

УДК 579.64

ХАРАКТЕРИСТИКА STREPTOMYCES ИЗ ПУСТЫННЫХ ПОЧВ МОНГОЛИИ

Болормаа Ч., Тазетдинова Д.И., Алимова Ф.К.

ФГАОУ ВПО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,
Казань, e-mail: chboloroo0809@mail.ru

Изучены отдельные промышленно важные параметры метаболитов актиномицетов рода *Streptomyces* из пустынных почв Монголии: антибиотическая активность по отношению к тестерным микроорганизмам, влияние на ростовые свойства растений, мутагенный потенциал. Выявлены штаммы с наибольшим бактерицидным (S.2556 и S.2539) и фунгицидным действием (S.2419). 5 штаммов актиномицетов (S.2539, S.2479, S.2556, S.2472 и S.2419) из пустынных почв Монголии угнетали, 3 – стимулировали рост пшеницы (S.2352, S.2477 и S.2661). Выявленные штаммы могут быть использованы для создания биопрепаратов для стимулирования роста озимой пшеницы и биогербицидов сорных злаковых растений. Изученные штаммы актиномицетов не обладали мутагенным действием по отношению к *S. typhimurium* BA13 His⁺ в тесте Эймса без метаболической активации.

Ключевые слова: *Streptomyces*, антибиотическая активность, фитотоксичность, мутагенность

CHARACTERIZATION STREPTOMYCES FROM DESERT SOILS OF MONGOLIA

Bolormaa C., Tazetdinova D.I., Alimova F.K.

Kazan (Volga Region) federal university, Kazan, e-mail: chboloroo0809@mail.ru

We have investigated some industrially important qualities of actinomycetes from the genus *Streptomyces* which were isolated from desert soils of Mongolia: antibiotic activity against test-microorganisms, the effect on growth properties of plants and mutagenic potential. Two strains (S.2556 and S.2539) had highest bactericidal and one (S.2419) showed fungicidal effect. Five strains (S.2539, S.2479, S.2556, S.2472 and S.2419) inhibited and three – stimulated growth of wheat (S.2352 and S.2661, S.2477). These strains can be used to produce biological fertilizer to stimulate the growth of winter wheat and to produce bioherbicide for the weed of cereal plants. The studied strains of actinomycetes did not have mutagenic activity in relation to *S. typhimurium* BA13 His⁺ in Aims test, without metabolic activation.

Keywords: *Streptomyces*, antibiotic activity, phytotoxicity, mutagenicity

Актиномицеты составляют неотъемлемую часть почвенного микробного комплекса. Образую темнокрашенные пигменты – меланины, являющиеся предшественниками гумусовых веществ в почве, актиномицеты принимают участие в формировании почвенного плодородия и формировании азотного баланса почв [4, 6, 7, 10].

Также актиномицеты являются продуцентами многих ценных антибиотиков [11, 12], фитотоксинов и ростовых веществ (ауксины и др.). Такие продуценты могут использоваться для производства препаратов для растениеводства: биопестицидов, биогербицидов, стимуляторов роста растений [9]. Согласно требованиям к биопестицидам, принятым в Российской Федерации, необходима характеристика биохимических свойств продуцента: действие на целевой объект, мутагенность и т.д.

Целью настоящей работы явилась характеристика отдельных промышленно важных параметров метаболитов актиномицетов рода *Streptomyces*: антибиотическая активность по отношению к тестерным микроорганизмам, влияние на ростовые свойства пшеницы, мутагенный потенциал.

Материалы и методы исследования

В работе использованы актиномицеты рода *Streptomyces*: 2539, 2472, 2556, 2661, 2567, 2477, 2419, 2494, 2479, 2352, выделенные из верхнего горизонта пустынных почв Монголии (палево-бурой, крайне аридной и солончака).

Определение антибиотической активности актиномицетов по отношению к бактериям (*Bacillus subtilis*, *B. mycoides*, *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*) проводили методом лунок, к грибам рода *Fusarium spp.* 12 – методом штриха [5]. Используемые тестерные микроорганизмы выделены из различных мест обитания на территории республики Татарстан. Определение мутагенности актиномицетов определяли в тесте Эймса без метаболической активации [1]. В качестве тест-штамма использован *Salmonella typhimurium* BA13 His⁺, любезно предоставленный Маргулис А.Б. (кафедра микробиологии, КФУ).

Определение фитотоксичности культуральной жидкости (КЖ) актиномицетов проводили на семенах озимой пшеницы Мироновская 808 [3]. Контролями служили стерильная вода и питательная среда Гаузе [1]. Наличие в культуральной жидкости актиномицетов фитотоксинов определяли по ростовым эффектам: количество проросших семян, длина и масса проростков и корней. Токсичными считали культуры, которые вызывали снижение всхожести семян или угнетение роста проростков и корней не менее чем на 25 % по сравнению с контролем.

Культивирование микроорганизмов проводили на стандартных средах Чапека, Гаузе, мясо-пептонный агар (МПА).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью электронных таблиц Microsoft Excel 2007. Уровень значимости $p < 0,05$ [2].

Результаты исследования и их обсуждение

Определение антибиотической активности метаболитов актиномицетов

В основе антибиоза лежит способность одного вида организма выделять токсические вещества, угнетающие жизнедеятельность других. Актиномицеты рода *Streptomyces* экскретируют во внешнюю среду множество продуктов своего метаболизма, в том числе и антибиотики [5]. Они могут обладать бактериостатическим или

бактериолитическим, а также противогрибным действием.

Как показали результаты, антибиотической активностью по отношению к *M. luteus*, *P. mirabilis* обладали штаммы S.2539 (зона ингибирования роста бактерий составила 3 мм) и S.2556 (зона ингибирования роста бактерий составила 2 мм). Остальные актиномицеты не проявили антибиотическую активность.

Также изучено влияние актиномицетов на фитопатогенный гриб *Fusarium oxysporum* (рис. 1). Наибольшей антагонистической активностью обладал штамм S.2419, под действием которого диаметр колонии патогена был в 1,9 раз меньше по сравнению с контролем. Остальные варианты между собой достоверно не различались.

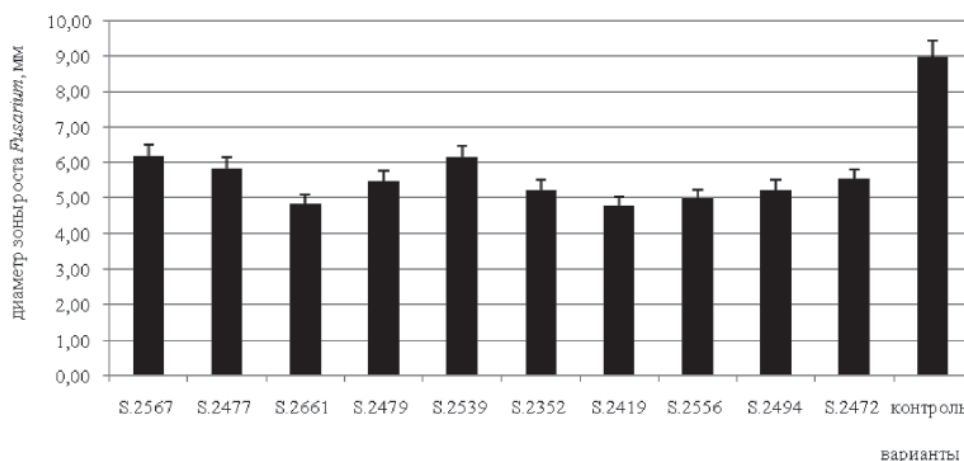


Рис. 1. Диаметр зоны роста *Fusarium* spp. 12 после действия культуральной жидкости актиномицетов. Контроль – без актиномицетов

Фитотоксичность культуральной жидкости актиномицетов

Наибольшее стимулирующее действие на пшеницу оказал штамм S.2352. Длина проростков была в 2,8 раз, а корней на 55,4% больше значений контроля.

Также стимулирующим действием на рост проростков и корней пшеницы обладали: стерильная среда Гаузе, штаммы S.2477, 2494 и 2661 (на 128,6% и 86,7%; 71% и 30,9; 115 и 49,6%; 56 и 31,6%, соответственно, больше по сравнению с контролем).

На длину проростков и корней ингибирующее действие оказали S.2556 (–42,6 и –62,1%), S.2472 (–37,4 и –65,3%), S.2539 (–42,2 и –80%), S.2419 (–47 и –39%), S.2479 (–40,5 и –76,7%) соответственно. Штамм S. 2567 оказал нейтральное действие (–8,8 и –23,9%) (рис. 2, а, б).

Наибольшая сырая масса корней отмечена при обработке КЖ S.2477 – в 4,7 раз больше по сравнению с контролем. Осталь-

ные варианты между собой и контролем достоверно не различались (рис. 3, а).

Наибольшая сырая масса проростков отмечена при обработке КЖ S.2477 – в два раза больше по сравнению с контролем. Остальные варианты между собой и контролем достоверно не различались (рис. 3, б).

Также была оценена сухая масса корней и проростков пшеницы. В контрольном варианте сухая масса корней пшеницы составила 0,02 г, при обработке стерильной средой Гаузе – 0,03 г. Сухая масса проростков в контроле и при обработке стерильной средой Гаузе составила 0,05 г.

Наибольшая сухая масса корней отмечена при обработке штаммом S.2352 – в 6 раз больше по сравнению с контролем. Остальные варианты между собой и контролем достоверно не различались (рис. 4, а).

Наибольшая сухая масса проростков отмечена при обработке штаммом S.2477 – в 2,4 раза больше по сравнению с контролем.

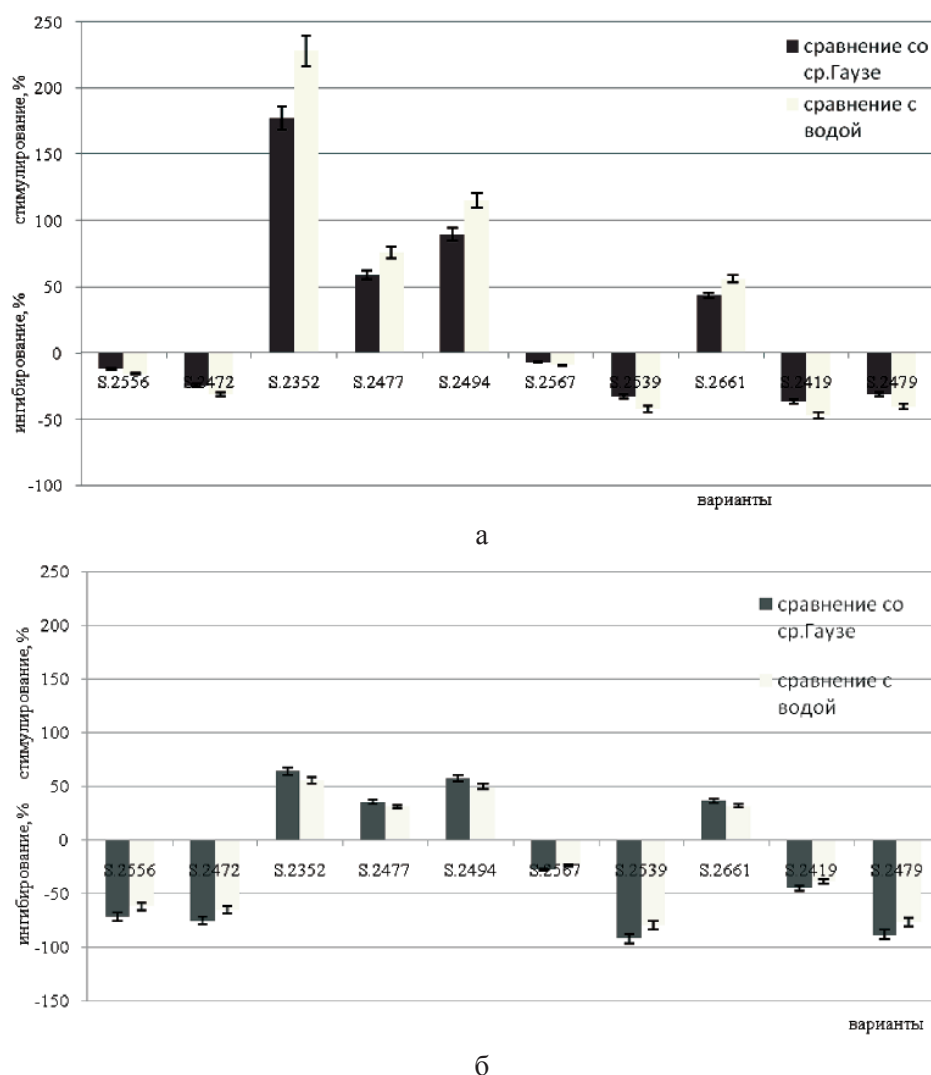


Рис. 2. Длина проростков (а) и длина корней (б) пшеницы после обработки культуральной жидкостью актиномицетов

Остальные варианты между собой и контролем достоверно не различались (рис. 4, б).

Определение мутагенности актиномицетов

При анализе мутагенного потенциала метаболитов актиномицетов с помощью теста Эймса без метаболической активации количество ревертантов *S. typhimurium* BA13 His⁺ в опыте и в контроле достоверно не отличалось. Это говорит о том, что изученные штаммы актиномицетов не обладали мутагенным действием по отношению к *S. typhimurium*.

Бактерицидное действие метаболитов актиномицетов на грамотрицательные бактерии может быть связано с наличием в составе метаболитов исследованных актиномицетов аминогликозидов, активность которых возрастает при щелочном значении рН среды около 7, что примерно соответ-

ствует рН использованных сред МПА и Гаузе для культивирования бактерий.

Проявленная антагонистическая активность актиномицетов к бактериям и микромицету может быть связана с продукцией хитиназ (в случае с *Fusarium oxysporum*) и антибиотиков: хинонов, полипептидов, полиенов, пигментов. Эти метаболиты наряду с антимикробным действием обладают ростстимулирующими свойствами по отношению к растениям.

Стимуляция роста растений может происходить за счет веществ, выделяемых актиномицетами в среду обитания: биотин, тиамин, рибофлавин, пантотеновая и никотиновая кислоты, каротиноидные пигменты, аминокислоты, ауксины и другие ростовые вещества [9]. Для выявления действующего вещества необходимо проведение дополнительных исследований.

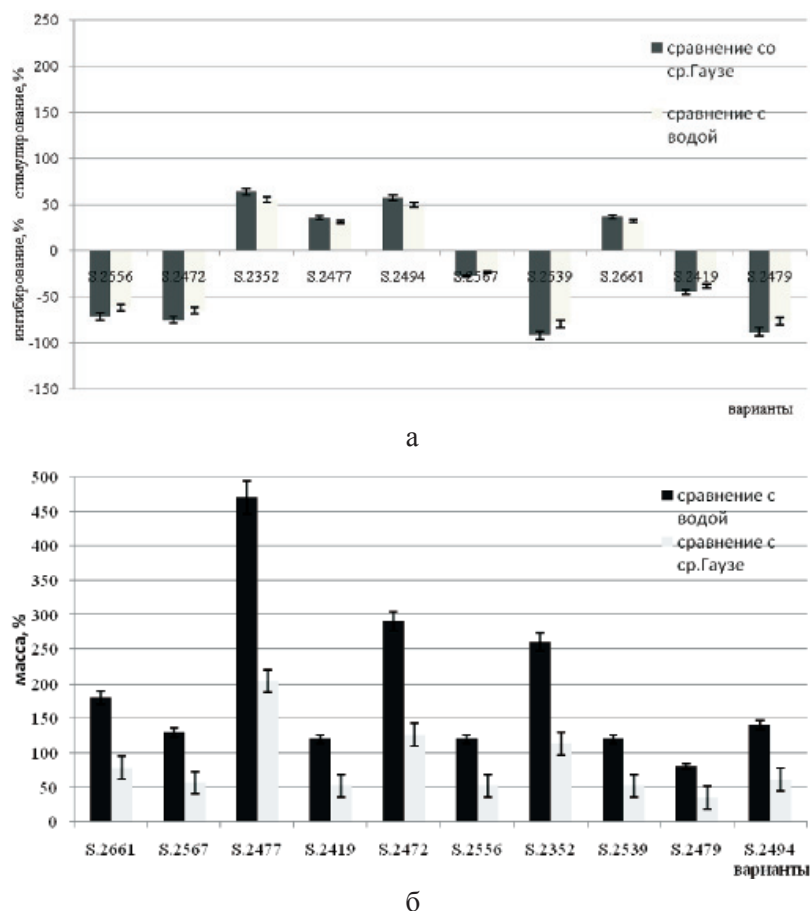


Рис. 3. Влияние культуральной жидкости актиномицетов на сырую массу корней (а) и проростков (б) пшеницы

Угнетение роста и развития пшеницы связано с наличием среди метаболитов исследованных актиномицетов фитотоксинов [8]. Некоторые токсины вызывают внешне слабо выраженное угнетение роста растений, которое, однако, отражается на биохимических процессах, протекающих в тканях. В таких растениях нарушается химический состав. При большом скоплении токсинов происходит отравление почвы (почвоутомление). На таких почвах развитие растений угнетается, урожай снижается.

Закключение

Выявлены штаммы с наибольшим бактерицидным (S.2556 и S.2539) и фунгицидным действием (S.2419).

5 штаммов актиномицетов (S.2539, S.2479, S.2556, S.2472 и S.2419) из пустынных почв Монголии угнетали, 3 – стимулировали рост пшеницы (S.2352, S.2477 и S.2661). Выявленные штаммы могут быть использованы для создания биопрепаратов для стимулирования роста озимой пшеницы и биогербицидов сорных злаковых растений.

Изученные штаммы актиномицетов не обладали мутагенным действием по отно-

шению к *S. typhimurium* BA13 His⁺ в тесте Эймса без метаболической активации.

Полученные данные указывают на необходимость теста влияния метаболитов актиномицетов не только на фитопатогены, но и на сельскохозяйственно важные растения, т.к. высокая антагонистическая активность биотехнологически важных микроорганизмов может положительно коррелировать с высоким уровнем фитотоксичности, что снижает хозяйственную важность микроорганизма, рекомендуемого для биотехнологии.

Список литературы

1. Абилов С.К. Токсикология: информационное издание по биологии / С.К. Абилов, Г.Г. Порошенко. – М.: ВИНТИ, 1986. – 174 с.
2. Акберова Н.И. Сравнение данных. Непараметрические критерии значимости: методическое руководство и сборник задач к практическим занятиям по курсу «Математические методы в биохимии». – Казань: КГУ, 2005. – 51 с.
3. Алимова Ф.К. Методические указания к выполнению лабораторных работ по теме: экология микроорганизмов / Ф.К. Алимова, Н.Г. Захарова, С.Ю. Егоров. – Казань: КГУ, 1993. – 37 с.
4. Звягинцев Д. Г. Экология актиномицетов / Д.Г. Звягинцев, Г.М. Зенова. – М.: ГЕОС, 2001. – 257 с.
5. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках: учеб. для студентов биолог. спец. ун-тов. – 6-е изд., перераб. и доп. – М.: Изд-во МГУ, Наука, 2004. – 528 с.
6. Калакуцкий Л.В. Актиномицеты и растения / Л.В. Калакуцкий, Л.С. Шарая // Успехи микробиологии. – 1990. – Т. 25. – С. 26–65.

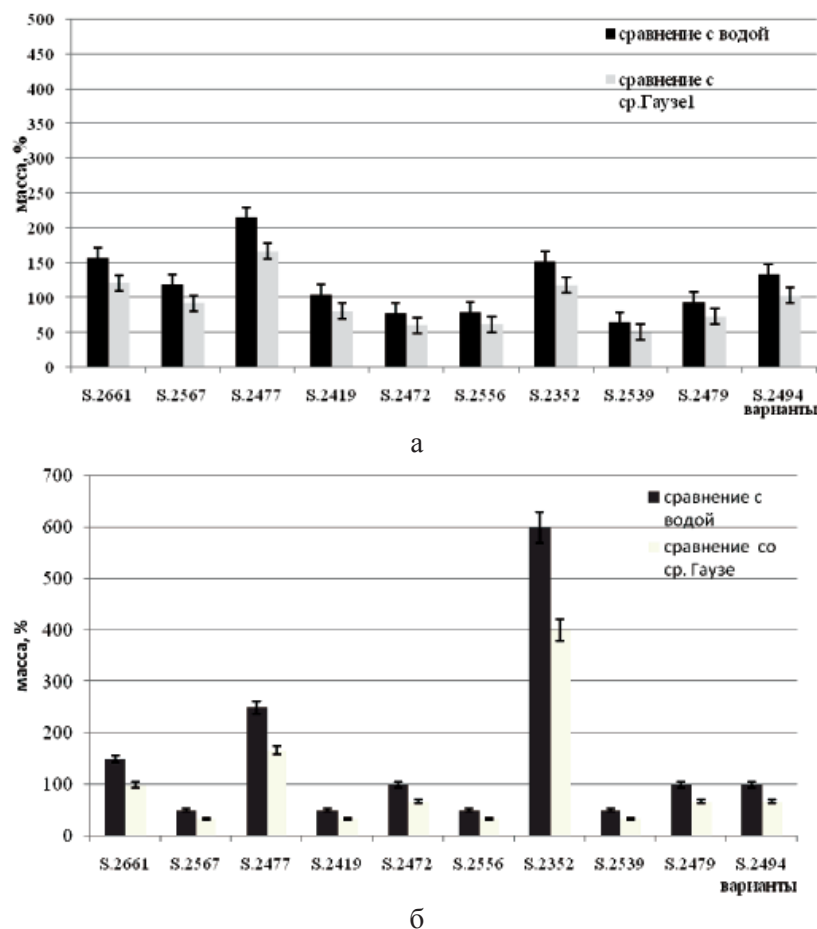


Рис. 4. Влияние культуральной жидкости актиномицетов на сухую массу корней (а) и проростков (б) пшеницы

7. Орлов Д.С. Органическое вещество почв Российской Федерации / Д.С. Орлов, О.Н. Бирюкова, Н.И. Суханова. – М.: Наука, 1996. – 253 с.
8. Сковрцова И.Н. Мутагенная и антимутагенная активность почв / И.Н. Сковрцова, Д.Г. Звягнцев, Н.Н. Лукина // сб.: Микроорганизмы и охраны почв. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 135 с.
9. Теплер Е.З. Практикум по микробиологии / Е.З. Теплер, В.К. Шилиникова. – М.: Дрофа, 2004. – 255 с.
10. Hacene H. Screening for nonpolyenic antifungal antibiotics produced by rare actinomycetales / N.Sabaou, N.Bounaga, G.Lefebure // Microbios. – 1994. – V. 79. Iss. 319. – P. 81–85.
11. Horan A.C. A family of novel macrocyclic lactons, the saccharocarbins produced by *Saccharothrix aerocolonigenes* subsp. *antibiotica*. 1. Taxonomy, fermentation, isolation and biological properties / M.C. Shearer, V. Hegde, M.L. Beyazova et al. // J. Antibiot. – 1997. – Vol. 50. – № 2. – P. 110–125.
12. Piepersberg W. Pathway engineering in secondary methabote-producing actinomycetes // Critical Rev. in Biotech. – 1994. – Vol. 14. №3. – P. 251–285.

References

1. Abilev S.K. Toksikologiya: informatsionnoe izdanie po biologii / S.K. Abilev, G.G. Poroshenko. M.: VINITI, 1986. 174 p.
2. Akrebova N.I. Sravneneie danih. Neparametrichiske kriterii znachimosti / Metodicheskoe rukovodstvo I sbornik zadach k prakticheskim zanyatiyam po kursu «Matematicheskie metody v biokhimi». Kazani: KGU, 2005. 51 p.
3. Alimova F.K. / Metodicheskie ukazaniya k vipolneniyu laboratornykh rabot po teme ekologiya mikroorganizmov / F.K. Alimova, N.G. Zakharova, S.Yu. Egorov. Kazani: KGU, 1993. 37 p.
4. Zvyagentsov D.G. Ekologiya aktinomycetov / D.G. Zvyagentsov, G.M. Zenova. M.: GEOS, 2001. 257 p.
5. Egorov N.C. Osnovii ucheniya ob antibiotikakh: Ucheb. Dlya studentov biolog. Spets.Un-tov.-v.e.izd., pererab. I. dop. M.:Izd-vo MGU, Nauka. 2004. 528 p.

6. Kalakutskii L.B. Actinomycety I rasteniya / L.B. Kalakutskii, L.S. Sharaya // Uspekhi microbiologii. 1990. T. 25. pp. 26–65.
7. Orlov D.S. Organicheskoe veshchestvo pochv Rossiiskoi Federatsii / D.S.Orlov, O.N. Biryukova, N.I.Sukhanova. M.: Nauka. 1996. 253 p.
8. Skvortsova I.N. Mutagennaya I antimutagennaya aktivnosti pochv / I.N. Skvortsova, D.G. Zvyagentsov, N.N. Lukina // sb.: Mikroorganizmy I ohrany pochv. M.: Izd-vo MGU. 1989. 135 p.
9. Tepper E.Z. Praktikum po microbiologii / E.Z. Tepper, V.K. Shilinikova. M.: Drofa, 2004. 255 p.
10. Hacene H. Screening for nonpolyenic antifungal antibiotics produced by rare actinomycetales / N.Sabaou, N.Bounaga, G.Lefebure // Microbios. 1994. V ol. 79. Iss. 319. pp. 81–85.
11. Horan A.C. A family of novel macrocyclic lactons, the saccharocarbins produced by *Saccharothrix aerocolonigenes* subsp. *antibiotica*. 1. Taxonomy, fermentation, isolation and biological properties / M.C.Shearer, V.Hegde, M.L.Beyazova et al. // J. Antibiot. 1997. Vol. 50. no. 2. pp. 110–125.
12. Piepersberg W. Pathway engineering in secondary methabote-producing actinomycetes // Critical Rev. in Biotech. 1994. Vol. 14. no. 3. pp. 251–285.

Рецензенты:

Габдрахманова Л.А., д.б.н., с.н.с., начальник учебного управления ФГБОУ ВПО «Казанский государственный энергетический университет», г. Казань;
 Канарский А.В., д.т.н., профессор кафедры пищевой биотехнологии Казанского национального исследовательского технологического университета, г. Казань.
 Работа поступила в редакцию 25.07.2012.