

О.В. Сищикова

Криворізький ботанічний сад НАН України, вул. Маршака, 50, Кривий Ріг, 50089, Україна,
тел.: +38 (0564) 38 44 74, e-mail: oksana741015@rambler.ru

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА ТАКСОНОМІЧНИЙ СКЛАД СТРЕПТОМІЦЕТІВ ПРИРОДНИХ ҐРУНТІВ ТА ТЕХНОЗЕМІВ КРИВОРІЖЖЯ

Мета. Виділити з техногенно-порушених та природних ґрунтів Криворіжжя стрептоміцети, встановити їх таксономічний склад і провести ідентифікацію та оцінити структуру угруповання стрептоміцетів. **Методи.** Чисті культури стрептоміцетів виділяли на крохмало-аміачному агарі. Ідентифікацію ізолятів стрептоміцетів проводили за 36 морфологічними, культуральними та фізіолого-біохімічними властивостями, діагностичними ознаками з використанням методичних вказівок визначника актиноміцетів Г.Ф. Гаузе, опису видів роду *Streptomyces* та комп'ютерної програми їх ідентифікації *StmId*, розробленої співробітниками Інституту мікробіології та вірусології НАН України. **Результати.** За даними морфології спор 63,8% досліджених культур мають гладку поверхню спор, 24,1% – з шиповидними виростами, 8,6% – з горбистими виростами [3]. Більшість виділених з ґрунтів стрептоміцетів мають прямі спороносії, розташовані моноподіально. Встановлено, що за шкалою кольорів О.С. Бондарцева на мінеральному агарі Гаузе-1 кількість ізолятів з білим та сірим повітряним міцелієм становила по 29%. Для субстратного міцелію багатьох ізолятів характерні відтінки коричневого та бурого кольорів. Серед виділених штамів мікроорганізмів 40% здатні утворювати розчинні пігменти, 64% – меланоїдні. Встановлено, що майже всі ізоляти добре ростуть на середовищі з глюкозою і цукрозою. Найменш придатним для росту бактерій є середовище з ксилозою. Встановлено, що процес дезамінування амінокислот з утворенням аміаку здійснюють 64% вивчених культур, а до утилізації сірководнісних амінокислот, з утворенням сірководню здатні 57% ізолятів. Всі вивчені культури з різною інтенсивністю проявляють амілолітичну, целюлозолітичну та протеолітичну активність. **Висновки.** З'ясовано видовий склад угруповань стрептоміцетів техногенно-порушених та природних ґрунтів Криворіжжя. Встановлено, що в ценозі стрептоміцетів природних ґрунтів переважали *Streptomyces violaceotaculatus*, *S. sporotherbeus*, *S. aerionidulus*, *S. enduracidicus* та *S. griseus*, в той час як в техноземах – *S. dayalbaghensis*, *S. sporostellatus*, *S. conganensis*, *S. violobrunneus* і *S. albocrustus*.

Ключові слова: стрептоміцети, мікробіоценоз, техногенно-порушені і природні ґрунти.

Проблема зростаючого забруднення навколишнього середовища важкими металами потребує від ґрунтової мікробіології і агроєкології вивчення їх впливу на ґрунт і ґрунтові мікроорганізми [1, 13]. Техногенний вплив призводить до



формування специфічного комплексу стрептоміцетів, який значно відрізняється від угруповань природних екосистем і може бути використаний для вирішення деяких прикладних питань екології мікроорганізмів і біології ґрунтів. Зважаючи на це, для регіонів України з розвинутою промисловістю важливим і практично не дослідженим є встановлення структурних перебудов мікробіоценозу ґрунтів (зокрема, стрептоміцетів) як при хімічному забрудненні, так і за інших видів антропогенного впливу. Високий ступінь адаптаційної пластичності стрептоміцетів дозволяє їм успішно існувати і в ґрунтах за різного ступеня техногенного навантаження, про що свідчить спроможність угруповання стрептоміцетів ґрунту в умовах забруднення важкими металами утворювати протеолітичні ферменти, меланоїдні пігменти, лектини, антибіотики та інші біологічно активні речовини [8, 9, 14, 16]. Спираючись на літературні дані, можливо припустити перспективність використання стрептоміцетів як одного з показників в системі мікробної біоіндикації забруднених важкими металами ґрунтів та продуцентів біологічно активних сполук, які можуть використовуватися для потреб біотехнології.

Метою досліджень було проведення ідентифікації ґрунтових стрептоміцетів, встановлення структури їх угруповання, що відображає просторово-часове співвідношення деяких таксонів міцеліальних прокариотних організмів і сприяє виявленню загальних закономірностей їх розповсюдження в природних і техногенно-порушених субстратах.

Матеріали та методи досліджень

Об'єктом досліджень були 58 ізолятів стрептоміцетів, виділених з природних ґрунтів регіону: чорнозем звичайний малопотужний суглинистий прибалкова ділянка балки Власова (Петровський р-н Кіровоградська обл), чорнозем південний солонцюватий середньопотужний, солончак гідроморфний і солонець автоморфний, які розташовані в районі балки Свистунова (м. Кривий Ріг) та едафотопів відвалів і хвостосховищ публічного акціонерного товариства (ПАТ) "Північний гірничозбагачувальний комбінат" м. Кривий Ріг. Для мікробіологічного посіву і подальшого виділення стрептоміцетів готували ґрунтову суспензію, яку висівали на крохмало-аміачний агар. Чисті культури стрептоміцетів отримували методом виснажувального штриха з подальшим перенесенням культури з ізольованої колонії в пробірку [12]. Ізоляти стрептоміцетів ідентифікували за 36 діагностичними ознаками:

а) морфологічні – характер поверхні оболонки спор та тип галуження спорноносців за допомогою сканувального електронного мікроскопа JEOL JSM-6060 LA (Японія);

б) культуральні – візуально за характером росту і забарвлення повітряного і субстратного міцелію, а також за наявністю розчинних і меланоїдних пігментів на поживних середовищах: вівсяний агар, крохмало-аміачний агар, мінеральний агар Гаузе-1, гліцерин-нітратний агар, гліцерин-аспарагіновий агар, глюкозо-аспарагіновий агар, глюкозо-нітратний агар, цукрозо-нітратний



агар, середовище Ваксмана (забарвлення повітряного та субстратного міцелію) за А.С. Бондарцевим [2];

в) фізіолого-біохімічні – за здатністю утилізувати вуглеводи (глюкоза, цукроза, арабіноза, ксилоза, фруктоза, рафіноза, рамноза), поліцукри (целюлоза), багатоатомні спирти (маніт, сорбіт), відновлювати нітрати до нітритів і/або молекулярного азоту, утворювати сірководень і аміак, синтезувати позаклітинні ферменти (амілаза, колагеназа) за О.В. Валагуровою [3, 7, 10, 15].

Ідентифікацію ізольованих представників роду *Streptomyces* здійснювали за методичними вказівками визначника актиноміцетів Г.Ф. Гаузе [11], опису видів актиноміцетів роду *Streptomyces* [3] та комп'ютерної програми для їх ідентифікації StmId, розробленої співробітниками Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Результати та їх обговорення

У результаті вивчення біологічних ознак 58 штамів стрептоміцетів ізольованих з техногенно-порушених та природних ґрунтів Криворіжжя та комп'ютерної програми їх віднесено до 36 видів роду *Streptomyces* (табл. 1).

Таблиця 1

Результати ідентифікації виділених культур стрептоміцетів

Table 1

Results of identification of streptomycetes abstracted cultures

Вид	Штам	%
<i>S. acidiscabies</i> Lambert et Doria, 1989	11	95,1
<i>S. aerionidulus</i> Krasil'nikov, 1970	7, 14, 47, 51, 55, 60, 62	89,5
<i>S. albocrustus</i> Krasil'nikov, 1970	3	87,3
<i>S. alboflaveolus</i> Krasil'nikov, 1970	35	92,3
<i>S. atratus</i> ^v Shibata, Higaside, Yamamoto et Nakazawa, 1962	17, 61	87,9
<i>S. brasiliensis-1</i> (Spencer, 1921), Waksman, 1961	4, 25	97,2
<i>S. caelestis</i> ^v de Boer, Dietz, Wilkins et al., 1955	40	96,0
<i>S. canadensis</i> Miller, Stapley et Woodruff, 1967	27, 29	87,5
<i>S. cinereorectus</i> ^v (Ghugasova, Terekhova, et Fedorova, 1974) Terekhova et Preobrazhenskaya, 1983	38	88,9
<i>S. conganensis</i> Linder, Wallhausser et Weidenmuller, 1960	6	95,9
<i>S. curacoï</i> ^v Cataldi, 1962	65	91,5
<i>S. dayalbaghensis</i> Sinha et Sharma, 1981	18, 20, 46, 64	97,0
<i>S. ederensis</i> ^v Lindner, Wallhausser et Huber, 1962	1, 13	85,1



Вид	Штам	%
<i>S. enduracidicus</i> Krasil'nikov, 1970	23	89,9
<i>S. fragmentosporus</i> ^v Henssen, 1969	9, 19	89,6
<i>S. globosus</i> ^v (Krasil'nikov, 1941), Waksman, 1953	53, 54, 56	92,0
<i>S. grisinus</i> (Krasil'nikov 1958), Pridham, 1970	21, 30, 45	94,5
<i>S. hirsutus</i> ^v Ettliger, Corbaz et Hutter, 1958	44	87,5
<i>S. hofunensis</i> Yamamoto et Wara, 1977	34	94,8
<i>S. lactogriseus</i> Krasil'nikov, 1970	8, 36	97,3
<i>S. luteolucescens</i> (Yen, 1956), Pridham, 1970	2	95,0
<i>S. marinolimosus</i> (ZoBell et Upham, 1944), Waksman, 1961	15, 26, 59	97,8
<i>S. nidulosus</i> Krasil'nikov, 1970	43	96,5
<i>S. nigriaromaticus</i> (Berestnev, 1897), Krasil'nikov, 1970	63	87,9
<i>S. ravulus</i> Krasil'nikov, 1970	12	89,8
<i>S. salmonicolor</i> Millard et Burr, 1926	58	94,3
<i>S. septisporus</i> Krasil'nikov, 1970	48	96,7
<i>S. spitsbergensis</i> Wiczorek, Mordarska, Zakrzewska-Cerwinska et al, 1993	52	89,1
<i>S. sporocanensis</i> Krasil'nikov, 1970	49	91,5
<i>S. sporoherbeus</i> Krasil'nikov, 1970	33	98,7
<i>S. spororutilis</i> Krasil'nikov, 1970	41	85,8
<i>S. sporostellatus</i> Krasil'nikov, 1970	31	88,8
<i>S. subhalophilus</i> Zhou Peijin, Wang Dazhen, 1983	16, 50	96,7
<i>S. tateyamensis</i> Miyairi, Miyoshi, Aoki et al, 1970	28	95,0
<i>S. violaceomaculatus</i> Yen et Zhang, 1965	37	97,3
<i>S. violobrunneus</i> Krasil'nikov, 1970	10	98,0

Примітка: ^v – вид входить до складу схвалених назв (valid names), % – відсоток збігу з колекційними культурами Інституту мікробіології і вірусології НАН України

Note: ^v – the species is included into the list of the approved names (valid names), % – percentage of coincidence with collection cultures of the Institute of Microbiology and Virology of NASU



Вивчення морфології спор у 58 виділених з ґрунтів штамів стрептоміцетів за допомогою сканувального електронного мікроскопа показало, що вони мають форму від округлої до прямокутної і розташовані як поодинокі, так і зібрані у вигляді ланцюжків. Окрім цього, 63,8% досліджених штамів мають гладку поверхню спор (рис. а), 24,1% – з шиповидними виростами (рис. б), 8,6% – з горбистими виростами. Для *S. griseus* 30 характерна наявність волосків на поверхні оболонки спор (рис. в). У всіх ізолятів спори на повітряному міцелії зібрані в ланцюжки різної форми. Більшість виділених з ґрунтів стрептоміцетів мають прямі спороносці, розташовані моноподіально. Тільки у штамів *S. acidiscabies* 11, *S. subhalophilus* 16, *S. dayalbaghensis* 20 та *S. canadensis* 27 прямі спороносці зібрані в кільця або в несправжні кільця. У той час як для штаму *S. canadensis* 29 характерна пряма форма спороносців, які зібрані в первинні та вторинні кільця. Ізоляти зі спіральною формою ланцюжків спор, що розташовані моноподіально, становлять 17,2% від загальної кількості досліджуваних культур. У ізолятів *S. fragmentosporus* 19, *S. enduracidicus* 23 та *S. dayalbaghensis* 64 спостерігається формування спороносців у вигляді недокончених спіралей, зібраних в кільця.

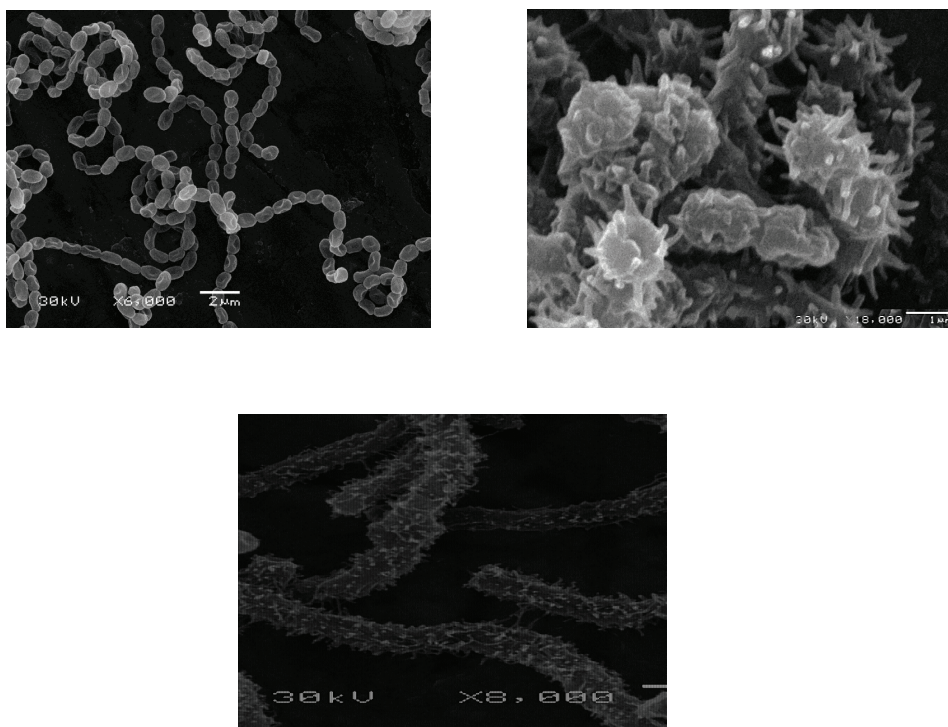


Рис. Характер поверхні оболонки спор:

а – гладка (*S. brasiliensis-1*), б – з шиповидними виростами (*S. curacoï*),
в – з волосовидними виростами (*S. griseus*)

Fig. Character of spore surface:

a – smooth (*S. brasiliensis-1*), б – aculeiform (*S. curacoï*), в – with hairs (*S. griseus*)

Колір повітряного міцелію зумовлюється забарвленням оболонки спор, яке за Г.Ф. Гаузе найхарактерніше проявляється на синтетичних середовищах [11]. Так, за шкалою кольорів А.С. Бондарцева [2], на мінеральному агарі Гаузе-1 кількість ізолятів з білим повітряним міцелієм становила 29,3%. Така ж кількість ізолятів має сірий колір і його відтінки. Решта мають колір повітряного міцелію кремовий, рожево-ліловий, оранжево-ліловий, палевий, рожево-фіолетовий, каштановий. Для субстратного міцелію багатьох ізолятів характерні відтінки коричневого та бурого кольорів. Різні відтінки фіолетового має 24,1% штамів, а жовтого і оранжевого – 17,3%. У п'яти штамів субстратний міцелій сірий або свинцево-сірий, а у штамів *S. canadensis* 27 – іржавий та *S. hirsutus* 44 – червоний. Аналогічні дані різноманітності спектру забарвлення повітряного та субстратного міцелію стрептоміцетів отримані Н. Maleki [17].

Встановлено, що 40% штамів мають здатність утворювати розчинні пігменти. Серед них 11 ізолятів – утворюють пігменти коричневого, червоно-коричневого та бурого кольорів, 4 – рожевого, 2 – бордового, штами *S. ederensis* 1, 13 – фіолетового, *S. grisinus* 21 і *S. globosus* 54 – зеленого і *S. fragmentosporus* 19 – лимонно-жовтого на мінеральному агарі Гаузе-1.

Здатність ізолятів утворювати меланоїдні пігменти з'ясували на пептонодріжджовому агарі з ферумом. Серед вивчених ізолятів 64% від загальної кількості виділених ізолятів здатні утворювати меланоїдні пігменти темно-зелено-бурого, бурого або чорного кольору.

Встановлено, що використовувати як джерело вуглецю глюкозу та цукрозу здатні майже всі виділені штами, що також показано іншими дослідниками [3, 10, 15]. Разом з цим, у ізолятів *S. marinolimosus* 59 та *S. salmonicolor* 58 на середовищі з глюкозою і у останнього – з цукрозою ріст не відмічено (табл. 2). Найменш придатним середовищем для росту виділених стрептоміцетів є середовище з ксилозою, тому що майже у 38% ізолятів ріст відсутній. На середовищах з фруктозою, рамнозою, арабінозою та рафінозою відмічена візуально різна швидкість росту культур стрептоміцетів (табл. 2). Так, при використанні фруктози як джерела вуглецю більше ніж 55% ізолятів добре росли, і лише у 11 ізолятів відмічено слабкий ріст (штам *S. violaceomaculatus* 37), водночас у 14 культур – ріст відсутній. Середовище із рамнозою є досить придатним для росту стрептоміцетів, оскільки відсутність росту спостерігали лише у 5 штамів. Використання арабінози та рафінози як джерела вуглецю показало наявність схожої тенденції. Так, нездатними до утилізації цих вуглеводів є штами *S. aerionidulus* 55, *S. marinolimosus* 59, *S. aerionidulus* 62 та *S. nigriaromaticus* 63, в той час як штами *S. tateyamensis* 28, *S. salmonicolor* 58, *S. atratus* 61 та *S. curacoi* 65 не утилізують рафінозу і тільки один ізолят *S. lactogriseus* 36 – арабінозу. Для більшості ізолятів притаманна властивість утилізації багатоатомних спиртів (сорбіт, маніт, інозит).

Для багатьох культур характерний дуже добрий або добрий ріст на середовищах з цими спиртами. Водночас у деяких ізолятів спостерігається слабкий ріст на середовищі з будь-яким з трьох спиртів і його відсутність на середовищі з двома іншими спиртами (табл. 2).



Таблиця 2

Ріст на середовищі з різними джерелами вуглецю

Table 2

Growth on mediums with different sources of carbon

Штам	Фрук-тоза	Кси-лоза	Глю-коза	Саха-роза	Ара-біноза	Рафі-ноза	Сор-біт	Ман-ніт	Іно-зит
<i>S. ederensis</i> 1	+++	–	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>S. ederensis</i> 13	–	–	+++	+++	+	+++	++	+++	+++
<i>S. luteolucescens</i> 2	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	–
<i>S. albocrustusus</i> 3	+++	++	+++	++	+++	+++	+	+++	+++
<i>S. brasiliensis-1</i> 4	+++	+++	+++	++	+	++	++	+++	–
<i>S. brasiliensis-1</i> 25	+	–	+++	+++	+	++	++	+++	++
<i>S. conganensis</i> 6	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++
<i>S. aerionidulus</i> 7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++
<i>S. aerionidulus</i> 14	+++	+++	+++	+++	+	+	–	+++	++
<i>S. aerionidulus</i> 47	+++	+++	+++	+	+++	+	++	+++	+
<i>S. aerionidulus</i> 51	++	+	++	++	+++	+++	++	+++	+++
<i>S. aerionidulus</i> 55	+++	+++	+++	++	–	–	+	–	–
<i>S. aerionidulus</i> 60	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
<i>S. aerionidulus</i> 62	+++	+++	++	+++	–	–	++	–	++
<i>S. lactogriseus</i> 8	+++	+++	++	+++	+++	+	+	+++	+++
<i>S. lactogriseus</i> 36	–	–	++	+++	–	+	+	+++	+++
<i>S. fragmentosporus</i> 9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	++
<i>S. fragmentosporus</i> 19	–	+	+	++	+	++	++	++	+++
<i>S. violobrunneus</i> 10	–	–	+++	+++	++	+++	+	+++	++
<i>S. acidiscabies</i> 11	+++	+++	+++	++	+	+	++	+++	+++
<i>S. ravulus</i> 12	+	+	+++	+	++	+++	+	+	++
<i>S. marinolimosus</i> 15	+	–	++	+	+	+	++	+	+++
<i>S. marinolimosus</i> 26	+	+	++	++	+	+	–	+	++
<i>S. marinolimosus</i> 59	–	–	–	+	–	–	+	++	+++
<i>S. subhalophilus</i> 16	++	–	++	+++	+	+++	++	++	+++
<i>S. subhalophilus</i> 50	++	–	++	++	+	+	++	++	+++
<i>S. atratus</i> 17	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
<i>S. atratus</i> 61	+	+	+	+++	++	–	++	++	+
<i>S. dayalbaghensis</i> 18	+	–	+++	+++	++	+++	++	+++	+++



Штам	Фрук-тоза	Кси-лоза	Глю-коза	Саха-роза	Ара-біноза	Рафі-ноза	Сор-біт	Ман-ніт	Іно-зит
<i>S. dayalbaghensis</i> 20	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	–	–
<i>S. dayalbaghensis</i> 46	–	–	+++	++	+++	+++	+	++	–
<i>S. dayalbaghensis</i> 64	++	+	++	+++	++	+++	–	+++	+++
<i>S. grisinus</i> 21	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+++
<i>S. grisinus</i> 30	+++	+++	+++	++	+++	++	+	+	++
<i>S. grisinus</i> 45	++	–	++	++	++	+++	+	+++	+++
<i>S. enduracidicus</i> 23	–	+	++	+++	++	+++	+	+++	++
<i>S. canadensis</i> 27	+	++	++	+	++	+	++	++	+++
<i>S. canadensis</i> 29	++	–	+++	+++	++	+++	+	+	–
<i>S. tateyamensis</i> 28	+	–	+	+	++	–	+	–	–
<i>S. sporostellatus</i> 31	–	–	+++	++	++	+++	–	++	++
<i>S. sporotherbeus</i> 33	+	+	+++	+++	++	+++	+	+++	+
<i>S. hofunensis</i> 34	–	+	+++	++	+	+++	+	+	–
<i>S. alboflaveolus</i> 35	+++	+++	+++	++	+++	++	++	++	–
<i>S. violaceomaculatus</i> 37	+	–	+++	+++	+	+++	++	+++	+
<i>S. cinereorectus</i> 38	+++	–	+++	++	+	+	+	++	–
<i>S. caelestis</i> 40	+++	++	+++	+++	++	+++	+	+	+++
<i>S. spororutilis</i> 41	+	–	+++	+++	++	+++	+	+++	+++
<i>S. nidulosus</i> 43	–	–	++	+	+	+	+	++	+++
<i>S. hirsutus</i> 44	+++	++	+	+++	+++	+++	–	++	++
<i>S. septisporus</i> 48	–	–	+	+++	++	+++	+	+	++
<i>S. sporocanensis</i> 49	–	–	++	++	+++	++	+	+	–
<i>S. spitsbergensis</i> 52	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
<i>S. globosus</i> 53	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	++
<i>S. globosus</i> 54	++	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	+
<i>S. globosus</i> 56	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
<i>S. salmonicolor</i> 58	–	+++	–	–	+++	–	++	–	+
<i>S. nigriaromaticus</i> 63	–	–	++	+	–	–	–	+	–
<i>S. curacoi</i> 65	++	+	+	++	+++	–	–	+++	++

Примітка: +++ дуже добрий ріст, ++ добрий ріст, + слабкий ріст, – відсутність росту

Note: +++ very good growth or reaction, ++ good growth or reaction, + weak growth or reaction, – lack of growth or reaction



Так, наприклад, штами *S. dayalbaghensis* 20, *S. tateyamensis* 28 та *S. aerionidulus* 55 мають слабкий ріст на середовищі з сорбітом і не здатні утилізувати всі інші спирти, а штам *S. nigriaromaticus* 63 має слабкий ріст у варіантах дослідів з манітом та відсутність росту за використання сорбіту та інозиту і *S. aerionidulus* 14, *S. marinolimosus* 26, *S. sporostellatus* 31, *S. hirsutus* 44, *S. dayalbaghensis* 64 та *S. curacoii* 65 не утилізують тільки сорбіт. Всі інші ізоляти погано засвоюють тільки один зі спиртів, а на середовищах з іншими мають дуже добрий або добрий ріст. Так, ізолят *S. albocrustosus* 3 практично не росте на середовищі з сорбітом, але успішно утилізує інші спирти.

Переважає кількість стрептоміцетів здатна засвоювати азотоорганічні сполуки, наприклад пептони і білки. Проведені дослідження дозволили встановити, що процес дезамінування амінокислот з утворенням аміаку здійснюють 64% вивчених культур, а до розщеплення сірководневих амінокислот, з утворенням сірководню здатні 57% ізолятів. Деякі стрептоміцети здатні використовувати як кінцевий акцептор електронів не кисень, а нітрати. Висока активність нітратредуктази, яка зумовлює відновлення нітратів притаманна 18 культурам, поряд з цим менша інтенсивність її властива 7 ізолятам, тоді як 57% культур не здатні використовувати нітрати як акцептори електронів. Молекулярний азот утворювали лише 12 культур.

Всі вивчені культури проявляють амілолітичну, целюлозолітичну та протеолітичну активність, проте інтенсивність продукування цих ферментів різна (табл. 3). Так, продукувати амілазу і колагеназу здатні майже всі вивчені ізоляти, за винятком культур *S. atratus* 61, *S. aerionidulus* 62 і *S. nigriaromaticus* 63, які не гідролізують крохмаль, а *S. atratus* 61, *S. aerionidulus* 62 і *S. curacoii* 65, що не розріджують желатин. Вивчення целюлозолітичної активності показало, що 57% ізолятів мають дуже добрий або добрий ріст на фільтрувальному папері, зануреному в рідке поживне середовище (м'ясо-пептонний бульйон) і тільки 3 штами його руйнують (*S. marinolimosus* 15, 26, 59).

Мікроорганізми, які виділяють протеолітичні ферменти (протеази), через декілька днів викликають коагуляцію і пептонізацію молока, що супроводжується розчиненням казеїну та випаданням осаду і проясненням молочної сироватки. Коагуляцію молока і протеоліз казеїну здійснюють також ізоляти *S. conganensis* 6, *S. aerionidulus* 7, *S. alboflaveolus* 35, *S. spitsbergensis* 52, *S. globosus* 54 і 56, а слабка позитивна реакція спостерігається у 13 культур. Повна відсутність протеолітичних ферментів відмічена лише у двох культур *S. atratus* 61 і *S. curacoii* 65, а у ізолятів *S. aerionidulus* 60 і 62 зафіксовано дуже слабе виділення лише одного з трьох ферментів в середовище.

Таким чином, проведені дослідження уможливили вперше з'ясувати видовий склад угруповання стрептоміцетів в ґрунтах, порушених діяльністю підприємств гірничорудної промисловості і природних ґрунтах Криворіжжя. Встановлено, що в ценозі стрептоміцетів природних ґрунтів переважали *S. violaceomaculatus*, *S. sporotherbeus*, *S. aerionidulus*, *S. enduracidicus* та *S. griseus*, в той час як в техноземах – *S. dayalbaghensis*, *S. sporostellatus*, *S. conganensis*, *S. violobrunneus* і *S. albocrustosus*.



Здатність штамів стрептоміцетів до утворення ферментів

Ability of streptomycetes strains to formation of enzymes

Штам	Амілолітична активність	Целюлозолітична активність		Протеолітична активність		
		Ріст	Руйнування	Розрідження желатину	Протеоліз казеїну	Коагуляція молока
1	2	3	4	5	6	7
<i>S. ederensis</i> 1	++	++	–	+++	–	+++
<i>S. ederensis</i> 13	+	+++	–	+++	–	–
<i>S. luteolucescens</i> 2	+++	+++	–	+++	–	++
<i>S. albocrustus</i> 3	++	++	–	+++	–	+++
<i>S. brasiliensis-1</i> 4	+++	+++	–	+++	–	+++
<i>S. brasiliensis-1</i> 25	++	++	–	++	++	+
<i>S. conganensis</i> 6	+++	+++	–	+++	+++	++
<i>S. aerionidulus</i> 7	+++	–	–	+++	+++	+++
<i>S. aerionidulus</i> 14	++	–	–	+++	–	+++
<i>S. aerionidulus</i> 47	+++	–	–	+++	–	+
<i>S. aerionidulus</i> 51	+++	–	–	++	–	+
<i>S. aerionidulus</i> 55	+++	–	–	++	–	–
<i>S. aerionidulus</i> 60	–	–	–	+	–	–
<i>S. aerionidulus</i> 62	++	–	–	–	–	+
<i>S. lactogriseus</i> 8	+	–	–	+++	–	++
<i>S. lactogriseus</i> 36	+++	–	–	+++	–	+
<i>S. fragmentosporus</i> 9	+++	++	–	+++	–	++
<i>S. fragmentosporus</i> 19	+	+	–	+++	–	++
<i>S. violobrunneus</i> 10	+	+	–	+++	++	+
<i>S. acidiscabies</i> 11	+++	+++	–	+++	–	+
<i>S. ravulus</i> 12	+++	–	–	+++	+	+
<i>S. marinolimosus</i> 15	++	+	+	+++	+	+
<i>S. marinolimosus</i> 26	++	++	++	+++	+	–
<i>S. marinolimosus</i> 59	++	+	+	+++	+	+
<i>S. subhalophilus</i> 16	+++	–	–	+++	–	–
<i>S. subhalophilus</i> 50	++	–	–	++	–	–
<i>S. atratus</i> 17	+++	+++	–	++	++	+
<i>S. atratus</i> 61	–	–	–	–	–	–



1	2	3	4	5	6	7
<i>S. dayalbaghensis</i> 18	++	++	–	++	++	+
<i>S. dayalbaghensis</i> 20	+++	+++	–	+++	+	+
<i>S. dayalbaghensis</i> 46	++	+++	–	+++	+	++
<i>S. dayalbaghensis</i> 64	+++	++	–	++	+	+
<i>S. grisinus</i> 21	+++	–	–	+++	+	–
<i>S. grisinus</i> 30	+	–	–	++	–	+
<i>S. grisinus</i> 45	+++	+++	–	+++	–	–
<i>S. enduracidicus</i> 23	+++	–	–	+++	–	+++
<i>S. canadensis</i> 27	+++	+++	–	+++	+++	+
<i>S. canadensis</i> 29	+++	–	–	+++	+++	–
<i>S. tateyamensis</i> 28	+	–	–	++	–	–
<i>S. sporostellatus</i> 31	+++	–	–	+++	–	–
<i>S. sporotherbeus</i> 33	+	++	–	+++	–	+
<i>S. hofunensis</i> 34	+	–	–	+++	–	–
<i>S. alboflaveolus</i> 35	+++	–	–	+++	+++	++
<i>S. violaceomaculatus</i> 37	++	++	–	+++	++	–
<i>S. cinereorectus</i> 38	++	–	–	++	–	–
<i>S. caelestis</i> 40	++	+	–	+++	–	–
<i>S. spororutilis</i> 41	+	+	–	+++	+	–
<i>S. nidulosus</i> 43	+++	+++	–	+++	+++	–
<i>S. hirsutus</i> 44	++	+++	–	++	–	++
<i>S. septisporus</i> 48	+++	–	–	+++	–	+
<i>S. sporocanensis</i> 49	++	+	–	++	+	+
<i>S. spitsbergensis</i> 52	+++	+++	–	+	+++	+
<i>S. globosus</i> 53	+++	++	–	++	–	–
<i>S. globosus</i> 54	+++	++	–	++	+++	+++
<i>S. globosus</i> 56	+++	+++	–	++	+++	+
<i>S. salmonicolor</i> 58	+++	–	–	+	+	+
<i>S. nigriaromaticus</i> 63	–	–	–	+++	+	–
<i>S. curacoi</i> 65	+++	++	–	–	–	–

Примітка: +++ дуже добрий ріст, ++ добрий ріст, + слабкий ріст, – відсутність росту

Note: +++ very good growth or reaction, ++ good growth or reaction, + weak growth or reaction, – lack of growth or reaction



О.В. Сыщикова

Криворожский ботанический сад НАН Украины,
ул. Маршака, 50, Кривой Рог, 50089, Украина, тел.: +38 (0564) 38 44 74,
e-mail: oksana741015@ Rambler.ru

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ СТРЕПТОМИЦЕТОВ ПРИРОДНЫХ ПОЧВ И ТЕХНОЗЕМОВ КРИВОРОЖЬЯ

Реферат

Цель. Выделить из техногенно-нарушенных и природных почв Криворожья стрептомицеты, установить их таксономический состав, провести идентификацию и оценить структуру сообщества стрептомицетов. **Методы.** Выделение чистых культур стрептомицетов проводили на крахмало-аммиачном агаре. Идентификацию изолятов стрептомицетов проводили по 36 диагностическим признакам с использованием методических указаний определителя актиномицетов Г.Ф. Гаузе, описания видов рода *Streptomyces* и компьютерной программы их идентификации *StmId*, разработанной сотрудниками Института микробиологии и вирусологии НАН Украины. **Результаты.** Проведена идентификация выделенных штаммов бактерий по морфологическим, культуральным и физиолого-биохимическим свойствам. По данным морфологии спор 63,8% исследованных культур имеют гладкую поверхность спор, 24,1% – с шиповидными выростами, 8,6% – с бугорчатыми выростами. Большинство выделенных из почв стрептомицетов имеют прямые спороносцы, расположенные моноподиально. Установлено, что по шкале цветов А.С. Бондарцева на минеральном агаре Гаузе-1 количество изолятов с белым и серым воздушным мицелием составляло по 29%. Для субстратного мицелия многих изолятов характерны оттенки коричневого и бурого цветов. Среди выделенных штаммов микроорганизмов 40% способны к образованию растворимых пигментов, 64% – меланоидных. Установлено, что практически все изоляты хорошо растут на среде с глюкозой и сахарозой. Наименее пригодной для роста бактерий является среда с ксилозой. Установлено, что процесс дезаминирования аминокислот с образованием аммиака осуществляют 64% изученных культур, а к расщеплению серусодержащих аминокислот, с образованием сероводорода способны 57% изолятов. Все изученные культуры с разной интенсивностью проявляют амилолитическую, целюлозолитическую и протеолитическую активность. **Выводы.** Установлен видовой состав сообщества стрептомицетов техногенно-нарушенных и природных почв Криворожья. Установлено, что в ценозе стрептомицетов природных почв преобладали *S. violaceomaculatus*, *S. sporoharbus*, *S. aerionidulus*, *S. enduracidicus* и *S. griseus*, тогда как в техноземах – *S. dayalbaghensis*, *S. sporostellatus*, *S. conganensis*, *S. violobrunneus* и *S. albocrustus*.
Ключевые слова: стрептомицеты, микробиоценоз, техногенно-нарушенные и природные почвы.



O.V. Syshchykova

Kyryvy Rig botanical garden, NASU, 50, Marshaka str., Kyryvy Rig, 50089, Ukraine,
tel.: +38 (0564) 38 44 74, e-mail: oksana741015@rambler.ru

STREPTOMYCETES BIOLOGICAL PROPERTIES AND TAXONOMICAL STRUCTURE FROM NATURAL SOILS AND TECHNOZEMS OF KRYVYI RIG AREA

Summary

Aim to select the streptomycetes from technogenic-disturbed and natural soils of Kyryvy Rig area, to establish their taxonomical structure, to carry out their identification and to assess the structure of the streptomycetes community. **Methods.** Allocation of streptomycetes pure culture performed on starch-ammonia agar. Identification of streptomycetes isolates was performed by 36 diagnostic signs using H.F. Hauze guidelines actinomycetes determinant, the description of the genus *Streptomyces* and computer program of their identification *StmId*, developed by the employees of Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine. **Results.** There were carried out the identification of bacterial strains based on morphological, cultural and physiological-biochemical properties. According to the morphology of spores 63.8% of surveyed cultures with smooth surface of spores, 24.1% – with thorns, 8.6% – with hillocks. The most streptomycetes isolated from soil have direct sporophores located monopodial. On the scale of colors of A.S. Bondartsev there were established that on mineral agar of Gauze-1 the amount of isolates with white and grey air mycelium made on 29%. For substrate mycelium of many isolates the shades of brown color are characteristic. Among the selected strains of microorganisms of 40% are capable to formation of soluble pigments 64% – melanoid. It is established that practically all isolates well grow on medium with glucose and sucrose. The least suitable for bacterial growth is medium with xylose. It is determined that the process of desamination of amino acids to form ammonia carry 64% of the studied cultures, and the cleavage of sulfur-containing amino acids to form hydrogen sulfide are able 57% of isolates. All studied cultures exhibit amylolytic, cellulolytic and proteolytic activity with varying intensity. **Conclusions.** The specific structure of streptomycetes community from technogenic-disturbed and natural soils of Kyryvy Rig area is established. It is determined that *S. violaceomaculatus*, *S. sporoherbeus*, *S. aerionidulus*, *S. enduracidicus* and *S. grisinus* prevailed in streptomycetes cenosis of natural soils whereas in the technozems – *S. dayalbaghensis*, *S. sporostellatus*, *S. conganensis*, *S. violobrunneus* and *S. albocrustusus*.

Key words: streptomycetes, microbocenosis, technogenic-disturbed and natural soils.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ананьева Н.Д. Оценка устойчивости микробных комплексов почв к природным и антропогенным воздействиям / Н.Д. Ананьева, Е.В. Благодатская, Т.С. Демкина // Почвоведение. – 2002. – № 5. – С. 580–587.
2. Бондарцев А.С. Шкала цветов / Бондарцев А.С. – М., Л.: Изд-во АН СССР, 1954. – 27 с.



3. Валагурова Е.В. Актиномицеты рода *Streptomyces*, описание видов и компьютерная программа их идентификации / Валагурова Е.В., Козырицкая В.Е., Иутинская Г.А. – К.: Наукова думка, 2003. – 618 с.
5. Евдокимова Г.А. Микроорганизмы тундровых и лесных подзолов Кольского Севера / Г.А. Евдокимова, Н.П. Мозгова. – Апатиты: Изд-во КНЦ РАН, 2001. – 184 с.
7. Закалюкина Ю.В. Почвенные ацидофильные актиномицеты / Ю.В. Закалюкина, Г.М. Зенова, Д.Г. Звягинцев // Микробиология. – 2002. – Т. 71, № 3. – С. 399–403.
8. Зенова Г.М. Разнообразие актиномицетов в наземных экосистемах / Г.М. Зенова, Д.Г. Звягинцев. – М.: Изд-во МГУ, 2002. – 122 с.
9. Иутинская Г.А. Математическое моделирование в микробиологическом мониторинге почв, загрязненных тяжелыми металлами / Г.А. Иутинская // Почвоведение. – 2005. – № 5. – С. 594–599.
10. Калакуцкий Л.В., Агре Н.С. Развитие актиномицетов / Л.В. Калакуцкий, Н.С. Агре. – М.: Наука, 1977. – 287 с.
11. *Определитель* актиномицетов. Роды *Streptomyces*, *Streptoverticillum*, *Chainia* / [Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А. и др.]. – М.: Наука, 1983. – 248 с.
12. *Руководство к практическим занятиям по микробиологии* : учеб. пособие [3-е изд., перераб. и доп.] / Под ред. Н.С. Егорова. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – 224 с.
13. Гришко В.Н. Структурно-функциональные особенности сообщества актиномицетов в некоторых черноземах и засоленных почвах Украины / О.В. Сыщикова // Почвоведение. – 2010. – № 2 – С. 221–228.
14. *Функціонування мікробних ценозів ґрунту в умовах антропогенного навантаження* / [Андріюк К.І., Іутинська Г.О., Антипчук А.Ф. та ін.]. – К.: Обереги, 2001. – 233 с.
15. Anderson A.S. The taxonomy of *Streptomyces* and related genera / A.S. Anderson, E.M.H. Wellington // *Int. J. Syst. Evolu. Microbiol.* – 2001. – Vol. 51. – P. 797–814.
16. Kelly J.J. Effects of heavy metal contamination and remediation on soil microbial communities in the vicinity of a zinc smelter as indicated by analysis of microbial community phospholipid fatty acid profiles / J.J. Kelly, M.M. Haggblom, R.L. Tate // *Biol. Fert. Sols.* – 2003. – Vol. 38, № 2. – P. 65–71.
17. Maleki H. Isolation and molecular identification of *Streptomyces* spp. with antibacterial activity from northwest of Iran / H. Maleki, A. Dehnad, S. Hanifian, S. Khani // *BioImpacts.* – 2013. – Vol. 3, Iss. 3. – P. 129–134.

Стаття надійшла до редакції 11.07.2013 р.

