus</i>	[48]
	Tienamycyna	<i>S. cattleya</i>	[26]
<b>Aminoglikozydy</b>	Streptomycyna (aktynomycyna)	<i>S. griseus</i>	[25]
	Gentamycyna	<i>Micromonospora purpurea</i> <i>Micromonospora echinospora</i>	[42]
	Kanamycyna	<i>S. kanamyceticus</i>	[53]
	Neomycyna	<i>S. fradiae</i>	[55]
	Tobramycyna	<i>Streptoalloteichus tenebrarius</i> (dawniej <i>S. tenebrarius</i> )	[17, 34]
	Spektynomycyna	<i>S. spectabilis</i>	[47]
<b>Tetracykliny</b>	Chlorotetracyklina (aureomycyna)	<i>S. aureofaciens</i>	[57]
	Tetracyklina	<i>S. aureofaciens</i>	[9]
	Oksytetracyklina	<i>S. rimosus</i>	[14]
<b>Makrolidy</b>	Erytromycyna	<i>Saccharopolyspora erythraea</i>	[54]
	Spiramycyna	<i>S. ambofaciens</i>	[2]
	Oleandomycyna	<i>S. antibioticus</i>	[31]
<b>Glikopeptydy</b>	Teikoplanina	<i>Actinoplanes teichomyceticus</i>	[12]
	Wankomycyna	<i>Amycolatopsis orientalis</i>	[32]
<b>Linkozamidy</b>	Linkomycyna	<i>S. lincolnensis</i>	[33]
<b>Lipopeptydy</b>	Daptomycyna	<i>S. roseosporus</i>	[35]
<b>Streptograminy</b>	Prystynamycyna	<i>S. pristinaespiralis</i>	[4]
	Wirginiamycyna	<i>S. virginiae</i>	[11]
<b>Antybiotyki o innej budowie</b>	Fosfomycyna	<i>S. fradiae</i>	[41]
	Chloramfenikol	<i>S. venezuelae</i>	[13]
	Cykloseryna	<i>S. lavendulae</i> , <i>S. orchidaceus</i>	[45]
	Nowobiocyna	<i>S. caeruleus</i> (dawniej <i>S. niveus</i> )	[30]

też pozyskiwanie tych drobnoustrojów z lodowców. Duża różnorodność miejsc występowania promieniowców może świadczyć o zdolnościach adaptacji tych drobnoustrojów do panujących warunków środowiska.

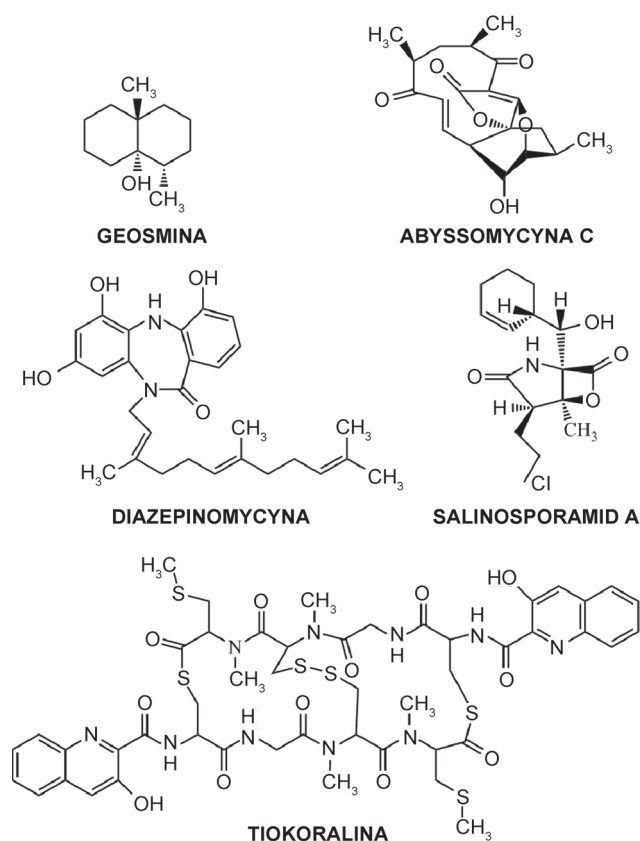
B é r d y w 2012 r. oszacował, iż do tej pory zidentyfikowano ze źródeł naturalnych przy pomocy dostępnych metod tylko około 1% promieniowców. Dzięki analizom DNA odkryto, że zróżnicowanie mikroorganizmów jest znacznie większe niż przypuszczano [6].

#### 4. Promieniowce bytujące w glebie

Głównym źródłem pozyskiwania promieniowców jest gleba. Gleba jest miejscem łatwo dostępnym i to z niej od lat badacze izolowali próbki bogate w różnorodne mikroorganizmy, w tym promieniowce. Charakterystyczny zapach świeżo zaoranej lub wilgotnej ziemi pochodzi właśnie od obecności w niej szczepów promieniowców wytwarzających geosminę (Rys. 1) [15]. Zwią-

zek ten został po raz pierwszy wyizolowany w 1965 r. z brzcзки fermentacyjnej gatunku *S. griseus*. Geosmina jest wytwarzana przez różne szczepy rodzaju *Streptomyces*, ale i przez cyjanobakterie, oraz niektóre grzyby [24].

Do tej pory do pozyskiwania promieniowców używano gleby z miejsc typowych: gospodarstw rolnych, ogrodów, lasów. Wiele antybiotyków jest wytwarzanych przez promieniowce pozyskiwane z gleby: streptomycyna, wankomycyna, aktynomycyna, neomycyna, daptomycyna i inne. Szacuje się, że streptomycynę wytwarza około 1% promieniowców bytujących w glebie. Dla porównania, tylko 1 na 10<sup>7</sup> promieniowców (izolowanych z ziemi) wytwarza daptomycynę [3]. Często, pomimo nieskomplikowanego procesu izolacji promieniowców bytujących w glebie, nie udaje się ich niestety wyhodować w warunkach laboratoryjnych. Jest to spowodowane specyficznymi wymaganiami środowiskowymi promieniowców, a także wzajemnymi oddziaływaniami z innymi mikroorganizmami, do jakich dochodzi w miejscu ich bytowania. Produkcja metabolitów



Rys. 1. Struktury chemiczne wybranych metabolitów promieniowców

wtórnych promieniowców jest swoistym rodzajem odpowiedzi na wpływ i ko-egzystencję w ziemi innych mikroorganizmów, ale i gospodarza czy środowiska [6].

Trwają prace nad udoskonaleniem podłoży i metod hodowli promieniowców w warunkach laboratoryjnych. Dla przykładu, szczepy izolowane z ziemi często posiewa się na płytce z podłożem zawierającym jako ważne źródło węgla i azotu, kwasy humusowe (humic acid-vitamin agar).

Już w latach 60-tych opisano badania wpływu pH gleby na produkcję antybiotyków przez promieniowce. Największą ilość związków przeciwbakteryjnych wytwarzały promieniowce posiane na gleby obojętne z 2,5% dodatkiem glukozy, podczas gdy na glebach kwaśnych i zasadowych również z dodatkiem glukozy, nie wykazano produkcji antybiotyku lub wykazano śladowe ilości związków przeciwbakteryjnych [50].

Badano również wpływ klimatu i urodzajności gleb na występowanie i zróżnicowanie promieniowców z ziemi [58]. Naukowcy z Chin (Yunan) pobrali próbki gleby z 22 różnych miejsc: terenów tropikalnych, subtropikalnych, górskich, o chłodnym klimacie, dziewiczych lasów, nieużytków, gruntów rolnych. Wyizolowali 29 rodzajów promieniowców, spośród których 4 zostały już wcześniej opisane. Największą ilość rodzajów promieniowców izolowano z gleb prastarych lasów (średnio 9 rodzajów/próbkę gleby), następnie z gruntów rolnych

(średnio 6 rodzajów/próbkę gleby). Promieniowce izolowane z gleb umiarkowanie urodzajnych i wilgotnych były najbardziej zróżnicowane. W glebach suchych i ubogich w roślinność, a także w bardziej ostrych warunkach klimatycznych izolowano mniej szczepów i należały one głównie do rodzaju *Streptomyces*. Z próbek gleby pozyskanych ze wszystkich miejsc także najczęściej izolowano szczepy z rodzaju *Streptomyces* [58].

Doniesienia naukowe o odkrywaniu nowych bioaktywnych metabolitów promieniowców izolowanych z ziemi pojawiają się coraz rzadziej. W 2011 r. Zin i wsp. opublikowali pracę dotyczącą izolacji dwóch szczepów promieniowców B8 i C2 należących do rodzaju *Streptomyces* z próbek ziemi otaczającej Uniwersytet Putra Malaysia w Malezji. Wytwarzały one związki o właściwościach przeciwbakteryjnych wobec *Bacillus* sp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*. Naukowcy ci badali też wpływ podłoża i temperatury inkubacji (28°C, 37°C) na wzrost promieniowców i produkcję wtórnych metabolitów. Zauważyli większy przyrost biomasy po inkubacji w niższej temperaturze (28°C). Oba szczepy wykazywały różnorodność wzrostu i produkcji metabolitów wtórnych w zależności od rodzaju podłoża i temperatury [60]. Badania te dowodzą, iż trudno jest zastosować na skalę komercyjną jednakowe podłoże dla wszystkich promieniowców, gdyż często preferują one inne źródła węgla, azotu, witamin. Niejednokrotnie jest to zależne od miejsca izolacji szczepu. Podłoża powinny być więc komponowane indywidualnie.

Promieniowce stanowią ważną populację mikroorganizmów w glebie. Szacuje się, iż stanowią 10% flory mikrobiologicznej ziemi [44]. Bakterie bytujące w glebie, często występują w tzw. ryzosferze roślinnej (strefie korzeniowej), mając wpływ na wzrost roślin i chroniąc ich korzenie od patogenów roślinnych (bakterii i grzybów chorobotwórczych). Przykładem, może być wyizolowany szczep *Streptomyces* AcH 505 wytwarzający auxofuran – związek przyspieszający i pozwalający na wystąpienie zjawiska mikoryzy (współzależności korzeni roślin z organizmami grzybów). Dodatkowo, auxofuran zapobiega zainfekowaniu korzeni roślin przez grzyby chorobotwórcze [44, 52].

Promieniowce bytujące w glebie mogą żyć w symbiozie z różnymi gatunkami roślin, a także grzybów. Przyczyniają się do ich lepszego wzrostu, ułatwiając pobieranie składników odżywczych. Mogą również wpływać na systemy obronne roślin, zwiększając ich odporność wobec bakterii i grzybów chorobotwórczych [44].

Istnieją doniesienia o pozyskiwaniu promieniowców z piasku pustynnego. Okoro i wsp. wyizolowali szczepy z pustyni Atakama w Ameryce Południowej [39]. Miejsce to uchodzi za najbardziej suchą pustynię świata. Użycie selektywnej metody izolacji promieniowców z bardzo suchych terenów Atakamy, pozwoliło

na wyhodowanie dużej ilości różnorodnych szczepów. Próbkę gleby mieszano z roztworem Ringera, uzyskując odpowiednie rozcieńczenia. Następnie mieszano w homogenizatorze i wytrząsano. Pobrane próbki nanoszono na płytki z 6 selektywnymi podłożami z dodatkiem antybiotyków (neomycyny, tetracykliny, rifampicyny), a także związków przeciwgrzybiczych (nystatyny, cykloheksimidu) i inkubowano w temperaturze 28°C przez 21 dni. Badania dowiodły, iż większość izolatów promieniowców należała do rodzaju *Amycolatopsis*, *Lechevalieria*, *Streptomyces*. Na podstawie cech morfologicznych wyizolowano 147 szczepów promieniowców. We wszystkich izolatach promieniowców z rodzajów *Amycolatopsis*, *Lechevalieria* i *Streptomyces* zidentyfikowano gen NRPS, odpowiedzialny za produkcję bioaktywnych związków o właściwościach przeciwgrzybiczych i przeciwnowotworowych [39].

Opisywano również izolację szczepów promieniowców z Pustyni Mojave w Kalifornii [51]. Z 9 próbek pobranych z różnych miejsc tej pustyni wyizolowano 335 szczepów promieniowców. Badano wpływ temperatury (27°–37°C) na liczbę i wielkość kolonii otrzymanych promieniowców. Liczba kolonii i ich wielkość była większa po inkubacji w temp 37°C. Wysznięto wnioski, iż optymalna temperatura do wzrostu promieniowców izolowanych z pustyni jest wyższa niż tych pozyskiwanych z gleby, co można też łatwo wytłumaczyć miejscem ich bytowania. Z 335 izolatów, tylko 2 produkowały związki bioaktywne: panosialinę (panosialin) o aktywności inhibicyjnej wobec enzymu glikozydazy, drugi-4-chlorotreoninę o właściwościach chwastobójczych. Wiele z wyizolowanych z pustyni szczepów należało do tzw. promieniowców rzadkich z rodzaju *Nocardia*, *Amycolatopsis*, *Actinomadura* oraz *Saccharothrix*. Natomiast z piasku pustynnego nie udało się wyhodować szczepów z rodzaju *Micromonospora*, wymagającego łagodniejszych warunków klimatycznych. Szacuje się, iż w 1g piasku pustynnego znajduje się od  $1 \times 10^3$  do  $1 \times 10^6$  kolonii promieniowców, podczas gdy w 1g gleby znajduje się  $1 \times 10^7$  tych kolonii. Piaski pustynne charakteryzują się więc ich mniejszym występowaniem [51].

Istnieją też doniesienia o izolacji promieniowców ze świeżych i opadłych liści m.in. igieł sosny, liści bambusa, drzewa wiśniowego, cedru japońskiego, krwawnicy, japońskiej róży oraz drzewa kamforowego. Z 15 pobranych próbek liści, wyizolowano 77 szczepów. Połowa z nich należała do tzw. promieniowców rzadkich, pozostałe do rodzaju *Streptomyces*. Z igieł sosny pozyskano szczep *Streptomyces* sp. K96-5794, który wytwarzał diketopiperazynę o właściwościach przeciwnowotworowych [51].

Szczepy należące do rodzajów *Streptomyces*, *Pseudonocardia* i *Amycolatopsis* wyizolowano z mrowisk mrówek tnących liście, żyjących w symbiozie z grzybem *Leucoagaricus gongylophorus* [43]. Odkryto, iż szczepy z rodzaju *Pseudonocardia* tworzą na powłokach mrówek biofilm,

chroniąc je przed różnymi patogenami. Promieniowce pozyskane z mrowisk wytwarzały związki należące do kandicydyn, antymycyn A1-A4 oraz walinomycyn, które posiadały właściwości przeciwdrobnoustrojowe i przeciw grzybom chorobotwórczym, przez co wpływały ochronnie na *Leucoagaricus gongylophorus* (grzyb żyjący w symbiozie z mrówkami). Aktywnomycyny silnie hamowały wzrost bakterii bytujących w glebie, a także innych promieniowców [43].

## 5. Promieniowce w środowisku morskim

Ważnym miejscem występowania promieniowców jest środowisko morskie. Pierwsze próby pozyskiwania promieniowców z mórz podjęto już w 1969 r. [61]. Jednak do tej pory wody mórz i oceanów nie budziły znacznego zainteresowania badaczy. Było to spowodowane m.in. tym, iż gleba dostarczała próbek bogatych w różnorodne promieniowce, a także panującą opinią, iż szczepy morskie i ich metabolity nie będą różnić się pod względem filogenetycznym, a także właściwościami biologicznymi od tych pozyskanych z gleby.

Obecnie uważa się że, oceany są największym źródłem mikroorganizmów i ich bioaktywnych metabolitów, gdyż pokrywają one 70% powierzchni Ziemi, a ich fauna i flora nie została jeszcze w większości odkryta [6].

Promieniowce występują w siedliskach morskich na różnych głębokościach m.in. na powierzchni wody, głębinach wodnych, osadach dennych, wolno-pływających i osiadłych bezkręgowcach, i kręgowcach morskich [56].

W 2008 r. liczba opisanych wszystkich metabolitów pochodzenia morskiego przekroczyła 1000 [8]. Produkty metabolizmu promieniowców morskich wykazują wiele aktywności biologicznych, a także charakteryzują się różnorodnymi strukturami chemicznymi, często odmiennymi od związków wytwarzanych przez promieniowce bytujące w glebie [61]. Metabolity produkowane przez promieniowce morskie często zawierają w swojej budowie chemicznej podstawniki halogenkowe, co odróżnia je od związków wytwarzanych przez te drobnoustroje w glebie.

Promieniowce morskie, w porównaniu do izolatów z gleby, są w warunkach laboratoryjnych trudne do hodowli ze względu na ich specyficzne wymagania środowiskowe (m.in. zawartość składników mineralnych w podłożu, stężenie chlorku sodu, ciśnienie, temperatura). Szacuje się iż tylko około 5% promieniowców morskich może być wyhodowana w standardowych warunkach laboratoryjnych [21]. Trwają prace na udoskonaleniu technik izolacji i hodowli promieniowców morskich. Jedną z nowych technik hodowli szczepów z gąbek i osadów dennych jest HTC (high-throughput cultivation), polegająca na naśladowaniu warunków panujących w naturze. Komórki drobnoustrojów zagęszcza

się poprzez odwirowanie w gradiencie, a następnie miesza z agarozą i olejem, w celu uzyskania mikrokropelek (microdroplets) o średnicy 20–70 µm. Większość mikrokropelek powinno zawierać pojedyncze komórki drobnoustrojów. Następnie mikrokropelki przenosi się do specjalnej, sterylnej komory fermentacyjnej wypełnionej podłożem i wyposażonej w filtry. Filtr końcowy umożliwia wypływ pojedynczych komórek drobnoustrojów i ich metabolitów. Metoda HTC pozwala oddzielić szybko rosnące bakterie od promieniowców rosnących wolno i zapewnia im odpowiednie warunki do wzrostu. Stosuje się podłoża ubogie w składniki odżywcze, naśladujące warunki, które panują w środowisku. Ponadto technika ta umożliwia komunikację między komórkami mikroorganizmów i tym samym również upodabnia panujące warunki do tych środowiskowych [18].

W badaniu przeprowadzonym przez I m a d a i wsp. porównywano wzrost szczepów promieniowców izolowanych ze środowiska morskiego i z gleby w Japonii. Drobnoustroje należące do rodzaju *Streptomyces* i *icromonospora*, pozyskane z Morza Japońskiego wykazywały większą tolerancję wobec wysokich stężeń soli (odpowiednio 12% i 5% chlorku sodu), w porównaniu do izolatów z ziemi, które w obecności soli nie wykazywały wzrostu ani produkcji wtórnych metabolitów [22].

Niektóre rodzaje promieniowców są charakterystyczne głównie dla środowiska morskiego m.in. *Salinispora*, *Marinispora*, *Aeromicrobium*, *Dietzia*, *Rhodococcus*, *Salinibacterium*, *Sciscionella*, *Serinicoccus* [55]. Jednakże z mórz i oceanów pozyskuje się także promieniowce należące do rodzajów, izolowanych z innych środowisk (gleby), np. *Actinomadura*, *Amycolatopsis*, *Frankia*, *Gordonia*, *Kitasatospora*, *Streptomyces*, *Micromonospora*, *Micrococcus*, *Nocardiosis*, *Saccharopolyspora*, *Solwaraspora*, *Verrucospora* [12]. Rodzaj *Streptomyces* wytwarza największe ilości bioaktywnych metabolitów również wśród producentów morskich [61].

Przykładami związków wytwarzanych przez promieniowce morskie są diazepinomycyna, abyssomycyna C [3], tiokoralina, salinosporamid A (Rys 1). Diazepinomycyna jest wytwarzana przez szczep *Micromonospora* sp. i posiada właściwości indukcji apoptozy. Abyssomycyna C to policykliczny poliketyd, który został wyizolowany jako metabolit szczepu *Verrucospora* sp. Posiada właściwości przeciwbakteryjne wobec metacylinoopornych szczepów *S. aureus* (MRSA), a także wobec *Mycobacterium tuberculosis* [61]. Tiokoralina, metabolit szczepu *Micromonospora marina*, bicykliczny okta-depsypeptyd posiada właściwości przeciwbakteryjne wobec *S. aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*. Tiokoralina wykazuje unikatowy mechanizm działania, inhibicji polimerazy DNA  $\alpha$ , co prowadzi do zakłócenia cyklu komórkowego i śmierci komórki bakteryjnej [61]. Jednakże stwierdzono również jej cytotoksyczność wobec komórek eukariotycznych [21]. Salinosporamid

posiada właściwości cytotoksyczne wobec linii komórek nowotworowych krwi (chłoniaków, białaczek), guzów twardych. Salinosporamid A jest metabolitem *Salinispora tropica*. Gatunki *S. tropica* i *Salinispora arenicola* posiadają specyficzne wymagania środowiskowe. Do swego wzrostu potrzebują w podłożu wysokich stężeń chlorku sodu [61].

Lucentamycyny, mansouramycyny A-D, tartrolon D, lodopyridon są metabolitami promieniowców izolowanych ze środowiska morskiego o właściwościach cytotoksycznych wobec linii komórek nowotworowych [7].

Trioksakarcyny są metabolitami *Streptomyces* sp. B8652 o właściwościach przeciwbakteryjnych, przeciwnowotworowych i przeciwmalarycznych [7]. Proksymycyny należą do antybiotyków o budowie aminofuranowej [8]. Są wytwarzane przez szczep promieniowca *Verrucospora maris*, wyizolowanego z osadów Morza Japońskiego i z innego gatunku *Verrucospora* sp. izolowanego z osadów fiordu w Norwegii. Proksymycyna B posiada właściwości przeciwbakteryjne wobec bakterii Gram-dodatnich, a proksymycyna C aktywność wobec *Brevibacillus brevis*. Wszystkie proksymycyny posiadają działanie przeciwnowotworowe (cytotoksyczność wobec linii komórek nowotworowych żołądka, wątroby, piersi) [8].

Cennym źródłem pozyskiwania promieniowców są bezkręgowce morskie, gąbki (Porifera). Zaobserwowano, iż promieniowce występują częściej w tych gąbkach, które zawierają inne różnorodne rodziny bakterii, w tym inne promieniowce [56]. W 2010 r. A b d e l m o h s e n i wsp. opublikowali pracę dotyczącą izolacji 90 szczepów promieniowców z 11 różnych rodzajów gąbek zebranych u wybrzeży Egiptu (Ras Mohamed) i Chorwacji (Rovinj) [1]. Promieniowce należały głównie do rodzajów *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Micromonospora*, *Microbacterium*, *Brevibacterium* i *Kocuria*. Cztery związki wytwarzane przez pozyskane szczepy promieniowców wykazywały działanie wobec bakterii Gram-dodatnich, a inne cztery właściwości przeciw *Trypanosoma brucei*, dwa związki działały na *Leishmania major* [1]. Z gąbek *Haliclona* sp. zebranych u wybrzeży Japonii, wyizolowano 3 nowe gatunki promieniowców: *S. tateyamensis* sp. nov., *S. marinus* sp. nov. and *S. haliclonae* sp. nov. Wszystkie izolaty wykazywały obfity wzrost na podłożach z 2–7% (m/v) dodatkiem NaCl; pH 6,0–8,0 (*S. marinus* sp. nov. pH 6,0–9,0), a także w temperaturze 15–37°C (*S. marinus* sp. nov. 20–30°C) [28].

W innej pracy opisano izolację 462 szczepów promieniowców z 18 różnych gąbek. Szczepy te należały do 19 rodzajów, jednakże większość z nich reprezentowała rodzaj *Streptomyces*, *Nocardia*, *Rhodococcus* i *Micromonospora*. Zróżnicowanie szczepów i ich obfitość występowania była zależna od budowy gąbki. Gąbki o gęsto ułożonych tkankach zawierały więcej mikroorganizmów, w tym promieniowców, niż te o tkankach luźno ułożonych [27].

Promieniowce występują również w osadach dennych. Z osadów Zatoki Bengalskiej i Morza Andamańskiego pobrano 4 różne próbki osadów, z których wyizolowano 42 szczepy promieniowców. 58% z nich wykazywało aktywność biologiczną wobec co najmniej jednej z bakterii testowych: *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *Salmonella typhi* [5].

## 6. Inne źródła

Istnieją liczne doniesienia naukowe o izolacji promieniowców z innych miejsc, niż wyżej wymienione, np. z lodowców i ziem Antarktyki.

Yan i wsp. izolowali mikroorganizmy z próbek śniegu i lodu pobranych we wschodniej części Antarktyki. Drobnoustroje należały do 5 różnych filogenetycznie grup: *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Alphaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* i *Bacteroidetes*. Najwięcej wyizolowanych szczepów (43%) reprezentowało klasę *Actinobacteria*. Promieniowce tam występujące zaklasyfikowano do rodzaju *Microbacterium*, *Dermacoccus*, *Kocuria*, *Clavibacter* oraz *Kytococcus* [59].

Promieniowce należące do rodzaju *Streptomyces*, *Actinomadura* i *Kitasatospora* zostały wyizolowane również z ziem Antarktyki. Z 47 szczepów promieniowców, 19 wykazywało aktywność biologiczną (przeciwbakteryjną wobec bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych) [36].

Opisano również pozyskanie promieniowców z Arktyki, potencjalnych inhibitorów biofilmu tworzonego przez *Vibrio cholerae*. Wyizolowano 31 szczepów promieniowców z 4 próbek osadów. Trzy z nich (A733 i A745 należące do rodzaju *Streptomyces* i A731 do *Nocardiosis*) wykazywały bioaktywność. Supernatant hodowli promieniowca A745 powodował około 88% zahamowanie formowania biofilmu, podczas gdy supernatanty hodowli szczepu A733 i A731 wykazywały 80% zahamowanie tworzenia biofilmu przez *V. cholerae* [38].

Innym, ciekawym źródłem promieniowców mogą być jaskinie. Jaskinie nie budziły dotychczas zainteresowania badaczy ze względu na ubogość środowiska w składniki odżywcze i niską temperaturę. Jednakże, duża wilgotność jaskiń sprzyja wzrostowi promieniowców. Nakae i wsp. opisali izolację promieniowców z jaskiń w Tajlandii [37]. Wyizolowali 377 szczepów, z których 55% należało do rodzaju *Streptomyces*, a pozostałe do tzw. promieniowców rzadkich (m.in. *Micromonospora*, *Catellatospora*, *Spirillospora*, *Nonomuraea*). Dwa ostatnie wymienione rodzaje zostały po raz pierwszy wyizolowane z ziemi z jaskiń [37].

Ciekawym źródłem pozyskiwania promieniowców są pajęczyny. W pracy Iwaki i wsp. zebrano 196 próbek pajęczyn, jaj pająków i innych pozostałości pająków, z których łącznie wyizolowano 1159 szczepów promieniowców. Eksperyment przeprowadzono w Japonii.

Z tej liczby, większość należała do rzędu *Streptomycetales* i *Micromonosporales* [23].

Promieniowce odgrywają ważną rolę w procesach rozkładu materii organicznej i ograniczaniu przykrego zapachu kompostu. Izoluje się je z kompostów, oborników, pasz zwierzęcych. Szczepy promieniowców izolowane z kompostu świń najczęściej należały do gatunku *Saccharomonospora viridis*, *Thermobifida fusca* i *Actinomadura* spp. Odkryto, iż *Thermobifida fusca* wytwarza wiele enzymów, m.in. celulazy, proteiny serynowe, liazy poligalakturonianowe, które mogą odgrywać ważną rolę w rozkładzie materii organicznej [19].

## 7. Podsumowanie

Ze względów ekonomicznych wiele dużych firm farmaceutycznych, głównie nastawionych na zyski, zaprzestało poszukiwań nowych związków bioaktywnych (przeciwbakteryjnych), będąc bardziej zainteresowane poszukiwaniem leków na choroby przewlekłe. Jednakże wiele mniejszych, wyspecjalizowanych firm biotechnologicznych/ farmaceutycznych, a także instytucje naukowe stale poszukują nowych źródeł izolacji promieniowców oraz metabolitów o ciekawych strukturach i mechanizmach działania [6].

Promieniowce izoluje się z bardzo wielu miejsc na Ziemi, a szczególnie powszechnie występują w glebie. Oszacowano, iż ze źródeł morskich są one izolowane  $10^4$  rzadziej niż z gleby. Szczególną różnorodność promieniowców wykazują gleby urodzajne w wilgotnych strefach klimatycznych tropikalnych i subtropikalnych. Mniej promieniowców izoluje się z terenów suchych (piasków pustynnych) i miejsc o ostrym klimacie (ziem Antarktyki). Promieniowce mają zdolność dostosowywania się do warunków klimatycznych (wilgotności, nasłonecznienia oraz temperatury). Rodzaj *Streptomyces* bardzo powszechnie występuje we wszystkich miejscach na Ziemi. Metabolity promieniowców były, są i będą obiektem zainteresowań badaczy ze względu na oryginalność ich struktur chemicznych, a także ze względu na zróżnicowanie ich właściwości biologicznych i mechanizmów działania. Tak dużą różnorodność strukturalną związków chemicznych trudno uzyskać w wyniku syntezy chemicznej w laboratorium. Metabolity wtórne promieniowców mogą być nie tylko potencjalnymi lekami, ale także posłużyć jako struktury modelowe do dalszych modyfikacji chemicznych, mających na celu poprawę ich właściwości biologicznych.

## Podziękowania

Praca jest współfinansowana ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, 2007–2013; projekt „Potencjalny antybiotyk oraz metoda pozyskiwania nowych związków przeciwbakteryjnych” nr: UDA-POIG.01.03.01-14-136/09.

## Piśmiennictwo

- Abdelmohsen U.R., Pimentel-Elardo S.M., Hanora A., Radwan M., Abou-El-Ela S.H., Ahmed S., Hentschel U.: Isolation, Phylogenetic Analysis and Anti-Infective Activity Screening of Marine Sponge-Associated Actinomycetes. *Mar. Drugs*, **8**, 399–412 (2010)
- Albouy R., Duchesnay G., Eloy P., Pestel M., RVINA A., Rey M.: A new French antibiotic: spiramycin. *Antibiot. Annu.* **3**, 223–227 (1955–1956)
- Baltz R.H.: Renaissance in antibacterial discovery from actinomycetes. *Curr. Opin. Pharmacol.* **8**, 557–563 (2008)
- Barber M., Waterworth P.M.: Antibacterial activity of lincomycin and pristinamycin: a comparison with erythromycin. *Brit. Med. J.* **2**, 603–606 (1964)
- Baskaran R., Vijayakumar R., Mohan P.M.: Enrichment method for the isolation of bioactive actinomycetes from mangrove sediments of Andaman Islands, India. *Malaysian J. Microbiol.* **7**, 26–32 (2011)
- Bérdy J.: Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. *J. Antibiot.* **65**, 385–395 (2012)
- Bhatnagar I., Kim S.-K.: Immense Essence of Excellence: Marine Microbial Bioactive Compounds. *Mar. Drugs* **8**, 2673–2701 (2010)
- Blunt J.W., Copp B.R., Munro M.H.G., Northcote P.T., Prinsep M.R.: Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* **27**, 165–237 (2010)
- Boothe J.H., Morton J., Petisi J.P., Wilkinson R.G., Williams J.H.: Tetracycline. *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 4621 (1953)
- Cynamon M.H., Granato P.A.: Comparison of the *In vitro* Activities of Teichomycin A<sub>2</sub> and Vancomycin Against Staphylococci and Enterococci. *Antimicrob. Agents Chemother.* **21**, 504–505 (1982)
- De Somer P., Van Dijk P.: A preliminary report on antibiotic number 899, a streptogramin-like substance. *Antibiot. Chemother.* **5**, 632 (1955)
- Dharmaraj S.: Marine *Streptomyces* as a novel source of bioactive substances. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **26**, 2123–2139 (2010)
- Ehrlich J., Gottlieb D., Burkholder P.R., Anderson L.E., Pridham T.G.: *Streptomyces venezuelae*, n. sp., the source of chloromycetin. *J. Bacteriol.* **56**, 467–477 (1948)
- Finlay A.C., Hobby G.L. i wsp.: Terramycin, a new antibiotic. *Science*, **111**, 85 (1950)
- Gerber N.N., Lechevalier H.A.: Geosmin, an Earthy-Smelling Substance Isolated from Actinomycetes. *Appl. Microbiol.* **13**, 935–938 (1965)
- Goodfellow M., Fiedler H.P.: A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematics. *Antonie van Leeuwenhoek*, **98**, 119–142 (2010)
- Goodfellow M., Kämpfer P., Busse H.J., Trujillo M.E., Suzuki K., Ludwig W., Whitman W.B.: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd Ed., Vol. 5: The Actinobacteria. Part B, Springer Verlag, New York, Dordrecht, Heidelberg, London, 2012
- Hames-Kocabas E.E., Uzel A.: Isolation strategies of marine-derived actinomycetes from sponge and sediment samples. *J. Microbiol. Meth.* **88**, 342–347 (2012)
- Hayakawa M., Yamamura H., Nakagawa Y., Kwa Y., Hayashi Y., Misonou T., Kaneko H.: Taxonomic diversity of Actinomycetes Isolated from Swine Manure Compost. *Actinomycetologica*, **24**, 58–62 (2010)
- Hopwood D.A.: *Streptomyces* in Nature and Medicine. The Antibiotic Makers. Oxford University Press, New York 2007, s. 8–23
- Hughes Ch.C., Fenical W.: Antibacterials from the Sea. *Chemistry*, **16**, 12512–12525 (2010)
- Imada Ch., Masuda S., Kobayashi T., Hamada-Sato N., Nakashima T.: Isolation and Characterization of Marine and Terrestrial Actinomycetes Using a Medium Supplemented with NaCl. *Actinomycetologica*, **24**, 12–17 (2010)
- Iwai K., Iwamoto S., Aisaka K., Suzuki M.: Isolation of Novel Actinomycetes from Spider Materials. *Actinomycetologica*, **23**, 8–15 (2009)
- Jiang J., He X., Cane D.E.: Biosynthesis of the earthy odorant geosmin by a bifunctional *Streptomyces coelicolor* enzyme. *Nat. Chem. Biol.* **3**, 711–715 (2007)
- Jones D., Metzger H.J., Schatz A., Waksman S.A.: Control of Gram-negative bacteria in experimental animals by streptomycin. *Science*, **100**, 103–105, (1944)
- Kahan J.S., Birnbaum J. i wsp.: Thienamycin, a new  $\beta$ -lactam antibiotic. I Discovery, taxonomy, isolation and physical properties. *J. Antibiot.* **32**, 1–12 (1979)
- Khan S.T., Takagi M., Shin-ya K.: Diversity, Salt Requirement, and Antibiotic Production of Actinobacteria Isolated from Marine Sponges. *Actinomycetologica*, **24**, 18–23 (2010)
- Khan S.T., Tamura T., Takagi M., Shin-ya K. *Streptomyces tateyamensis* sp. nov., *Streptomyces marinus* sp. nov. and *Streptomyces haliclona* sp. nov., isolated from the marine sponge *Haliclona* sp. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **60**, 2775–2779 (2010)
- Kumar N., Singh R.K., Mishra S.K., Singh A.K., Pachouri U.C.: Isolation and screening of soil Actinomycetes as a source of antibiotics active against bacteria. *Int. J. Microbiol. Res.* **2**, 12–16 (2010)
- Lin F.K., Coriell L.L.: Novobiocin, a laboratory and clinical evaluation. *Antibiot. Med. Clin. Ther.* **2**, 268–276 (1956)
- Marmell M., Prigot A.: Oleandomycin; a report on its use in gonorrhoea in the male. *Antibiot. Annu.* 44–47 (1956–1957)
- McCormick M.H., McGuire J.M., Pittenger G.E., Pittenger R.C., Stark W.M.: Vancomycin, a new antibiotic. I. Chemical and biological properties. *Antibiot. Annu.* **3**, 606–611 (1955–1956)
- Meyer C.E., Lewis C.: Absorption and fate of lincomycin in the rat. *Antimicrob. Agents Chemother.* **161**, 169–175 (1963)
- Meyer R.D., Young L.S., Armstrong D.: Tobramycin (nebramycin factor 6): in vitro activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Microbiol.* **22**, 1147–1151 (1971)
- Miao V., Baltz R.H.: Daptomycin biosynthesis in *Streptomyces roseosporus*: cloning and analysis of the gene cluster and revision of peptide stereochemistry. *Microbiology*, **151**, 1507–1523 (2005)
- Moncheva P., Tishkov S., Dimitrova N., Chipeva V., Antonova-Nikolova S., Bogatzevska N.: Characteristics of soil actinomycetes from Antarctica. *J. Culture Collections*, **3**, 3–14 (2002)
- Nakaew N., Pathom-aree W., Lumyong S.: Generic Diversity of Rare Actinomycetes from Thai Cave Soils and Their Possible Use as New Bioactive Compounds. *Actinomycetologica*, **23**, 21–26 (2009)
- Nimmy A., Wilson P.A., Savita K., Sabu T.: Arctic Actinomycetes as Potential Inhibitors of *Vibrio cholerae* Biofilm. *Curr. Microbiol.* **64**, 338–342 (2012)
- Okoro Ch.K., Brown R., Jones A.L., Andrews B.A., Asenjo J.A., Goodfellow M., Bull A.T.: Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the Atacama Desert, Chile. *Antonie van Leeuwenhoek*, **95**, 121–133 (2009)
- Osada Ch. i wsp.: List of new scientific names and nomenclatural changes in the class *Actinobacteria* validly published in 2011; *SAJ NEWS*, **26**, S4–S22 (2012)
- Rogers T.O., Birnbaum J.: Biosynthesis of Fosfomycin by *Streptomyces fradiae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **5**, 121–132 (1974)
- Rosset J.P., Marquez J., Meseck E., Murawski A., Hamdan A., Joyner C., Schmidt R., Migliore D., Herzog H.L.: Isolation,



- purification, and characterization of gentamicin. *Antimicrob. Agents Chemother.* **161**, 14–16 (1963)
43. Schoenian I., Spitteller M., Ghaste M., Wirth R., Herz H., Spitteller D.: Chemical basis of the synergism and antagonism in microbial communities in the nests of leaf-cutting ant. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **108**, 1955–1960 (2011)
  44. Schrey S.D., Tarkka M.T.: Friends and foes: streptomycetes as modulators of plant disease and symbiosis. *Antonie van Leeuwenhoek*, **94**, 11–19 (2008)
  45. Shull G., Sardinas J.: PA-94, an antibiotic identical with D-4-amino-3-isoxazolidone (cycloserine, oxamycin). *Antibiot. Chemother.* **6**, 708 (1956)
  46. Solanki R.: Bioactive compounds from marine actinomycetes. Review. *Ind. J. Microbiol.* **48**, 410–431 (2008)
  47. Sparling P.F., Yobs A.R., Billings T.E., Hackney J.F.: Spectinomycin sulfate and aqueous procaine penicillin G in treatment of female gonorrhea. *Antimicrob. Agents Chemother.* **5**, 689–692 (1965)
  48. Stapley E.O., Jackson M., Hernandez S., Zimmerman S.B., Currie S.A., Mochales S., Mata J.M., Woodruff H.B., Hendlin D.: Cephamycins, a New family of  $\beta$ -lactam antibiotics. I. Production by Actinomycetes, including *Streptomyces lactamdurans*, sp n.. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2**, 122–131 (1972)
  49. Starościk B.J., Stefańska J., Betlejeska K., Laudy A.E., Filipek J., Kurzątkowski W., Solecka J., Rozbicka B.: Wybrane Zagadnienia z Mikrobiologii Farmaceutycznej. Zeszyt 2. Promieniowce. Akademia Medyczna w Warszawie 1998
  50. Stevenson I.L.: Antibiotic Activity of Actinomycetes in Soil and their Controlling Effects on Root-rot of Wheat. *J. Gen. Microbiol.* **14**, 440–448 (1956)
  51. Takahashi Y., Omura S.: Isolation of new actinomycete strains for the screening of new bioactive compounds. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **49**, 141–154 (2003)
  52. Tarkka M.T., Lehr N.A., Hampp R., Schrey S.D. Plant behavior upon contact with Streptomycetes. *Plant Signaling and Behavior*, **3**, 917–919 (2008)
  53. Umezawa H., Ueda M., Maeda K., Yagishita K., Kondo S., Okami Y., Utahara R., Osato Y., Nitta K., Takeuchi T.: Production and isolation of a new antibiotic: kanamycin. *J. Antibiot.* **10**, 181–188 (1957)
  54. Vannucchi V.: Clinical study of a new antibiotic; erythromycin. *Riv. Crit. Clin. Med.* **52**, 128–136 (1952)
  55. Waksman S.A., Lechevalier H.A.: Neomycin, a New Antibiotic Active against Streptomycin-Resistant Bacteria, including Tuberculosis Organisms. *Science*, **109**, 305–307, (1949)
  56. Ward A.C, Bora N.: Diversity and biogeography of marine actinobacteria. *Curr. Opin. Microbiol.* **9**, 279–286 (2006)
  57. Wright L.T., Sanders M. i wsp.: Aureomycin; a new antibiotic with virucidal properties; a preliminary report on successful treatment in 25 cases of lymphogranuloma venereum. *J. Am. Med. Assoc.* **138**, 402–412 (1948)
  58. Xu L-H., Li Q-R., Jiang C-L.: Diversity of Soil Actinomycetes in Yunann, China. *Applied and Environmental Microbiol.* **62**, 244–248 (1996)
  59. Yan P., Hou S., Chen T., Ma X., Zhang S.: Culturable bacteria isolated from snow cores along the 1300 km traverse from Zhongshan Station to Dome A, East Antarctica. *Extremophiles*, **16**, 345–354 (2012)
  60. Zin N.Z.M., Tasrip N.A., Desa M.N.M., Kqueen Ch.Y., Zakaria Z.A., Hamat R.A., Shamsudin M.N.: Characterization and antimicrobial activities of two *Streptomyces* isolates from soil in the periphery of Universiti Putra Malaysia. *Trop. Biomed.* **28**, 651–660 (2011)
  61. Zotchev S.B.: Marine actinomycetes as an emerging resource for the drug development pipelines. *J. Biotechnol.* **158**, 168–175 (2012)