

**Р.Ж. Бержанова, Т.Д. Мукашева, М.Х. Шигаева, Р.К. Сыдыкбекова, Л.В. Игнатова, Ж.К. Исакова,  
Д. Дуйсембинова, А. Алашбаева, А.А. Сартаева**

**СООБЩЕСТВА АКТИНОМИЦЕТОВ РОДА *STREPTOMYCES* В ПОДЗОНАЛЬНЫХ  
ПОДТИПАХ ПОЧВ РАВНИННОЙ ТЕРРИТОРИИ КАЗАХСТАНА**

(Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы)

Известно, что представители рода *Streptomyces* являются наиболее распространенным родом актиномицетов в почвенном комплексе. Актиномицеты живут в различных почвах, особенно часто их обнаруживают в подзолистых и красноземах [1]. Ряд исследователей из различных типов почв впервые выделили штамм 19/97М *Streptomyces lateritius Sveschnikova* и проведены исследования по твердофазному культивированию биологически активного штамма на коре пихты и лиственницы и древесной зелени пихты [2, 3].

Ряд авторов проводили исследования динамики изменений в структуре сообщества актиномицетов чернозема обыкновенного и показали, что в сообществе стрептомицетов верхнего слоя почвы во все сезоны высокую долю участия имеют *St.sporoherbeus* секция *Azureus* серии *Coerulescens* и *St.grisinus* из секции *Cinereus* серии *Achromogenes* (21-24 и 11-17% соответственно). Тогда как в слое 10-20 см весной и осенью доминирующее положение занимал *St.sporoherbeus*, а летом – *St. grisinus* и *St. dayalbaghensis* из секции *Albus* серии *Albocoloratus*. В нижележащем слое (20-30 см) в весенний и летний периоды наибольшая доля участия характерна для *St.violaceomaculatus* из секции *Roseus* серии *Roseovilaceus*, а осенью- *St.enduracidicus* из секции *Cinereus* серии *Chromogenes*, *St.grisinus* и *St.sporoherbeus* [4].

**Материалы и методы исследований**

Для определения видов актиномицетов были изучены следующие диагностические признаки [5, 6]. Морфологические – форма цепочек спор и характер поверхности оболочки спор. Для изучения морфологического строения репродуктивных структур культуры актиномицетов выращивали на среде овсяной агар в чашках Петри. Тип образования цепочек и характер поверхности спор определяли у зрелых культур обычно на 7-14-й день роста, иногда более поздние сроки. Кусочек агара с мицелием помещали на предметное стекло, срезав бритвой предварительно весь лишний агар, и просматривали под микроскопом МОТІС ВА 300. Для обнаружения изомеров ДАПК биомассу актиномицетов в количестве одной микробиологической петли помещали в маленькую пробирку и заливали 0,1 мл 6 н. НСІ. Проводили разделение аминокислот с использованием растворителей: метанол: дистиллированная вода: 6 н. НСІ:пиримидин [7]. Культуральные свойства - цвет воздушного и субстратного мицелия, цвет растворимых пигментов окрашивающих среду, производили на 7-, 14- и 21-й день роста культуры. Субстратный мицелий со спорами наблюдали, используя метод можно желобка. Актиномицеты выращивали на агаризованной овсяной среде, используя метод желобка. В агаровой пластинке в чашке Петри вырезали стерильным скальпелем желобок шириной в 1 см на всю глубину агара. Края желоба засевают культурой актиномицета. На засеянные участки желобка помещали предметное стерильное стекло. Чашки инкубировали в термостате при температуре роста актиномицета. Стекла снимали с агара, фиксировали жидкостью Карнуа, окрашивали метиленовым синим (водный 1 %-й раствор) и рассматривали под микроскопом.

**Результаты и обсуждения**

Актиномицеты широко распространены в природе и основным местом их обитания является почва. При изучении распространения актиномицетов в почвах немалую роль играет видовой их состав. При изучении различных типов почв Казахстана была установлена смена доминирующих форм.

Результаты исследований показали, что отдельные типы почв имеют характерные спектры доминирующих форм микроорганизмов. Некоторые виды могут встречаться в разнообразных почвах. Доминирующее положение в черноземе обыкновенном занимали актиномицеты рода *Streptomyces*. На питательных средах доминировали кожистые обособленные колонии, на поверхности которых воздушный мицелий образовывал хлопьевидные переплетения. Актиномицеты рода *Streptomyces* были обнаружены во всех типах почв Казахстана на глубине 0-10 и 10-20 см. Каждый тип почвы характеризовался специфическим спектром наиболее распространенных видов стрептомицетов. Все выделенные стрептомицеты распределяли согласно принципу классификации, предложенной Г.Ф. Гаузе. При этом было установлено, что большинство актиномицетов по цвету воздушного мицелия принадлежали к следующей секции *Albus*, *Imperfectus*, *Helvoflavus* и *Cinereus*. А по цвету субстратного мицелия на минеральной среде стрептомицеты каждой секции подразделяются на серии *Aureus*, *Albus*, *Roseus* и *Cinereus*. Если образуется темно-зеленый, бурый или черный растворимый

пигмент, то считается, что культура образует меланоидные пигменты. Такие культуры встречались только в бурой пустынной почве.

Идентичные штаммы стрептомицетов группировали на основании морфологических (строение репродуктивных структур) и культуральных признаков (окраска воздушного и субстратного мицелия, образование растворимых пигментов и характер роста культур) при росте на крахмало-казеиновой среде. Для определения видовой принадлежности исследовали морфологические и культуральные признаки, строение органов спороношения на среде овсяной агар. При определении видов у актиномицетов также учитывали их способность образовывать красящее вещество (пигменты), диффундирующие в среду. У представителей рода *Streptomyces* – колонии часто кожистые и обособленные, поверхность вначале гладкая, а на 14 суток формируются переплетения воздушного мицелия. Воздушный мицелий состоит из различных спор, образуя цепочки спор на ветвях воздушного мицелия, спиральные цепочки спор с хорошо развитыми правильными, растянутыми спиралями, число спиралей от 2 до 5. Воздушный мицелий белый. Цвет субстратного мицелия определяли по цвету обратной стороны колонии. Если цвет субстратного мицелия изменяется в процессе роста культур, то последний цвет будет основным. Цвет субстратного мицелия описывали на овсяном агаре на 7-, 14- и 21-й день роста культуры. Диагностическую ценность имеет только хорошо выраженная окраска. Грамположительные, растут при температуре 25 – 30<sup>0</sup>С. У этих культур в клеточной стенке пептидогликана содержится LL-ДАПК. Все изученные культуры этого рода выделяют пигменты, диффундирующие в культуральную среду (рисунок 1). Все культуры каталазоположительные. Различаются между собой по разложению крахмала, желатин и казеина. Из культуральных показателей для разделения актиномицетов на группы наиболее значима окраска культур - пигментация. По этому признаку представители рода *Streptomyces* поделили на две группы - бесцветные и пигментированные.

Анализируя таблицу 1 можно сказать, что в каждом типе почвы имеется специфический спектр распространенных видов актиномицетов рода *Streptomyces*.

Для большинства видов стрептомицетов отмечена явная приуроченность к определенному типу почв. Род *Streptomyces* встречается во всех типах почв Казахстана. Из них наиболее распространенный вид это *S.albus*, который встречался почти во всех исследованных образцах почвы.

Представители вида *S.coelicolor* выделены из серобурой пустынной, бурой пустынной, светло-каштановой щелочной и среднекаштановой почве.

Культуры *S.griseoflavus* и *S. cyaneus* главным образом выделялись только из бурой пустынной почвы Карагандинской области. Вид *S. cyaneus* можно считать основным представителем типичного чернозема.

Таблица 1 - Распределение доминантных видов представителей рода *Streptomyces* в почвах различных типов (тыс. КОЕ/г почвы)

Тип почв	<i>S. coelicolor</i>	<i>S. griseoflavus</i>	<i>S.albus</i>	<i>S. cyaneus</i>	<i>S.capuensis</i>
Серобурая, пустынная, Алматинская обл.	1,5		2,8		
Серобурая, пустынная, Карагандинская обл.			11,2	11,8	
Серобурая, пустынная, Жамбылская обл.					
Бурая пустынная, Карагандинская обл.	0,5	21,5		3,1	
Светло-каштановая, щелочная, Карагандинская обл.	0,1				
Среднекаштановая, Карагандинская обл.	1,1		10,2		50,3
Темно-каштановая, карбонатная, Акмолинская область, Жаркаинский район					
Темно-каштановая, карбонатная, Акмолинская область, Ерейментауский район			1,2		
Чернозем обыкновенный, Северо-казахстанская область					
Чернозем южный, Акмолинская область, Зерендинский район				12,3	
Чернозем южный, Костанайская область				8,9	

Следует отметить, что культура *Streptomyces capuensis* выявлена только в среднекаштановой почве Карагандинской области, а в других исследованных почвенных образцах практически отсутствовала (рисунок 1).



*Streptomyces coelicolor*

*Streptomyces griseoflavus*

Рисунок 1 – Макроморфология и микроморфология актиномицетов рода *Streptomyces*

Стрептомицеты делятся на две группы. Первые при росте на питательных средах есть культуры, которые не образуют красящие вещества. К ней отнесена только одна культура *Streptomyces cyaneus*. Воздушный мицелий таких актиномицетов может быть белым, светло-серым, кремовым, нижняя сторона колонии бесцветная. Актиномицеты второй группы образуют красящие вещества - пигменты. Колонии этих культур при росте на питательных средах приобретали различную окраску: синюю, фиолетовую, желтую, оранжевую, черную, коричневую. По этому признаку культуры *Streptomyces griseoflavus*, *Streptomyces albus*, *Streptomyces coelicolor* и *Streptomyces capuensis* отнесены к актиномицетам второй группы.

Внешний вид колоний актиномицетов также различен: колонии бывают с гладкой, бугристой, складчатой и зернистой поверхностью. Воздушный мицелий у всех изученных актиномицетов формировался на поверхности колонии. Нити его отходят от мицелия колонии, разрастаются в густую пушистую, бархатистую или мучнистую массу. У культуры *Streptomyces griseoflavus* – колонии округлой формы, поверхность морщинистая, характерен белый воздушный мицелий, субстратный мицелий темно-коричневого цвета, при росте на глюкозо-дрожжевой среде образуют черный растворимый пигмент, выделяющийся пигмент окрашивает среду, это связано с образованием меланоидных пигментов. При изучении морфологических признаков было установлено, цепочки спор спиральные. Данная культура отнесена серии *Albus* и представлена видом *Streptomyces griseoflavus* (рисунок 2).

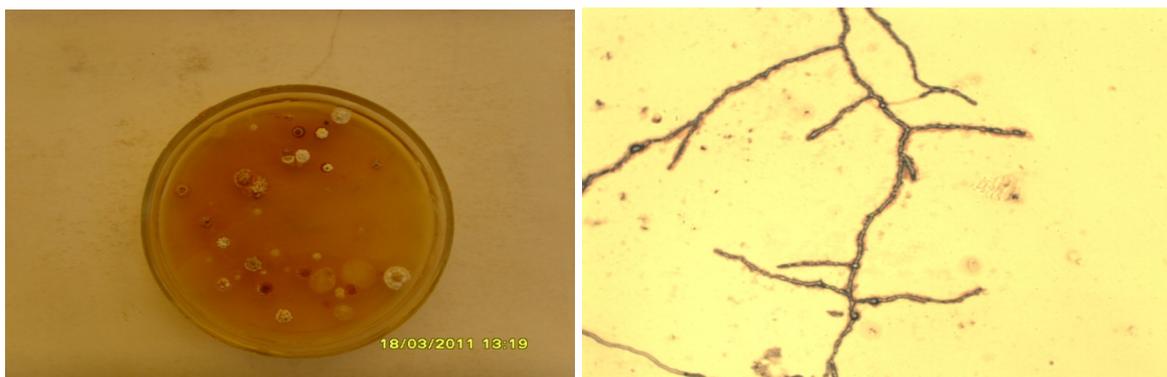


Рисунок 2 – Мицелий со спиралями у актиномицетов вида *Streptomyces coelicolor*

*Streptomyces albus* цепочки спор в виде крючков, спирали с одним завитком, споры гладкие, на среде глицерин – нитратный агар колонии округлой формы, поверхность морщинистая, субстратный мицелий темно-бурого цвета, а воздушный мицелий серый с различными оттенками, меланоидные пигменты не образует.

К серии *Helvoloflavus* отнесен вид *Streptomyces cyaneus* на среде глицерин – нитратный агар колонии оранжевого цвета округлой формы, поверхность выпуклая морщинистая, не выделяет пигмент в среду, воздушный мицелий желтоватый, субстратный оранжевый.

Представители секции *Cinereus* отнесены к виду *Streptomyces coelicolor* на среде глицерин – нитратный агар колонии округлой формы, поверхность морщинистая, выделяют растворимые

пигменты, окрашивающие среду, субстратный мицелий буроватого цвета, воздушный мицелий серый с различными оттенками. У этой культуры цепочки спор прямые, волнистые.

Культура, отнесенная к серии *Imperfectus*, идентифицирована как *Streptomyces capuensis* – колонии черного цвета, поверхность гладкая, но со временем поверхность становится морщинистой, выделяет темно бурый пигмент в среду, характерен специфический запах; субстратный мицелий темно коричневого цвета, а воздушный мицелий плохо развит.

Исследования целинного состояния подзональных подтипов почв равнинной территории Казахстана показали, что во всех типах почв выявлены стрептомицеты, и представлены следующими видами: *Streptomyces griseoflavus* *Streptomyces albus*, *Streptomyces cyaneus* и *Streptomyces coelicolor*.

1 Гришко В.Н., Сыщикова О.В. Сообщества актиномицетов рода *Streptomyces* в почвах, загрязненных тяжелыми металлами // Почвоведение. - 2009. - № 2. - С. 235-243.

2 Звягинцев Д.Г., Зенова Г.М., Оборотов Г. В. Мицелиальные бактерии засоленных почв // Почвоведение. - 2008. - № 10. - С. 1250-1257.

3 Зенова Г.М., Грядунова А.А., Поздняков А.И., Звягинцев Д.Г. Аэробные и микрофильные актиномицеты агротрофной и трофной типичных почв // Почвоведение. - 2008. - №2. - С. 235-240.

4 Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М., Полянская Л.М. Разнообразие грибов и актиномицетов и их экологические функции // Почвоведение. - 1996. - №6. – С. 705-713.

5 Гаузе Г.Ф., Т.П. Преображенская, Свешникова М.А, Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов.- М.: Наука, 1983. - 258 с.

6 West M. J., Williams S.T., Embley T.M., Munro J.C. Using bacteriophages for skringing of soil and soil isolates on presence of specific *Actinomyces* // The 9-th Intern. Sym. on the Biol. of *Actinomyces*. - Moscow, 1994.

7 Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. - Изд-во МГУ, 1991. - С. 131 – 132.

\*\*\*

Қазақстан топырағынан бөлініп алынған актиномицеттердің түрлік құрамы алуантүрлі. Барлық топырақ үлгілерінен стрептомицеттер бөлініп алынды және келесі түрлермен белгіленді: *Streptomyces griseoflavus* *Streptomyces albus*, *Streptomyces cyaneus* және *Streptomyces coelicolor*.

\*\*\*

Species composition of actinomycetes from soil of Kazakhstan is very diverse. In all types of soil found streptomycetes and are represented by the following species: *Streptomyces griseoflavus* *Streptomyces albus*, *Streptomyces cyaneus* and *Streptomyces coelicolor*.

**Т.Д. Мукашева, М.Х. Шигаева, Р.Ж. Бержанова, Р.К. Сыдыкбекова,**

**Л.В. Игнатова, Д. Даутова, А. Алашбаева, А.А. Сартаева**

## **РАЗРАБОТКА РЕГЛАМЕНТА ПОЛУЧЕНИЯ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ КОМПОЗИЦИЙ ИЗ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ И ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ БИОРЕМЕДИАЦИИ**

(Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы)

Использование препаратов на основе микроорганизмов, состоящих из различных штаммов, способных окислять углеводороды нефти, приводит к ускорению процесса очистки почвы. В условиях повышенного уровня загрязнения природной среды нефтью и нефтепродуктами необходимо применять препараты из композиции из разных видов нефтеокисляющих микроорганизмов. Так, в России наиболее известными из них являются «Путидойл», «Деворойл», «Биодеструктор», «Экойл», «Олеворин», «Родотрин», «Микрозим™ Петро тит», «Эконадин». В Казахстане разработана композиция на основе природных штаммов *Pseudomonas putida* ГНПО ПЭ-Р-6, *Pseudomonas fluorescens* ГНПО ПЭ-Р-5, *Bacillus subtilis* ГНПО ПЭ-Р-7 и комплекса минерального удобрения - дигидрофосфата аммония и гидрофлорида калия [1].

Препараты, разработанные в России не применимы в условиях Казахстана. Для использования таких препаратов для очистки почвогрунтов и нефтешламов необходимо создания особых условий с учетом климатических параметров. Использование зарубежных препаратов нерационально. Эти препараты отличаются дороговизной для казахстанских потребителей. В связи с этим при разработке биопрепаратов для очистки почвогрунтов и нефтешламов актуальной задачей является создание многокомпонентных композиции из нефтеокисляющих микроорганизмов.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Углеводородокисляющие микроорганизмы: *Mycobacterium thermoresistibile* 119-3ГМ, *Rhodococcus equi* 51КС, *Mycobacterium sp.* 222АТ, *Mycobacterium sp.* 229С3; *Rhodococcus sp.* 1С3, *Rhodococcus sp.* 115КК; *Bacillus sp.* 26АТ, *Bacillus sp.* 114КС; *Pseudomonas sp.* 122АС и культуры дрожжей *Candida nitratiovorans* В1, *Candida chilensis* В2, *Trichosporon cutaneum* Р20СО2 и *Trichosporon terrestrе* СМ7 [2].