

12 Коваленко Н.К., Подгорский В.С., Касумова С.А. Адгезия молочнокислых бактерий к эпителию различных полостей организма человека // Микробиол. журн. – 2004. – Т. 66, №4. – С. 62-68.

\*\*\*

Биологиялық және технологиялық лактобацилла штамдарының сәйкестілігі анықталады. Үш штамнан құралатын композиция *L.fermentum* АК-2R, *L.acidophilus* АА-1, *L.plantarum* АР-1 жасалынды. Композицияға үш штамм кірді, олар антагонисттік бейсенділігімен ерекшеленеді. Пробиотикалық консорциум қабілеттілігін кеңейтеді.

\*\*\*

In the result of doing work has appointed determinant biological and technological compatibility of 3 lactobacillus strains. Was composed the composition of 3 lactobacillus strains: composition *L.fermentum* АК-2R, *L.acidophilus* АА-1, *L.plantarum* АР-1. Strains of which differentiated for antagonistic activity was extensions in composition. It extend spectrum of consortium probiotal effect.

**Р.К. Сыдыкбекова<sup>1</sup>, М.Т. Каргаева<sup>2</sup>, М.Х. Шигаева<sup>1</sup>, Т.Д. Мукашева<sup>1</sup>, Р.Ж. Бержанова<sup>1</sup>,  
Л.В. Игнатова<sup>1</sup>, Е.В. Бражникова<sup>2</sup>**

## **РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ В ЦЕЛИННЫХ ПОЧВАХ РАВНИННОЙ ТЕРРИТОРИИ КАЗАХСТАНА**

(<sup>1</sup> КазНУ им. аль-Фараби, факультет биологии и биотехнологии, кафедра биотехнология, <sup>2</sup>НИИ проблем биологии и биотехнологии, г. Алматы.)

*В работе изучены распределение грамположительных бактерий в целинных почвах равнинной территории Казахстана. Видовая структура грамположительных бактерий основных типов почв Казахстана была разнообразна. Во всех типах почв доминировали представители бактерий рода Bacillus и Rhodococcus. В серобурых пустынных почв Казахстана доминировали виды Bac. megaterium, Bac. mycoides, Rh. roseus. В бурой пустынной, светло и средне каштановых почвах в большом количестве обнаружены виды Bac. megaterium и Rh. erythropolis, в темнокаштановой почве Bac. megaterium и Rh. equi, а в черноземах доминировали Rh. erythropolis, Rh. aetherevorans, Rh. Baikonurensis, Bac. megaterium.*

Интерес к изучению микробных сообществ почв в значительной степени обусловлен их ролью в биогеохимических циклах элементов, сохранении питательных ресурсов в пределах экосистемы и формировании плодородия почв. Для того чтобы понять функционирование почвы как системы, необходимо знание, как количественной характеристики микробного сообщества, так и качественной, отражающей биоразнообразия почвенной микробиоты [1,2]. Традиционно, для характеристики состава микробных сообществ используются микробиологические методы, предполагающие получение чистых культур микроорганизмов с последующей микробиологической и биохимической характеристикой [3].

Почва — главный резервуар и естественная среда обитания микроорганизмов, в том числе бактерий. Большое число бактерий, представляющих обособленные группы характеризующихся различными типами метаболизма, было выделено в течение многих лет из различных почв. Среди почвенных бактерий наибольшее значение имеют грамположительные бактерии, которые активно участвуют в деструкции различных веществ и сохранении плодородия почв [4-6].

Исследование бактериального разнообразия разных типов почв, представляет интерес, как для фундаментальной микробиологии, так и для решения биотехнологических задач. Однако до сих пор нет целостной картины распределения бактерий в почвах на территории Казахстана. Поэтому целью нашей исследований явилось оценка распределения грамположительных бактерий в целинных почвах равнинной территории Казахстана.

### **Материалы и методы исследование.**

Объектом исследования служили бактерий выделенные из разных типов почв Казахстана.

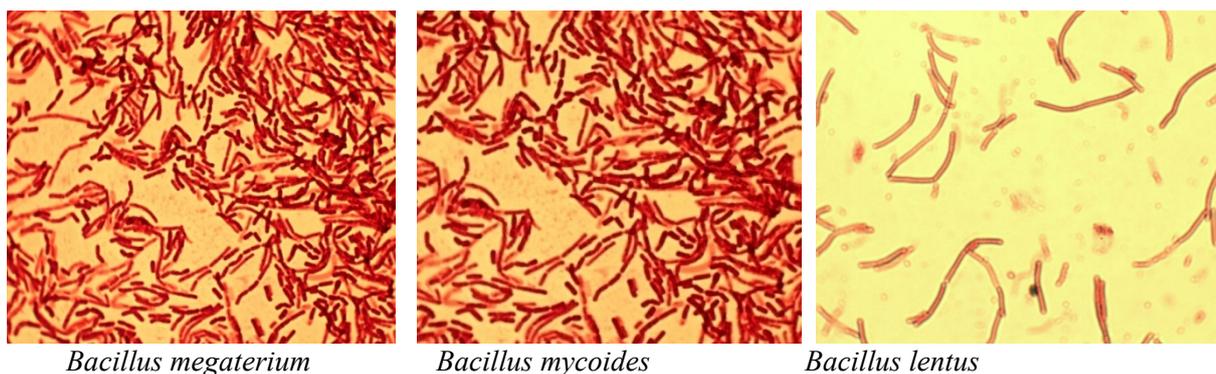
Изучение культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств бактерий проводили общепринятыми методами, предложенными в руководствах [7].

Идентификацию проводили, используя определители для бактерий [8;9].

### **Результаты и обсуждение**

Распределение бактерий в пределах почвенного профиля имеет общий характер, состоящий в снижении плотности популяций по мере перехода от верхнего к нижним горизонтам. При переходе от верхнего к нижним горизонтам уменьшается не только численность бактерий, но и их таксономическое разнообразие. В бактериальном комплексе присутствуют, главным образом, родококки, бациллы и нокардии. В их распределении по различным типам почв отмечена следующая особенность: доминирующей группой являются грамположительные бактерии. Они представлены аэробными кокками и палочками родов *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, *Kocuria* (*Micrococcus*), с преобладанием всех почвах споровых форм бактерий рода *Bacillus*.

Биоразнообразии бактерий рода *Bacillus*, изолированных из различных почв представлено следующими видами: *B. megaterium*, *Bacillus mycoides* и *Bacillus lentus* (таблица 1, рисунок 1).



**Рисунок 1** - Морфология клеток бактерий рода *Bacillus*

По совокупности, полученных диагностических признаков на видовом уровне одним из распространенных видов спорообразующих бактерий рода *Bacillus* является вид *Bac. megaterium*, изолированный из различных почв Казахстана.

Бактерии, относящиеся к виду *Bac. mycoides*, были выделены из серобурая пустынной, бурой пустынной светло-каштановой щебнистой почвы и чернозема южного. Выше названные представители рода *Bacillus* являются основными протеолитиками и это свидетельствуют о деструкции органического вещества белковой природы в почвах. Так же повсеместно, но в небольшом количестве были выделены бактерии *Bac. lentus*

Были выделены культуры из различных типов почв, отнесенные к роду *Rhodococcus*. Бактерии рода *Rhodococcus* играют важную роль в процессах почвообразования, в обогащении биоценозов витаминами и другими физиологически активными соединениями. Учитывая их физиолого-биохимические признаки, они отнесены к видам *Rh. erythropolis*, *Rh. aetherevorans*, *Rh. baikonurensis* (таблица 2, рисунок 3). Наибольшее количество представителей бактерий рода *Rhodococcus* встречалось на глубине 10 -20 см, и заметно уменьшалось на глубине 20-30 см.

Среди них во всех почвах преобладали бактерии *Rh. erythropolis*, *Rh. equi* и *Rh. roseus*. К числу редко встречающихся видов относился *Rh. ruber*, который был обнаружен только в темно-каштановой, карбонатной почве, Акмолинской области, Ерейментауского района.

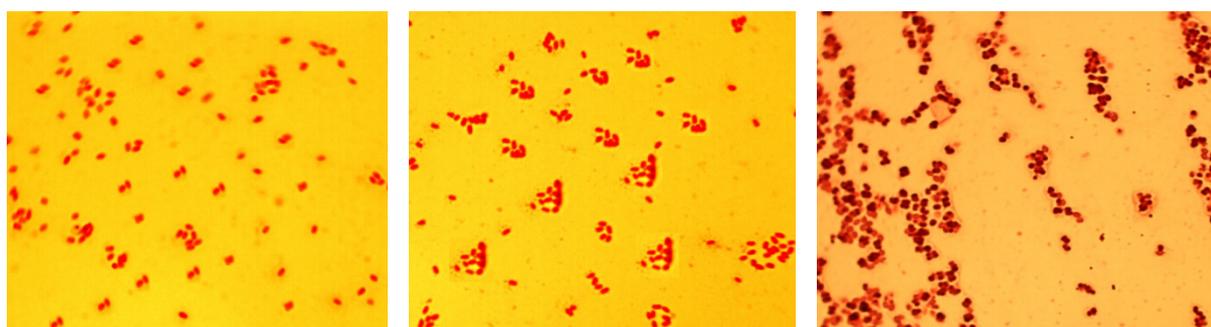
Разнообразие бактерий рода *Mycobacterium*, выделенных из различных почв Казахстана, представлено следующими видами: *Mycobacterium agri* и *Mycobacterium thermoresistibile* (рисунок 4, таблица 2).

**Таблица 1 - Распределение бактерий рода *Bacillus* в почвах различных типов**

Типы почв	в % к общему числу родов бактерий			
	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Bacillus mycoides</i>	<i>Bacillus mesentericus</i>	<i>Bacillus lentus</i>
Серобурая пустынная, Алматинская область	15,2	8,2	2,3	-
Серобурая пустынная, Карагандинская область	10,1	-	3,2	-
Серобурая пустынная, Жамбылская область	14,2	4,5	-	-
Бурая пустынная, Карагандинская область	11,2	5,6	2,1	-
Светло-каштановая, щебнистая, Карагандинская область	1,2	2,3	-	2,1
Среднекаштановая, Карагандинская обл.	2,3	-	-	1,8
Темно-каштановая, карбонатная, Акмолинская область, Жаркаинский район	4,2	-	1,1	-
Темно-каштановая, карбонатная,	5,6	3,2	-	-

Акмолинская область, Ерейментауский район				
Чернозем обыкновенный, Северо-казахстанская область	2,4	-	-	-
Чернозем обыкновенный, Акмолинская область, Зерендинский район	5,2	4,5	-	-
Чернозем южный Костанайская область	3,4	2,3	-	-

Во всех образцах в незначительном количестве обнаружены кокковидные бактерии, морфология которых не изменялась в зависимости от возраста культуры (рисунок 2). Они отнесены к роду *Kocuria* а по совокупности физиолого-биохимических признаков отнесены к видам: *Kocuria rosea*, *Kocuria sp.* и *Kocuria sp.* (рисунок 2, таблица 2).



*Kocuria rosea*

*Kocuria sp.*

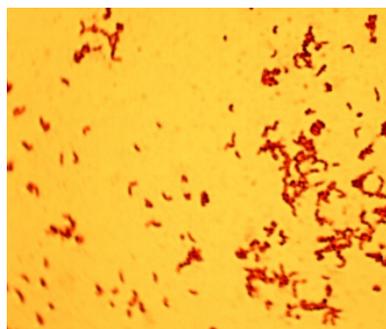
*Kocuria sp.*

**Рисунок 2** - Морфология клеток бактерий рода *Kocuria*

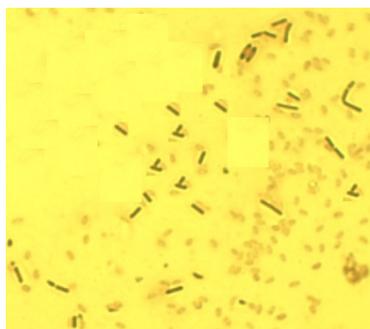
**Таблица 2** - Распределение видов бактерий родов *Rhodococcus*, *Mycobacterium* и *Kocuria* в почвах различных типов

Типы почв	в % к общему числу родов бактерий								
	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	<i>Rh. aetherevorans</i>	<i>Rhodococcus equi</i>	<i>Rh. baikonurensis</i>	<i>Mycobacterium agri</i>	<i>Mycobacterium thermoresistibile</i>	<i>Kocuria rosea</i>	<i>Kocuria sp.</i>	<i>Kocuria sp.</i>
Серобурая пустынная, Алматинская область	5,6	6,8	2,9	-	2,3	-	1,2	1,5	1,2
Серобурая пустынная, Карагандинская область	3,4	5,3	4,2	-	3,2	2,9	0,5	0,6	0,5
Серобурая пустынная, Жамбылская область	4,6	4,9	3,5	-	-	-	1,5	0,9	1,5
Бурая пустынная, Карагандинская область	4,6	3,5	2,9	-	-	2,4	0,6	0,6	0,9
Светло-каштановая, щебнистая, Карагандинская обл.	3,9	2,9	4,2	-	1,7	-	0,9	0,3	1,1
Среднекаштановая, Карагандинская область	2,3	1,9	7,2	-	-	-	1,1	1,2	0,9
Темно-каштановая, карбонатная, Акмолинская область, Жаркаинский район	2,9	1,2	2,9	-	-	-	0,6	0,5	0,9
Темно-каштановая,	4,2	3,9	4,6	3,2	2,1	-	0,3	1,5	0,6

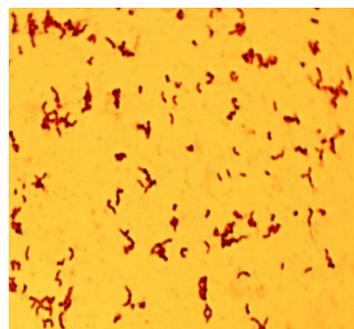
карбонатная, Акмолинская область, Ерейментауский район									
Чернозем обыкновенный, Северо-казахстанская область	7,2	4,6	3,9	-	-	2,1	1,2	0,6	0,3
Чернозем обыкновенный, Акмолинская область, Зерендинский район	3,2	4,3	3,9	-	-	1,8	1,5	0,9	1,2
Чернозем южный, Костанайская область	6,8	4,9	4,6	-	1,2	1,6	1,2	1,1	0,9



*Rhodococcus erythropolis*

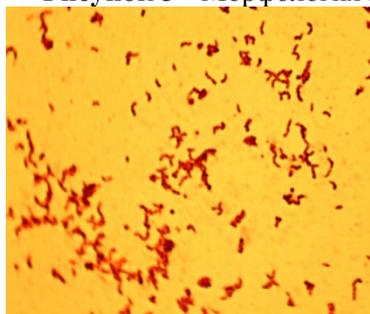


*Rh. aetherevorans,*

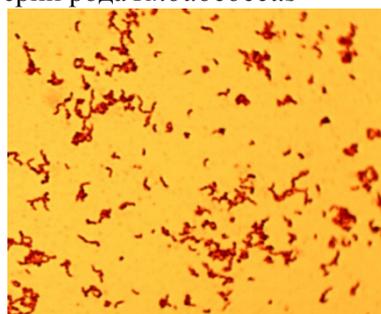


*Rh. baikonurensis*

**Рисунок 3** - Морфология клеток бактерий рода *Rhodococcus*



*Mycobacterium agri*



*Mycobacterium thermoresistibile*

**Рисунок 4** - Морфология клеток бактерий рода *Mycobacterium*

Согласно данным литературы, в почвах Казахстана наиболее часто встречаются представители рода *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas* и *Azotobacter* [6]. Результаты наших исследований показали что, видовая структура грамположительных бактерий различалась по принципу доминирования. Во всех почвенных образцах доминировали представители бактерий рода *Bacillus* и *Rhodococcus*. По степени доминирования бактерий в почвенных образцах Казахстана можно выстроить следующий ряд: *Bacillus* → *Rhodococcus* → *Kocuria* → *Mycobacterium*.

Таким образом, в серобурой пустынной почве доминировали виды *Bac. megaterium*, *Bac. mycoides*, *Rh. aetherevorans*. В бурой пустынной, светло и средне каштановых почвах в большом количестве обнаружены виды *Bac. megaterium* и *Rh. erythropolis*, в темнокаштановой почве *Bac. megaterium* и *Rh. baikonurensis*, а в черноземах доминировали *Rh. erythropolis*, *Rh. aetherevorans*, *Bac. megaterium*.

1. Структурно-функциональная роль почв и почвенной биоты в биосфере // Под ред. Г.В.Добровольского. М.: Наука, 2003. С. 364.

2. Полянская Л.М., Свешникова Л.М. Структура микробной биомассы окультуренных почв (на примере почв Владимирской области) // Перспективы развития почвенной биологии. М.: Изд-во МГУ, 2001. С. 249-265.

3. Гумеров В.М., Марданов А.В., Белецкий А.В., Бонч-Осмоловская Е.А., раввин Н.В. Молекулярный анализ биоразнообразия микроорганизмов в источнике Заварзина, Калдера Узон, Камчатка // Микробиология, 2011. Т. 80. - № 2. – С. 258-265.

4. Заварзин Г.А. Изучение микробного разнообразия в Институте микробиологии им. С.Н. Виноградского // Микробиология. 2004. Т. 73. № 5. С. 598-612.

5. Bysov B.A., Dobrovolskaja T.C, Chernjakovskaja T.F., Zenova G.M. Bacterial communities associated with soil diplopods // Pedobiologia. 40. 1996.I.

6. О.А. Нестеренко, Е.И. Квасников, Т.М. Ногина. Нокардиоподобные и коринеподобные бактерии / Киев: Наук, думка, 1985. -336 с.).
7. Практикум по микробиологии / А. И. Нетрусов, Е.А. - М.: Издательский центр «Академия», 2004. - 372с.
8. Bergey's manual of Systematic Bacteriology. Ist. ed. / Eds. A.Balows et al. - VI-4. Baltimore, 1984, 986 p.
9. Определитель Берджи / под. Ред. Дж.Хоулта, Н. Крига, П.Снита, Дж.Стейли, С.Уилльямса. М., Мир. 1997. 1, 2 Т.

\*\*\*

Жұмыста грам оң бактериялардың Қазақстанның жазық дала аймақтарының тыңайтылған топырақтарында таралуы зерттелген. Қазақстанның әртүрлі топырақтарында грам оң бактериялардың түрлік құрылымы әртүрлі болды. Барлық топырақтарда *Bacillus* және *Rhodococcus* туыстарының өкілдері басым болды. Қазақстанның сұрғылт топырақтарында *Bac. megaterium*, *Bac. mycoides*, *Rh. Aetherevorans* басым болды. Шөлейттің қызыл-қоңыр топырағында, ашық және орташы қызғылт-сары топырақтарында *Bac. megaterium* және *Rh. erythropolis* көп мөлшерде табылды, қызғылт-қоңыр топырақтарда *Bac. megaterium* және *Rh. baikonurensis*, қара топырақтарда *Rh. erythropolis*, *Rh. aetherevorans*, *Rh. baikonurensis*, *Bac. megaterium* басым болды.

\*\*\*

The article was studied the distribution of gram-positive bacteria in the virgin soils of the plains in Kazakhstan. The specific structure of gram-positive bacteria, the major soil types in Kazakhstan has been varied. In all types of soil bacteria, dominated by representatives of the genus *Bacillus* and *Rhodococcus*. In the gray-brown desert soils dominated by species of the Kazakhstan *Bac. megaterium*, *Bac. mycoides* and *Rh. aetherevorans*. In the desert brown, light brown to medium soils in a large number of species found *Bac. megaterium* and *Rh. baikonurensis*, and the black earth was dominated by *Rh. erythropolis*, *Rh. aetherevorans*, *Rh. Baikonurensis*, *Bac. megaterium*.

УДК 576.154.36

**О.Н. Шемшюра**  
**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХИТИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ**  
**У ГРИБОВ АНТАГОНИСТОВ**  
(Институт микробиологии и вирусологии РГП «ЦБИ» МОН РК)

*В данной работе представлены результаты исследования хитинолитической активности наиболее активных штаммов микроскопических грибов, обладающих антагонистической активностью.*

Хитин, состоящий из остатков N-ацетил-D-глюкозамина, соединенный 1,4- В-связями, является одним из наиболее распространенных полисахаридов на нашей планете. Хитин входит в состав покровных тканей членистоногих, а также клеточных стенок грибов и бактерий [1].

Микопаразитическая активность грибов-антагонистов может быть обусловлена синтезом литических ферментов, способных к гидролизу клеточной стенки фитопатогенов и хитиновых покровов насекомых – вредителей. В связи с этим, наличие хитинолитической активности у исследуемых штаммов, можно использовать в качестве способов отбора перспективных культур микроорганизмов для биоконтроля за патогенами. Ранее была установлена антагонистическая активность для ряда штаммов микроскопических грибов в отношении различных патогенов и вредителей [3-7], а также ее взаимосвязь с синтезом биологически активных соединений, таких как алкалоиды [8-9], аминокислоты [10], ферменты [11].

**Материалы и методы.**

В работе использованы грибы родов *Penicillium* (штаммы 947, 340, 7N), *Aspergillus* (штаммы 127, 6M, 140), *Trichoderma* (штаммы F-1, ANT, TX), *Beauveria* (штамм ВВ).

Споры грибов смывали с агаровых сред в колбы объемом 100 мл со средой Чапека. Инкубировали в течение 4 суток, затем грибную массу гомогенизировали и переносили в колбы объемом 250 мл, содержащих по 150 мл среды Чапека, и культивировали в течение 17 суток.

Мицелий разрушали замораживанием-оттаиванием, с последующим растиранием в ступке с кварцевым песком. Белки экстрагировали 0,1М фосфатным буфером (рН=7,1) в течение ночи при +4<sup>0</sup>С. Экстракт отделяли фильтрованием с помощью бумажного и мембранного фильтров, насыщали сульфатом аммония до 65% и оставляли на ночь при +4<sup>0</sup>С. Осадок (белки) отделяли центрифугированием при 10000 об/мин в течение 20 минут, растворяли в дистиллированной воде и диализировали в течение ночи против 0,1М фосфатного буфера рН=7,1.

Культуральную жидкость каждой пробы (по 120 мл) насыщали сульфатом аммония до 65% и оставляли на ночь при +4<sup>0</sup>С для формирования осадка. Осадок отделяли центрифугированием при 10000 об/мин в течение 20 минут, растворяли в дистиллированной воде и диализировали в течение ночи против 0,1М фосфатного буфера рН=7,1.

В полученных ферментативных препаратах определяли белок по методу Лоури и др. [12] и хитинолитическую активность (по расщеплению коллоидного хитина и образованию N-ацетил-D-глюкозамина).