

*К.М. Кебекбаева, А.К. Джобулаева, Л.П.Треножникова, А. Хасенова*  
**ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АКТИНОМИЦЕТОВ СИНЕ-ФИОЛЕТОВОЙ ГРУППЫ ПОСЛЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ**  
(Институт микробиологии и вирусологии МОН РК, г. Алматы)

*В статье дан анализ жизнеспособности и биологической активности актиномицетов сине-фиолетовой группы СФ ИМВ 1, 15 после длительного хранения, подбор оптимальных условий биосинтеза.*

Актиномицеты, как известно, характеризуются сильно выраженной вариабельностью. Установлено, что их наследственная изменчивость подчиняется закону гомологических рядов. В популяциях любых видов актиномицетов наряду с основной формой, существуют сходные по ориентирным признакам параллельные ряды естественных форм: белые, олигоспоровые, аспорогенные, карликовые, нокардиоподобные. У пигментообразующих к ним прибавляются другие варианты.

Ряды изменчивости у продуцентов биологически активных веществ возрастают за счет появления дополнительного отличительного свойства – биосинтеза антибиотиков. Степень проявления процесса изменчивости зависит от генетической природы организма и условий внешней среды. Существует много способов консервации культур: метод лиофилизации, хранение в физиологическом растворе, хранение на плотных питательных средах под слоем минерального масла, в почве и на шелковых нитях. Однако существуют убедительные доказательства необходимости строго индивидуального подхода при выборе того или иного способа хранения микробиологического материала в соответствии с его физиолого-биохимическими свойствами.

#### **Материалы и методы**

Жизнеспособность актиномицетов изучали посредством высева суспензий спор на минеральный агар- 1 Гаузе, Чапека3, органический агар -2 Гаузе, картофельно-декстрозный агар, овсяный агар, пептонно-дрожжевой агар [1-2]. Активацию спор проводили в термостате, а также путем культивирования на роторном шейкере (180-200 об/мин) при температуре 28°C в течение 3-5 суток. Споровые взвеси высевали на агаровые среды и инкубировали в термостате при температуре 28°C в течение 14-21 суток. Выживаемость культур актиномицетов оценивали качественно, по наличию или отсутствию роста после высева споровых взвесей на соответствующие среды. Морфологию спороносов изучали в световом микроскопе МБИ 6. Изучение культуральных признаков: цвета воздушного, субстратного мицелия и растворимых пигментов - проводили на 7, 14, 21 сутки роста культуры на диагностических средах. Для объективной оценки окраски использовали шкалу цветов А.С.Бондарцева [3]. Для получения спорового материала штаммы актиномицетов выращивали в течение 7-10 дней при температуре 28°C на минеральном агаре 1 Гаузе и органическом агаре 2 Гаузе. Биосинтез антибиотиков осуществляли в колбах Эрленмейера вместимостью 750 мл в объеме среды 100 мл на круговой качалке (180-200 об/мин) при температуре 28°C в течение 72-96 часов.

Антимикробную активность культуральной жидкости и ацетоновых экстрактов определяли стандартными методами: двукратных серийных разведений на питательном бульоне и диффузии в агар на питательном агаре. Для определения активности в отношении *Candida albicans* и *Fusarium heterosporium* использовали среду Сабуро.

Спектры поглощения антибиотиков в УФ - и видимой областях света измеряли в бутаноле и 96 % этаноле на спектрофотометре "Ultrospec 2100 pro".

#### **Результаты и обсуждение**

Объектами исследований являлись 2 штамма актиномицетов обладающих окраской воздушного и субстратного мицелия от синего до фиолетового цвета (СФ ИМВ 1, 15), заложенных на хранение в физиологическом растворе. Длительность хранения штаммов без пересева – 39 лет.

**Штамм СФ ИМВ-1** проявил жизнеспособность на всех испытанных средах.

На минеральном агаре 1Гаузе рост слабый. Колонии мелкие, звездчатой формы, плоские, без воздушного мицелия. Субстратный мицелий белый, растворимый пигмент отсутствует.

На органическом агаре 2 Гаузе рост хороший. Колонии мелкие, мягкой консистенции. Воздушный мицелий отсутствует, субстратный мицелий светло-коричневый, растворимый пигмент отсутствует.

На пептонно-дрожжевом агаре рост хороший. Колонии неправильной формы, не опущенные, мягкой консистенции, складчатые. Субстратный мицелий светло-коричневый, растворимый пигмент отсутствует.

На агаре 3 Чапека с глицерином рост хороший. Колонии округлой формы, плоские, хорошо опушенные. Воздушный мицелий светло-фиолетовый, субстратный мицелий фиолетовый, растворимый пигмент слабый, светло-фиолетовый.

на овсяном агаре рост хороший, наблюдали присутствие двух типов колоний.

1) Колонии округлой формы, плоские с приподнятым центром, хорошо опушенные. Воздушный мицелий светло-фиолетовый, субстратный мицелий фиолетовый, растворимый пигмент слабый, светло-фиолетовый.

2) Колонии плоские, без воздушного мицелия, субстратный мицелий светло-коричневый, растворимый пигмент не образует.

На основании изучения культуральных признаков на диагностических средах штамм СФ ИМВ 1 отнесен к серии *Coeruleus*.

При росте штамма на синтетических и органических жидких средах наблюдали появление темно-синей окраски культуральной жидкости, которая варьировала в зависимости от состава среды. Антимикробная активность культуральной жидкости значительно зависит от присутствия синего пигмента. Активность наблюдалась на синтетической среде Чапека-3 с глицерином (100 ед\мл в отношении *S. aureus* 209 P). Данные по культуральным свойствам штамма СФ ИМВ 1, величине биомассы и антибиотической активности приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Культуральные свойства штамма СФ ИМВ 1 и антибиотическая активность культуральной жидкости штамма на различных питательных средах

Наименование среды	Окраска культуральной жидкости	Окраска мицелия	Вес биомассы, г\л	Диаметр зоны подавления роста, мм		Активность , ед\мл, в отношении	
				<i>S. aureus</i> 209 P	<i>K. pneumoniae</i> 444	<i>S. aureus</i> 209 P	<i>K. pneumoniae</i> 444
Соевая А <sub>4</sub>	желто-коричневая	розово-красный	15,62	0	0	0	0
0,125% кукурузная	темно- розовая	светло-бордовый	3,88	0	0	0	0
1 Гаузе	бледно- желтая	светло-фиолетовый	1,07	0	0	0	0
52\6	светло-желтая	светло-коричневый	1,17	0	0	0	0
Чапека-3 с глицерином	фиолетовая	фиолетово-синий	2,02	15	14	100	80

Штамм СФ ИМВ 15 проявил высокую способность к восстановлению на минеральном агаре 1 Гаузе, агаре 3 Чапека и овсяном агаре.

На минеральном агаре 1 Гаузе было обнаружено 4 типа колоний.

На овсяном агаре все колонии округлой формы, плоские, со слегка приподнятым центром, хорошо опушенные. Отмечено присутствие двух типов колоний:

На среде Чапека 3 было обнаружено 4 типа колоний.

Все варианты штамма СФ ИМВ 15 были отсеяны в чистую культуру и изучены их антагонистические свойства методом агаровых блоков в отношении *S. aureus* 209 P. Диаметр зон подавления роста тест - организма варьировал в пределах 12-20 мм. Наиболее высокую активность проявил вариант 4 (диаметр зоны подавления роста *S. aureus* 209 P 20 мм), образующий интенсивный синий пигмент на агаре 1 Гаузе.

Антимикробная активность культуральной жидкости значительно зависит от присутствия синего пигмента и изменяется на испытанных средах от 40 до 400 ед\мл в отношении *S. aureus* 209 P. Наиболее высокая активность наблюдалась на синтетической среде Чапека-3 с глицерином. Данные по культуральным свойствам штамма СФ ИМВ 15, величине биомассы и антибиотической активности приведены в таблице 2.

Таблица 2- Культуральные свойства штамма СФ ИМВ 15 и антибиотическая активность на различных питательных средах.

Наименование среды	Окраска культуральной жидкости	Окраска мицелия	Вес биомассы г\л	Диаметр зоны подавления роста, мм		Активность, ед\мл, в отношении	
				<i>S. aureus</i> 209 P	<i>K. pneumoniae</i> 444	<i>S. aureus</i> 209 P	<i>K. pneumoniae</i> 444
Соевая А <sub>4</sub>	желто-коричневая	розово-красный	19.89	0	0	0	0
0,125% кукурузная	светло-коричневая	темно-розовый	7,37	0	0	0	0
1 Гаузе	синяя	темно-коричневый	3,5	14	10	40	10
52\6	светло-желтая	желто-коричневый	0,63	0	0	0	0
Чапека-3 с глицерином	синяя	сине-фиолетовый	2.83	22	16	400	80

На основании изучения культуральных признаков на диагностических средах штамм СФ ИМВ 15 отнесен к серии *Coeruleus*.

Штамм СФ ИМВ 15 восстановлен по характерным для группы сине-фиолетовых актиномицетов культуральным признакам и величине антибиотической активности.

Способ хранения в физиологическом растворе обеспечивает сохранение культуральных свойств актиномицетов сине-фиолетовой группы и, что особенно важно, сохранение их антимикробных свойств.

1. Гаузе Н.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. М.: <Наука>, 1983, 245 с.

2. Семенов С.М. Лабораторные среды для актиномицетов и грибов. М.: «Агропромиздат», 1990, 283 с.

3. Бондарцев А.С. Шкала цветов. М.: АН СССР, 1954, 31 с.

\*\*\*

Мақалада көгілдір-күлгін топқа жататын СФ ИМВ 15 актиномицеттердің ұзақ мерзімді сақтаудан кейінгі биологиялық белсенділіктері мен тіршілікке қабілеттілігін зерттеу туралы талдаулар көрсетілген.

\*\*\*

The analysis of viability and biological activity of actinomycetess of сине-фиолетовой group CF IMV 1 is given in the article, 15 after the protracted storage, selection of optimal terms of biosynthesis

**К.М. Кебекбаева**

**ДЛИТЕЛЬНОЕ ХРАНЕНИЕ КУЛЬТУР МИКРООРГАНИЗМОВ В КОЛЛЕКЦИИ**  
(РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, г. Алматы)

*В статье отражены результаты изучения влияния различных методов длительного культивирования микроорганизмов в лабораторных условиях и поиск способов повышения их устойчивости.*

Поддержание микроорганизмов в жизнеспособном состоянии требует изучения и использования различных методов хранения и состава питательных сред. Используемые методы не всегда являются универсальными, так как различные группы микроорганизмов имеют различную устойчивость к методам консервации и работа в этом направлении имеет эмпирический характер. Исследования и поиск в этом направлении продолжается.

В коллекции института микробиологии и вирусологии МОН РК поддерживаются микроорганизмы, относящиеся к различным систематическим группам. В числе штаммов есть перспективные (хлебопекарные, винные дрожжи) как для научных исследований, так и для