

**Н.В. Коротаєва, І.В. Страшнова, Н.Ю. Васильєва,
К.С. Потапенко, І.П. Метеліцина, Т.О. Філіпова,
В.О. Іваниця**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
e-mail: korotaeva.n@onu.edu.ua

ХАРАКТЕРИСТИКА АКТИНОБАКТЕРІЙ, ІЗОЛЬОВАНИХ ІЗ MYTILUS GALLOPROVINCIALIS ОДЕСЬКОЇ ЗАТОКИ ЧОРНОГО МОРЯ

Сьогодні активно зростає як академічний, так і комерційний інтерес саме до морських актинобактерій, оскільки вони живуть в унікальному середовищі, що сприяє синтезу нових біологічно-активних метаболітів. **Метою** роботи була ізоляція, первинна ідентифікація та вивчення морфологічних, культуральних, фізіолого-біохімічних властивостей актинобактерій, виділених із мідії (*Mytilus galloprovincialis*) Одеської затоки Чорного моря. **Методи.** Матеріалом для ізоляції актинобактерій були зразки мідії, зібраних в прибережній зоні Одеської затоки. Ізоляцію актинобактерій та вивчення їх морфологічних, культуральних, фізіолого-біохімічних властивостей здійснювали традиційними мікробіологічними методами. Склад жирних кислот визначали на газовому хроматографі з полум'яно-йонізаційним детектором Agilent 7890 (Agilent Technologies, США), для ідентифікації досліджуваних штамів використовували бібліотеку Sherlock Microbial Identification System. **Результати.** Із проб мідії, зібраних у 2020 р. в районі Гідробіологічної станції ОНУ імені І.І. Мечникова, виділено 14 ізолятів актинобактерій, які було ідентифіковано за жирно-кислотними спектрами до роду *Streptomyces*. Ізоляти актинобактерій характеризуються плеоморфізмом колоній на різних живильних середовищах. Штами *Streptomyces* sp. *Mut2*, *Mut6* та *Mut7ch* синтезували меланойдні пігменти. Актинобактерії добре засвоюють більшість досліджуваних джерел карбону, крім штамів *Streptomyces* sp. *Mut12a*, *Mut12b*. Майже половина штамів має оксидазну активність та коагулює молоко. **Висновки.** Вперше ізольовано актинобактерії з мідії Одеської затоки Чорного моря, охарактеризовано їх морфологічні, культуральні і фізіолого-біохімічні властивості та визначено їх таксономічну приналежність за спектрами жирних кислот.

Ключові слова: морські актинобактерії, *Streptomyces*, фізіолого-біохімічні властивості, морфологічні властивості, хемотаксономічні властивості

Актинобактерії є розповсюдженою у природних екосистемах групою мікроорганізмів, які використовуються як джерело для пошуку корисних вторинних метаболітів з антибіотичною активністю [6]. Сьогодні активно зростає як академічний, так і комерційний інтерес саме до морських актинобак-

© Н.В. Коротаєва, І.В. Страшнова, Н.Ю. Васильєва, К.С. Потапенко, І.П. Метеліцина, Т.О. Філіпова, В.О. Іваниця, 2021



терій, оскільки вони живуть в унікальному середовищі, що сприяє синтезу нових біологічно-активних метаболітів [11].

Відомо, що значна кількість актиноміцетів асоціюється з різними представниками морських бентосних спільнот, такими як губки, корали, асцидії, актинії, морські огірки, медузи, риби, морські їжаки та водорості. З 2007 року до сьогодні від морських рослин та тварин виділено більше тридцяти нових видів актиноміцетів [3, 5, 14, 15]. Морські організми виявилися багатим джерелом нових актиноміцетів потенційних продуцентів нових антибіотиків [10]. Все це робить перспективним виділення та вивчення актинобактерій з морських гідробіонтів.

Метою роботи була ізоляція, первинна ідентифікація та вивчення морфологічних, культуральних, фізіолого-біохімічних властивостей актинобактерій, виділених із мідій (*Mytilus galloprovincialis*) Одеської затоки Чорного моря.

Матеріали та методи досліджень

Мідії (*Mytilus galloprovincialis*) зібрали у червні 2020 р. в районі Гідробіологічної станції Одеського національного університету імені І.І. Мечникова (Одеська затока Чорного моря, 46°27'01''N 30°46'14''E) з глибини 3–5 метрів. Для отримання суспензії мікроорганізмів для висіву, зібрані мідії вносили у колби зі стерильною морською водою та гойдали на шейкері упродовж 30 хв при 150 об/хв. Посів здійснювали з попереднім прогріванням отриманих суспензій (50 °C, 15 хв) та без нього.

Для виділення актинобактерій використовували живильні середовища Гаузе 2, Чапека, Ешбі, крохмаль-аміачний і ґрунтовий агар [1]. Усі середовища готували на морській воді з налідиксовою кислотою (10 мг/л). Посіви культивували за температури 28 °C упродовж 21 доби.

Попередню ідентифікацію отриманих 14 ізолятів актинобактерій проводили шляхом порівняльного аналізу спектрів жирних кислот за допомогою автоматичної системи ідентифікації Sherlock Microbial Identification System (MIDI Sherlock version 6.2, MIDI Library ACTIN 3.80). Для цього актинобактерії вирощували впродовж 3 діб у 20 мл середовища Tryptic soy broth при 28 °C та гойданні на шейкері при 150 об/хв. Виділення та визначення вмісту жирних кислот проводили згідно MIS Operating Manual [9, 12] з використанням газового хроматографа Agilent 7890 (Agilent Technologies, США) та капілярної колонки ULTRA 2 (25 м x 0,2 мм x 0,33 мкм) і полум'яно-йонізаційного детектора.

У досліджуваних ізолятів вивчали морфологічні, фізіологічні, біохімічні та хемотаксономічні властивості:

- морфологію і характер росту – на середовищах вівсяний агар з морською сіллю, Гаузе 1 та Гаузе 2 впродовж 14 діб при 28 °C;
- синтез меланоїдних пігментів – на середовищах ISP-6 і ISP-7;
- морфологію клітин вивчали шляхом мікроскопії фіксованих препаратів, забарвлених водним розчином фуксину (світловий мікроскоп Zeiss Axio, x1500);
- відношення до хлориду натрію визначали на середовищі МПА з різни-



ми концентраціями NaCl (1,0; 2,0; 5,0; 7,0; 9,0; 12,0%). Інкубацію здійснювали впродовж 14 діб при 28 °С. Ріст штамів на середовищі з різними концентраціями NaCl оцінювали як «+», «++», «+++» і «++++», або відсутність росту «-» [1];

- утилізацію джерел карбону вивчали на мінімальному середовищі ISP 9. Джерелами карбону слугували глюкоза, фруктоза, галактоза, гліцерол, лактоза, ксилоза, рамноза, манітол, сорбіт, маноза, арабіноза та цукроза, які додавали окремо до кінцевої концентрації 1%. Інкубацію проводили впродовж 14 діб при 28 °С. Ріст штамів на різних джерелах карбону оцінювали як «+», «++», «+++» і «++++», або відсутність росту «-» [2, 13];

- визначення каталазної активності проводили стандартним методом за допомогою 3% перекису водню [8];

- для визначення оксидазної активності використовували OXItest (Erba, CZ);

- наявність ферменту амілази виявляли на середовищі Гаузе 1. Посіви інкубували 21 добу при 28 °С. Залишки крохмалю виявляли за допомогою розчину Люголя [8];

- здатність до розрідження желатину визначали на середовищі МПБ з додаванням 10–15 г желатину. Інкубацію проводили 7–10 діб при 28 °С. Після інкубації пробірки з середовищем поміщали в холодильник не струшуючи їх. Під впливом ферменту желатинази за позитивного результату середовище залишається рідким після його охолодження [8];

- утворення H₂S виявляли з застосуванням тест-смужки фільтрувального паперу, просоченого ацетатом свинцю. Інкубацію проводили при 35–37 °С упродовж 24 год [1];

- відновлення нітрату до нітриту визначали на культурі актинобактерій, яку вирощували протягом 10–14 днів при 28 °С. Для цього на предметному склі змішували 50 мкл культуральної рідини та 50 мкл реагенту (крохмаль – 0,4 г, ZnCl₂ – 2,0 г на 100 мл H₂O), а потім додавали розчин 2М HCl [13];

- відновлення нітрату до молекулярного азоту визначали в рідкому середовищі МПБ з 0,2% KNO₃ [8];

- протеолітичну активність визначали на рідкому середовищі (г/л): знежирене молоко – 600 мл, CaCO₃ – 0,2 г. Інкубацію проводили 14 діб при 28 °С [8].

Кластеризацію даних здійснювали за допомогою функції `rect.hclust`, яка дозволяє виділити статистично значущі кластери (для розрахунку матриці відстані використовували метод «`canberra`», метод кластеризації «`complete`») [7].

Результати та обговорення

Із відібраних проб мідій було виділено 14 ізолятів актинобактерій (Myt1, Myt2, Myt3a, Myt3b, Myt4, Myt5, Myt6, Myt7ch, Myt7b, Myt8, Myt10, Myt11, Myt12a, Myt12b). За результатами порівняння спектрів жирних кислот за допомогою бібліотеки MIDI Sherlock (ACTIN 3.80) усі 14 штамів актинобактерій з глибоководних проб мідії було ідентифіковано з різними індексами подібності як належні до роду *Streptomyces*.



Ізольовані штами мали різні морфологічні властивості (табл. 1), що залежало не тільки від складу середовища і віку культур, а й зумовлено морфологічною варіабельністю (плеоморфізмом) видів актинобактерій, у тому числі неоднорідністю у межах одного виду (рис. 1).

Відомо, що багатьом актинобактеріям властивий плеоморфізм колоній за росту на живильних середовищах. Так, Yanti, Setyawati and Kurniatuhadi (2019) зазначають, що актиноміцети, виділені з осаду мангрових чагарників, ростуть на середовищах різного складу, утворюючи різноманітні колонії, які відрізняються структурою, краєм і висотою повітряного міцелію, кольором зрілих спор, наявністю ексудату, пігментами та текстурою колоній [17].

Виявлення меланоїдних пігментів, показало, що на середовищі ISP-6 лише штами *Streptomyces sp.* Myt2 та Myt7ch продукують пігменти, які дифундують в середовище (рис. 2).

Бактерії штаму *Streptomyces sp.* Myt6 синтезують меланоїдний пігмент на обох середовищах (рис. 3). Меланоїдні пігменти мають радіопротекторні та антиоксидантні властивості [4] і є важливим таксономічним критерієм.

Морфологію клітин ізольованих актинобактерій визначали за допомогою мікроскопії фіксованих препаратів, забарвлених фуксином Пфайфера. У препаратах одночасно спостерігали різні форми клітин: від коків до ниткоподібних. Клітини більшості актинобактерій представлено короткими паличками невеликого розміру, які розташовані поодинокі та хаотично. Також виявлено довгі ниткоподібні клітини. Клітини деяких досліджених штамів мали кокоподібну форму.

Оптимальний температурний діапазон росту усіх виділених штамів актинобактерій в межах від 28 до 37 °С. Але для штамів *Streptomyces sp.* Myt5, Myt6, Myt7b, Myt7ch, Myt8, Myt10 спостерігали ріст при 10 °С.

Стійкість до NaCl притаманна актинобактеріям, які мешкають в морських біотопах і може розглядатися як непрямий доказ їх автохтонного морського походження [16]. Встановлено (табл. 2), що 48,2% ізольованих актинобактерій характеризувалися ростом за граничної концентрації NaCl – 7%.

За внесення 5,0% NaCl гарний ріст (++++) продемонстрували 85,0% штамів, але при додаванні 9,0% NaCl для усіх штамів ріст бактерій не спостерігали. Найменш стійкими до NaCl виявились штами *Streptomyces sp.* Myt1, Myt12a та Myt12b.

Встановлено, що виділені штами актинобактерій здатні залучати у свій метаболізм різні джерела карбону (табл. 3). Штами *Streptomyces sp.* Myt1 та Myt10 не використовують фруктозу і арабінозу, та мають дуже помірний ріст на середовищах з ксилозою та сорбітом. Штами *Streptomyces sp.* Myt12a та Myt12b характеризувалися найменшою здатністю залучати до свого метаболізму різні вуглеводи. Для їх культивування використовували більш багаті на джерела карбону органічні середовища (Гаузе 2).

За результатами проведених досліджень показано, що більшість штамів добре засвоюють майже усі використані джерела карбону, що свідчить про широкі метаболічні можливості, які допомагають їм пристосовуватися до різних умов навколишнього середовища.

Вивчення фізіолого-біохімічних властивостей штамів актинобакте-



Таблиця 1

Морфологічна характеристика колоній актинобактерій
на різних живильних середовищах

Table 1

Morphological characteristics of actinobacterial colonies
on different nutrient media

Штам <i>Streptomyces</i> sp.	Середовище Вівсяний агар	Середовище Гаузе 1	Середовище Гаузе 2
Мут1	Округлі, жовті колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють сірий міцелій
Мут2	Округлі, жовті колонії, які утворюють сірий міцелій	Округлі, білі колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють сірий міцелій
Мут3а	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють сірий міцелій	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють сірий міцелій
Мут3б	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють білий міцелій	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють біло-сірий міцелій	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють біло-сірий міцелій
Мут4б	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють світло-сірий міцелій	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють біло-сірий міцелій	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють біло-сірий міцелій
Мут5	Округлі, жовті колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють білий міцелій	Округлі, колонії золотистого кольору, які утворюють біло-сірий міцелій



Продовження таблиці

Мут 6	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють сірий міцелій	Округлі, колонії сірого кольору, які утворюють світло-сірий міцелій	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють білий міцелій
Мут7b	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють світло-сірий міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють темно-сірий міцелій
Мут7ch	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють білий повітряний міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють білий повітряний міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють білий міцелій
Мут8	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють світло-рожевий міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють світло-рожевий міцелій	Округлі, золоті колонії, які утворюють світло-рожевий міцелій
Мут10	Округлі, жовті колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють білий міцелій	Округлі, золоті колонії, які утворюють білий міцелій
Мут11	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють світло-сірий міцелій	Округлі, жовті колонії, які утворюють сірий міцелій	Округлі, білі колонії, які утворюють сірий міцелій
Мут12a	Округлі, не пігментовані колонії, які утворюють білий міцелій	Немає росту	Округлі, золоті колонії, які утворюють білий міцелій
Мут12b	Округлі, колонії, які утворюють білий міцелій	Немає росту	Округлі, золоті колонії, які утворюють білий міцелій

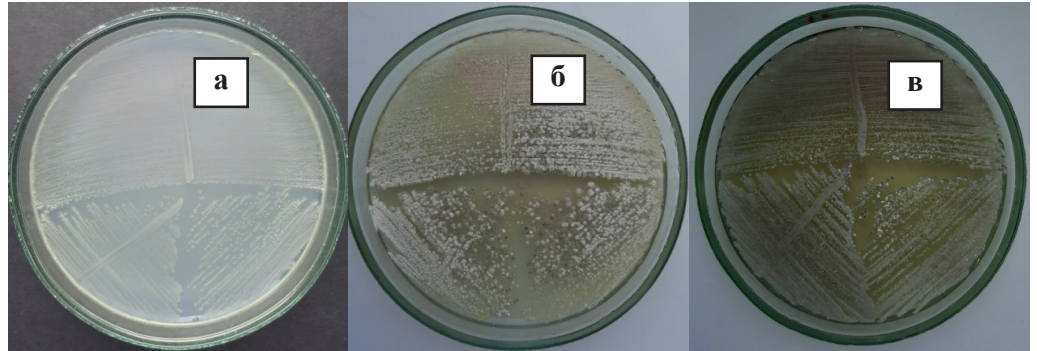


Рис. 1. Колонії актинобактерій штаму *Streptomyces sp. Myt7ch* на середовищах:
а) вівсяний агар з морською сіллю, б) Гаузе 1, в) Гаузе 2

Fig. 1. Colonies of actinobacteria of strain *Streptomyces sp. Myt7ch* on:
a) oat agar with sea salt, b) Gause 1, c) Gause 2

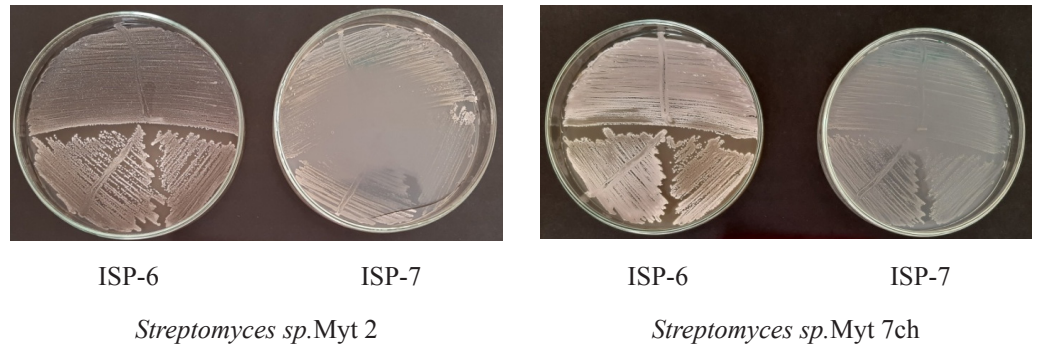


Рис. 2. Меланоїдні пігменти штамів *Streptomyces sp. Myt2* та *Myt7ch*
при рості на середовищі ISP-6 та ISP-7

Fig. 2. Melanoid pigments of *Streptomyces sp. Myt2* and *Myt7ch* growth
on ISP-6 and ISP-7



Рис. 3. Меланоїдні пігменти штаму *Streptomyces sp. Myt6* при рості на середовищі
ISP-6 та ISP-7

Fig. 3. Melanoid pigments of *Streptomyces sp. Myt6* growth on ISP-6 and ISP-7

Таблиця 2

Ріст актинобактерій на середовищі з різними концентраціями NaCl

Table 2

Growth of actinobacteria on medium with different concentrations of NaCl

Штам <i>Streptomyces sp.</i>	Концентрація NaCl			
	2%	5%	7%	9%
Myt1	++++	-	±	-
Myt2	++++	++++	++++	-
Myt3a	++++	++++	+++	-
Myt3b	++++	++++	++++	-
Myt4b	++++	++++	±	-
Myt5	+++	+++	+	-
Myt6	++++	++++	-	-
Myt7ch	+++	+++	-	-
Myt7b	++++	++++	++	-
Myt8b	++++	++++	-	-
Myt10	++++	+++	-	-
Myt11	++++	++++	++++	-
Myt12a	+++	±	-	-
Myt12b	++++	+	-	-

рій (табл. 4), виділених з мідій встановило, що каталазну активність мали усі штами, а 50% штамів виявили оксидазну активність. Актинобактерії *Streptomyces sp.* Myt1, Myt4, Myt8, Myt10 не утворюють сірководень. Тільки *Streptomyces sp.* Myt1, Myt4 та Myt8 з усіх досліджуваних штамів актинобактерій, виділених з мідій, відновлюють нітрати до нітритів, але жоден штам не відновлює до молекулярного азоту. Молоко здатні коагулювати 42,8% досліджуваних штамів актинобактерій і тільки 28,5% його пептонізують. Штами *Streptomyces sp.* Myt1, Myt2, Myt10, Myt11, Myt12a та Myt12b розріджують желатин. Усі штами характеризувалися здатністю гідролізувати крохмаль.

Результати кластеризації, проведеної на підставі сукупних культуральних, фізіологічних та біохімічних характеристик досліджених штамів, наведено на рисунку 4, на якому видно формування трьох окремих кластерів, причому кластер 2 розпадається на три підкластери. Два великих підкластери, включають в себе по 5 та 3 штами відповідно, а один – тільки штам Myt8b.



Таблиця 3

Ріст актинобактерій на середовищі з різними джерелами карбону

Table 3

Growth of actinobacteria on a medium with different carbon sources

<i>Streptomyces</i> sp.	лактоза	рамноза	маніт	сорбіт	сахароза	фруктоза	арабіноза	глюкоза	галактоза	глицерол	мальтоза	ксілоза
Мут1	++++	+++	+++	+	+++	-	-	+++	+++	++++	+	±
Мут2	++++	++++	++++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	++++
Мут3а	++++	++++	++++	+	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	+++
Мут3b	++++	++++	++++	+	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	++++
Мут4b	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	++++
Мут5	++++	++++	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++++	++	++
Мут6	++++	++++	++++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++++	+++	++++
Мут7ch	+++	+	+++	++	++	±	++	+	+	++	++	+++
Мут7b	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	+++
Мут8b	+++	+	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	++++
Мут10	++	+++	++++	+++	+++	-	-	++	+	+	-	±
Мут11	++++	++++	+++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	++++
Мут12а	±	±	+	-	+++	-	-	-	-	-	-	-
Мут12b	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	±



Таблиця 4
Table 4Фізіолого-біохімічні властивості штамів актинобактерій, виділених з мідій
Physiological and biochemical properties of strains of actinobacteria from mussels

Штам <i>Streptomyces</i> <i>sp.</i>	Каталазна активність	Ок시다зна активність	Утворення H ₂ S	Денітрифікація до нітритів	Денітрифікація до молекулярного азоту	Протеолітична активність на рідкому середовищі	Розрідження желатину	Гідроліз крох- малю
Мут1	+	-	-	+	-	-	+	+
Мут2	+	-	+	-	-	пептонізація, коагуляція	+	+
Мут3a	+	+	+	-	-	пептонізація, коагуляція	-	+
Мут3b	+	+	+	-	-	коагуляція	-	+
Мут4	+	-	-	+	-	-	-	+
Мут5	+	+	+	-	-	-	-	+
Мут6	+	+	+	-	-	-	-	+
Мут7b	+	+	+	-	-	-	-	+
Мут7ch	+	+	+	-	-	-	-	+
Мут8	+	-	-	+	-	пептонізація	-	+
Мут10	+	-	-	-	-	коагуляція	+	+
Мут11	+	-	+	-	-	пептонізація, коагуляція	+	+
Мут12a	+	-	+	-	-	коагуляція	+	-
Мут12b	+	+	+	-	-	-	+	-

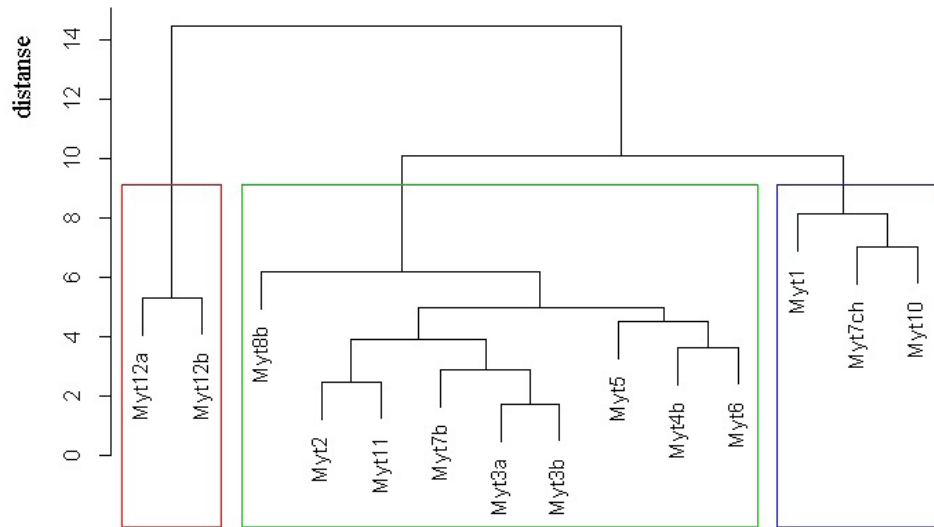


Рис. 4. Дендрограма результатів кластеризації за сукупними показниками актинобактерій, ізольованих з мідій

Fig. 4. Dendrogram of clustering results according to the aggregate indicators of actinobacteria isolated from mussels

Отже, в результаті проведених досліджень вперше актинобактерії ізольовано із мідій Одеської затоки Чорного моря, охарактеризовано морфологічні, культуральні та фізіолого-біохімічні властивості отриманих штамів та визначено, що вони належать до представників роду *Streptomyces*.

Автори статті висловлюють щирю вдячність к.б.н., директору Гідробіологічної станції Одеського національного університету імені І.І. Мечникова О.О. Ковтуну за відбір мідій для нашого дослідження.

N.V. Korotaeva, I.V. Strashnova, N.Yu. Vasylieva,
K.S. Potapenko, I.P. Metelitsyna, T.O. Filipova, V.O. Ivanysia

Odesa National I.I. Mechnykov University,
2, Dvorianska str., Odesa, 65082, Ukraine,
e-mail: korotaeva.n@onu.edu.ua

CHARACTERISTICS OF ACTINOBACTERIA FROM MYTILUS GALLOPROVINCIALIS OF ODESSA GULF OF THE BLACK SEA

Summary

Today both academic and commercial interests in marine actinobacteria are growing. As they live in a unique environment that promotes the synthesis of new biologically active metabolites. **The aim** of the work is isolation, primary iden-



tification and study of morphological, cultural, physiological and biochemical properties of actinobacteria, separate from mussels (*Mytilus galloprovincialis*) of the Odessa Bay of the Black Sea. **Methods.** Samples of mussels collected in the coastal zone of Odessa Bay were used as material for the isolation of actinobacteria. Isolation of actinobacteria and the study of their morphological, cultural, physiological and biochemical properties was carried out by traditional microbiological methods. The fatty acid composition was determined on an Agilent 7890 semi-ionization gas chromatograph (Agilent Technologies, USA) to identify test strains using the Sherlock Microbial Identification System library. **Results.** From samples of mussels collected in 2020 in the area of the Hydrobiological Station of Odessa National I.I. Mechnikov University were isolated 14 strains of actinobacteria. They were identified by fatty acid analysis to *Streptomyces* genus. Strains of *Streptomyces* sp. Myt2, Myt6 and Myt7ch synthesized melanoid pigments. Strains of actinobacteria are well absorbed by most of the studied sources of carbon, except strains of *Streptomyces* sp. Myt12a, Myt12b. Almost half of the strains have oxidase activity and coagulate milk. **Conclusions.** As a result of microbiological studies for the first time were characterized morphological, cultural and physiological and biochemical properties and determined taxonomic composition by fatty acid spectra for actinobacteria isolated from the mussels of the Odessa Bay of the Black Sea.

Key words: marine actinobacteria, *Streptomyces*, physiological and biological properties, morphological properties, chemotaxonomic properties

**Н.В. Коротаева, И.В. Страшнова, Н.Ю. Васильева,
Е.С. Потапенко, И.П. Метелицына, Т.О. Филиппова,
В.А. Иваньця**

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина,
e-mail: korotaeva.n@onu.edu.ua

ХАРАКТЕРИСТИКА АКТИНОБАКТЕРИЙ ИЗ MYTILUS GALLOPROVINCIALIS ОДЕССКОГО ЗАЛИВА ЧЕРНОГО МОРЯ

Реферат

Сегодня активно растет как академический, так и коммерческий интерес к морским актинобактериям. Поскольку они живут в уникальной среде, что способствует синтезу новых биологически активных метаболитов. **Целью** работы было выделение, первичная идентификация и изучение морфологических, культурных, физиолого-биохимических свойств актинобактерий, выделенных из мидий (*Mytilus galloprovincialis*) Одесского залива Черного моря. **Методы.** Материалом для выделения актинобактерий были образцы мидий, собранных в прибрежной зоне Одесского залива. Выделение актинобактерий и исследование их морфологических, культурных, физиолого-биохимических параметров осуществляли стандартными микробиологическими методами. Спектр жирных кислот определяли на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором Agilent 7890 (Agilent Technologies, США), для идентификации исследуемых штаммов использовали библиотеку



Sherlock Microbial Identification System. Результати. Из проб мидий, собранных в 2020 г. в районе гидробиологической станции ОНУ имени И.И. Мечникова, были выделены 14 штаммов актинобактерий, идентифицированных по жирно-кислотным спектрам к роду *Streptomyces*. Штаммы *Streptomyces* sp. *Mut2*, *Mut6* и *Mut7ch* синтезировали меланоидные пигменты. Штаммы актинобактерий хорошо усваивают большинство изучаемых источников карбона, кроме штаммов *Streptomyces* sp. *Mut12a*, *Mut12b*. Почти половина штаммов имела оксидазную активность и коагулировала молоко. **Выводы.** В результате проведенных микробиологических исследований впервые выделено из мидий Одесского залива Черного моря актинобактерии, охарактеризованы их морфологические, культурные и физиолого-биохимические свойства и определен таксономический состав по спектрам жирных кислот.

Ключевые слова: морские актинобактерии, *Streptomyces*, физиолого-биологические свойства, морфологические свойства, хемотаксономические свойства

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Білявська Л.О. Актинобактерії роду *Streptomyces* і їхні метаболіти у біорегуляції рослин : дис. док. біол. наук : 03.00.07. Київ. – 2018. – 485 с.
2. Anderson A.S., Wellington E.M.H. The taxonomy of *Streptomyces* and related genera // Journal Systematic and Evolution Microbiology. –2001. – Vol. 51, № 3. – P. 797–814.
3. Cumsille A., Undabarrena A., González V., Claverías F., Rojas C., Cámara B. Biodiversity of actinobacteria from the South Pacific and the assessment of *Streptomyces* chemical diversity with metabolic profiling // Mar. Drugs. – 2017. – Vol. 15. – 286 p.
4. Dastager S.G., Wen-Jun L., Dayanand A., Shu-Kun T., Xin-Peng T., Xiao-Yang Z., Li-Hua X., Cheng-Lin J. Separation, identification and analysis of pigment (melanin) production in *Streptomyces* // African Journal of Biotechnology. – 2006. – Vol. 5, № 8. – P. 1131–1134.
5. Gandhimathi R., Arunkumar M., Selvin J., Thangavelu T., Sivaramakrishnan S., Kiran G.S., Shanmughapriya S., Natarajaseenivasan K. Antimicrobial potential of sponge associated marine actinomycetes // Journal de Mycologie. – 2008. – Vol. 18, № 1. – P. 16–22.
6. Ghanem N., Sabry S., El-Sherif Z., El-Ela G. Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria // The Journal of general and applied microbiology. – 2000. – Vol. 46. – P. 105–111.
7. Kassambara A. Practical guide to cluster analysis in R: Unsupervised machine learning. – STHDA, 2017. – 187 p.
8. Li Q., Chen X., Jiang Y., Jiang C. Cultural, physiological, and biochemical identification of actinobacteria // Actinobacteria Basics and Biotechnological Applications. – 2016. – P. 87–111.
9. MIS Operation Manual. www.midi-inc.com. September. 2012. Newark.
10. Ramesh S., Detmer S. Marine Rare Actinomycetes: A Promising Source of Structurally Diverse and Unique Novel Natural Products // Mar. Drugs. –2019. –17. – 249 p.



11. Ramesh S., Mathivanan N. Screening of marine actinomycetes isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2009. – Vol. 25. – P. 2103–2111.
12. Sasser M. Bacterial identification by gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters (GC-FAME). Technical Note 101. Newark, DE: MIDI. 2006.
13. Shirling E.B., Gottlieb D. Methods for characterization of *Streptomyces* species // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 1966. – V. 16. – P. 313–40.
14. Subramani R., Aalbersberg W. Culturable rare actinomycetes: Diversity, isolation and marine natural product discovery // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2013. – Vol. 97. – P. 9291–9321.
15. Vicente J., Stewart A., Song B., Hill R.T., Wright J.L. Biodiversity of actinomycetes associated with caribbean sponges and their potential for natural product discovery // Mar. Biotechnol. – 2013. – Vol. 15. – P. 413–424.
16. Yan C., Q. Xue, Zhan-quan C., Rong Z. Classification and salt-tolerance of actinomycetes in the Qinghai lake water and lakeside saline soil // Journal of Sustainable Development. – 2009. – Vol. 2 (1). – P. 107–110.
17. Yanti A.H., Setyawati T.R., Kurniatuhadi R. Composition and Characterization of actinomycetes isolated from nipah mangrove sediment, gastrointestinal and fecal pellets of Nipah worm (*Namalycastis Rhodhocorde*) // International Conference of Mangroves and Its Related Ecosystems:OP Conf. Series: Earth and Environmental Science. – 2019. – Vol. 550. – P. 1–11.

REFERENCES

1. Bilyavs'ka L.O. Actinobacteria of the genus *Streptomyces* and their metabolites in plant bioregulation: dis. doc. biol. nauk. Kiev. 2018: 485 p. [in Ukrainian]
2. Anderson AS, Wellington EMH. The taxonomy of *Streptomyces* and related genera. Journal Systematic and Evolution Microbiology. 2001; 51 (3): 797–814. doi:10.1099/00207713-51-3-797.
3. Cumsille A, Undabarrena A, González V, Claverías F, Rojas C, Cámara B. Biodiversity of actinobacteria from the South Pacific and the assessment of *Streptomyces* chemical diversity with metabolic profiling. Mar. Drugs. 2017; 15: 286.
4. Dastager SG, Wen-Jun L, Dayanand A, Shu-Kun T, Xin-Peng T, Xiao-Yang Z, Li-Hua X, Cheng-Lin J. Separation, identification and analysis of pigment (melanin) production in *Streptomyces*. African Journal of Biotechnology. 2006; 5 (8):1131-1134.
5. Gandhimathi R, Arunkumar M, Selvin J, Thangavelu T, Sivaramkrishnan S, Kiran GS, Shanmughapriya S, Natarajaseenivasan K. Antimicrobial potential of sponge associated marine actinomycetes. Journal de Mycologie. 2008; 18 (1):16-22. doi: 10.1016/j.mycmed.2007.11.001.
6. Ghanem N, Sabry S, El-Sherif, El-Ela G. Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria. The Journal of general and applied microbiology. 2000; 46: 105-111.



7. Kassambara A. Practical guide to cluster analysis in R: Unsupervised machine learning. STHDA. 2017: 187 p.
8. Li Q, Chen X, Jiang Y, Jiang C. Cultural, physiological, and biochemical identification of actinobacteria. *Actinobacteria Basics and Biotechnological Applications*. 2016: 87–111.
9. MIS Operation Manual. www.midi-inc.com. September. 2012. Newark.
10. Ramesh S, Detmer S. Marine Rare Actinomycetes: A Promising Source of Structurally Diverse and Unique Novel Natural Products. *Mar. Drugs*. 2019; 17: 249. doi:10.3390/md17050249.
11. Ramesh S, Mathivanan N. Screening of marine actinomycetes isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2009; 25: 2103–2111. doi:10.1007/s11274-009-0113-4.
12. Sasser M. Bacterial identification by gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters (GC-FAME). Technical Note 101. Newark, DE: MIDI. 2006.
13. Shirling EB, Gottlieb D. Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 1966; 16: 313–40.
14. Subramani R, Aalbersberg W. Culturable rare actinomycetes: Diversity, isolation and marine natural product discovery. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2013; 97: 9291–9321.
15. Vicente J, Stewart A, Song B, Hill RT, Wright JL. Biodiversity of actinomycetes associated with caribbean sponges and their potential for natural product discovery. *Mar. Biotechnol.* 2013; 15: 413–424.
16. Yan C, Xue Q, Zhan-quan C, Rong Z. Classification and salt-tolerance of actinomycetes in the Qinghai lake water and lakeside saline soil. *Journal of Sustainable Development*. 2009; 2 (1): 107–110. doi:10.5539/JSD.V2N1P107.
17. Yanti AH, Setyawati TR, Kurniatuhadi R. Composition and Characterization of actinomycetes isolated from Nipah mangrove sediment, gastrointestinal and fecal pellets of Nipah worm (*Namalycastis Rhodhocorde*): International Conference of Mangroves and Its Related Ecosystems: OP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2019; 550: 1–11. doi:10.1088/1755-1315/550/1/012003.

Стаття надійшла до редакції 03.12.2021 р.

