

УДК 579.873.11.083.12:574.4 (574.5)

А.Х. Хасенова, С.А. Айткельдиева, И.Э. Смирнова, Г.Д. Ултанбекова,
С.Ш. Шакиев, Л.П. Треножникова*

Институт микробиологии и вирусологии МОН РК, Казахстан, г. Алматы

*E-mail: Barahtian@yandex.ru

Изучение состава и свойств актиномицетов в экстремальных экосистемах Южного Казахстана

Аннотация. Установлена высокая численность нейтрофильных актиномицетов в образцах луговых солончаков и засоленных такыров Южного Казахстана. Наименьшая численность актиномицетов отмечается в образцах сорowych солончаков. Исследованные образцы почв характеризуются высоким уровнем присутствия гало- и алкалолиторантных актиномицетов, которые менее разнообразны в видовом отношении и представлены в основном серией *Albus*.

Ключевые слова: экстремальные экосистемы, нейтрофильные, галотолерантные и алкалолиторантные актиномицеты, микробоценоз, луговые солончаки, сорowych солончаки, засоленные такыры, количественный и качественный состав.

Интерес к экстремофильным прокариотам в последние годы исключительно высок из-за их биологической уникальности [1, 2] и возможностей использования в биотехнологии [3-5].

В солёных водоёмах и засоленных почвах обитают галофильные и галотолерантные микроорганизмы. Высокие концентрации хлорида натрия необходимы им для поддержания структурной целостности цитоплазматической мембраны и функционирования связанных с ней ферментных систем. По степени галофилии микроорганизмы могут быть разделены на несколько групп. Согласно классификации, предложенной Ларсеном [6], для роста экстремальных галофильных бактерий необходимо присутствие NaCl в среде в концентрации 20-30%, для роста умеренных – 5-20%, слабых – 3-5%. Для засоленных почв нередко характерны высокие значения pH. Культуры актиномицетов, хорошо растущие на щелочной среде, впервые описаны Балдачи [7]. Алкалофильные формы были обнаружены не только среди рода *Streptomyces*, но и среди других родов: *Nocardioidea*, *Streptoverticillium*, *Elytrosporangium*, *Microellorosporea*, *Chainia* и *Sporichthia*, *Nocardiosis*, *Saccha*

rothrix, *Micromonospora* [8-10]. В дальнейшем принадлежность алкалофильных актиномицетов к некоторым из перечисленных родов была подтверждена анализом последовательностей нуклеотидов в молекуле 16S рРНК [11]. Исследование алкалофильных актиномицетов привело к описанию новых таксонов [12, 13] и биологически активных веществ, продуцентами которых они являются – новых антибиотиков, щелочных протеаз [14].

Алкалофильные, галофильные и галоалкалофильные актиномицеты несомненно представляют интерес для биотехнологии. Поиск продуцентов новых антибиотиков и ферментов с особыми pH-оптимиумами действия, применение популяций актиномицетов для биоконтроля и биоремедиации, борьба с фитопатогенными грибами – все это составляет важные практические задачи, для решения которых необходимы знания об экологии актиномицетов с необычными для других мицелиальных бактерий потребностями.

Цель исследований: сравнительное изучение качественного и количественного состава актиномицетов и их свойств в засоленных почвах экстремальных экосистем Южного Казахстана.

Материалы и методы исследований

Методика исследований включала проведение полевых изысканий, постановку модельных опытов, проведение лабораторных анализов. В полевых условиях по маршрутным исследованиям проводили выбор типичных экстремальных экосистем, отбирали образцы илов, почв и ризосферы солеустойчивых растений.

Изучение количественного и качественного состава актиномицетов полученных образцов природных субстратов проводили по общепринятой методике [15]. Посевы суспензий образцов природных субстратов выполняли на модифицированном агаре Беннета (3 варианта). Чашки Петри инкубировали в термостате при 28°C в течение 14 суток. Результат выражали числом колониеобразующих единиц (КОЕ в 1 г почвы). Серии и секции стрептомицетов определяли согласно определителю Гаузе с соавторами [16].

Состав модифицированного агара Беннета, г/л:

1 вариант: глюкоза -2,0; дрожжевой экстракт - 1,0; пептон -2,0; pH 7,2;

2 вариант: глюкоза -2,0; дрожжевой экстракт

- 1,0; пептон -2,0; NaCl - 50,0; pH 7,2;

3 вариант: глюкоза -2,0; дрожжевой экстракт - 1,0; пептон -2,0; Na₂CO₃ -5,0; pH 9,0.

Результаты исследований и их обсуждение

В результате полевых изысканий из экстремальных экосистем Южного Казахстана (Алматинская область) были получены 8 образцов луговых солончаков, 13 образцов сорowych солончаков, 4 образца засоленных такыров. Изучен количественный и качественный состав нейтрофильных, галотолерантных и алкалотолерантных актиномицетов данных природных субстратов.

В образцах луговых солончаков (таблица 1) отмечен высокий уровень присутствия актиномицетов - 38,9-143,1 тыс.КОЕ/г почвы, их составляющая часть в микробоценозе также высока - от 25,4 до 32,2%. Данные почвы характеризуются высоким качественным разнообразием актиномицетного состава и представлены сериями *Albus*, *Flavus*, *Aureus*, *Chromogenes*, *Achromogenes*, *Helvolus*, *Albocoloratus*.

Таблица 1 – Количественный и качественный состав нейтрофильных актиномицетов в образцах природных субстратов экстремальных экосистем Южного Казахстана

Номер образца	∑ (тыс/г)	Бактерии (тыс/г)	Актиномицеты (тыс/г)	% А Б	Серии актиномицетов
1	2	3	4	5	6
Солончаки луговые					
9	401,7	284,3	117,4	29,2	<i>Albus</i> , <i>Chromogenes</i> , <i>Flavus</i> , <i>Helvolus</i>
15	361,5	259,0	102,5	28,3	<i>Albus</i> , <i>Albocoloratus</i> , <i>Flavus</i> , <i>Helvolus</i>
16	443,1	300,0	143,1	32,2	<i>Albus</i> , <i>Albocoloratus</i> , <i>Flavus</i> , <i>Helvolus</i>
17	345,7	245,7	100,0	28,9	<i>Albus</i> , <i>Albocoloratus</i> , <i>Flavus</i> , <i>Helvolus</i>
46	335,0	250,0	85,0	25,4	<i>Albus</i> , <i>Chromogenes</i> , <i>Achromogenes</i> , <i>Helvolus</i> , <i>Aureus</i>
47	461,0	331,0	130,0	28,1	<i>Albus</i> , <i>Albocoloratus</i> , <i>Chromogenes</i> , <i>Helvolus</i> , <i>Aureus</i>
48	444,0	308,0	136,0	30,6	<i>Albus</i> , <i>Chromogenes</i> , <i>Achromogenes</i> , <i>Helvolus</i> , <i>Aureus</i>
49	152,9	114,0	38,9	25,4	<i>Albus</i> , <i>Chromogenes</i>
Солончаки соровые					
6	6,0	5,8	0,2	3,3	<i>Albus</i>
7	15,5	15,0	0,5	3,2	<i>Albus</i>
8	17,0	16,0	1,0	5,8	<i>Albus</i>

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6
30	105,0	100,0	5,0	4,8	<i>Albus</i>
31	93,3	87,3	4,0	4,3	<i>Albus</i>
32	102,2	98,7	3,5	3,4	<i>Albus</i>
33	116,4	112,5	3,9	3,4	<i>Albus</i>
34	113,7	109,7	4,0	3,5	<i>Albus</i>
35	90,7	88,5	2,2	2,4	<i>Albus</i>
37	98,9	97,0	1,9	2,0	<i>Albus</i>
38	109,4	106,5	2,9	2,7	<i>Albus</i>
39	82,4	79,0	3,4	4,1	<i>Albus</i>
50	94,6	90,4	4,2	4,4	<i>Albus</i>
Такыры засоленные					
26	47,8	35,5	12,3	25,7	<i>Albus</i>
27	36,7	25,3	11,4	31,1	<i>Albus</i>
28	56,1	37,8	18,3	32,6	<i>Albus</i>
29	55,9	40,2	15,7	28,1	<i>Albus</i>

В образцах соровых солончаков численность нейтрофильных актиномицетов сильно снижается и составляет от 0,2-5,0 тыс.КОЕ/г почвы. В процентном выражении к общей массе бактерий содержание актиномицетов в образцах соровых солончаков составляет 3,3–4,8%. Качественный состав актиномицетов соровых солончаков крайне беден и представлен одной серией – *Albus*. В образцах засоленных такыров отмечен умеренный уровень присутствия актиномицетов, который варьирует в пределах 11,4-18,3 тыс.КОЕ/г почвы. В процентном выражении к общей массе бактерий содержание актиномицетов в образцах засоленных такыров значительно высокое и составляет от 25,7 до 32,6%. Качественный состав актиномицетов засоленных

такыров, как и соровых солончаков, представлен одной серией – *Albus*.

В образцах почв луговых солончаков (Таблица 2) отмечен высокий уровень присутствия галотолерантных актиномицетов - общая численность актиномицетов – 48,9-150,0 тыс.КОЕ/г почвы, что превышает численность нейтрофильных актиномицетов в этих же почвах. Но их составляющая часть в микробиоценозе ниже по сравнению с нейтрофильными формами – от 20,3 до 26,7%. Качественное разнообразие галотолерантных актиномицетов луговых солончаков отличается меньшим разнообразием, чем для нейтральных актиномицетов, в основном представлены серии *Albus* и *Albocoloratus*.

Таблица 2 – Количественный и качественный состав галотолерантных актиномицетов в образцах природных субстратов экстремальных экосистем Южного Казахстана

Номер образца	Σ (тыс/г)	Бактерии (тыс/г)	Актиномицеты (тыс/г)	% $\frac{A}{B}$	Серии актиномицетов
1	2	3	4	5	6
Солончаки луговые					
9	684,3	534,3	150,0	21,9	<i>Albus, Albocoloratus</i>
15	591,0	471,0	120,0	20,3	<i>Albus</i>
16	545,8	432,1	113,7	20,8	<i>Albus</i>

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6
17	327,0	245,7	81,3	24,9	<i>Albus</i>
46	472,0	357,0	115,0	24,4	<i>Albus</i>
47	561,5	431,0	130,5	23,2	<i>Albus, Albocoloratus</i>
48	491,6	365,6	126,0	25,6	<i>Albus</i>
49	182,9	174,0	48,9	26,7	<i>Albus</i>
Солончаки соровые					
6	9,5	9,0	0,5	5,5	<i>Albus</i>
7	10,8	10,0	0,8	8,0	<i>Albus</i>
8	13,4	12,0	1,4	10,4	<i>Albus</i>
30	111,9	110,0	1,9	1,7	<i>Albus</i>
31	100,7	95,9	4,8	4,8	<i>Albus</i>
32	109,8	104,9	4,9	4,5	<i>Albus</i>
33	122,9	120,0	2,9	2,4	<i>Albus</i>
34	110,7	107,6	3,1	2,8	<i>Albus</i>
35	92,0	90,0	2,0	2,2	<i>Albus</i>
37	96,2	93,0	3,2	3,3	<i>Albus</i>
38	124,1	120,2	3,9	3,1	<i>Albus</i>
39	97,3	93,0	4,3	4,4	<i>Albus</i>
50	104,5	100,0	4,5	4,3	<i>Albus</i>
Такыры засоленные					
26	104,0	66,0	38,0	36,5	<i>Albus</i>
27	120,0	88,0	32,0	26,7	<i>Albus</i>
28	137,4	97,4	40,0	29,1	<i>Albus</i>
29	108,8	79,3	29,5	27,1	<i>Albus</i>

В образцах соровых солончаков численность галотолерантных актиномицетов сравнима с присутствием нейтрофильных форм и составляет от 0,5-4,9 тыс.КОЕ/г почвы. В процентном выражении к общей массе бактерий содержание галотолерантных актиномицетов в образцах соровых солончаков возрастает более чем в два раза – до 10,4%. Качественный состав галотолерантных актиномицетов соровых солончаков также представлен одной серией – *Albus*. В образцах засоленных такыров отмечен высокий уровень присутствия галотолерантных актиномицетов, который варьирует в пределах 29,5-40,0 тыс.КОЕ/г почвы, что значительно превышает

численность нейтрофильных актиномицетов в этих почвах. В процентном выражении к общей массе бактерий содержание галотолерантных актиномицетов в образцах засоленных такыров составляет от 26,7 до 36,5%.

Численность алкалотолерантных актиномицетов (таблица 3) в образцах луговых солончаков меньше, чем нейтрофильных и галотолерантных форм – 37,0-123,5 тыс.КОЕ/г почвы. Их составляющая часть в микробоценозе составляет от 24,5 до 31,2%. Качественное разнообразие алкалотолерантных актиномицетов в изученных образцах представлено двумя сериями - *Albus* и *Albocoloratus*.

Таблица 3 – Количественный и качественный состав алкалотолерантных актиномицетов в образцах природных субстратов экстремальных экосистем Южного Казахстана

Номер образца	pH образца	Σ (тыс/г)	Бактерии (тыс/г)	Актиномицеты (тыс/г)	% $\frac{A}{B}$	Серии актиномицетов
Солончаки луговые						
9	10,5	413,2	306,0	107,2	25,9	<i>Albus, Albocoloratus</i>
15	9,7	480,0	360,0	120,0	25,0	<i>Albus, Albocoloratus</i>
16	9,7	305,6	210,0	95,6	31,2	<i>Albus</i>
17	9,6	300,4	220,0	80,4	26,7	<i>Albus, Albocoloratus</i>
46	9,7	284,9	215,0	69,9	24,5	<i>Albus, Albocoloratus</i>
47	9,2	413,1	298,7	114,4	27,7	<i>Albus, Albocoloratus</i>
48	9,0	434,0	310,5	123,5	28,5	<i>Albus, Albocoloratus</i>
49	9,0	144,3	107,3	37,0	25,6	<i>Albus</i>
Солончаки соровые						
6	10,0	7,4	6,9	0,5	6,7	<i>Albus</i>
7	10,5	17,7	17,0	0,7	4,0	<i>Albus</i>
8	10,4	18,0	17,0	1,0	5,5	<i>Albus</i>
30	9,2	118,3	112,0	6,3	5,3	<i>Albus</i>
31	9,3	135,2	128,2	7,0	5,2	<i>Albus</i>
32	9,6	112,5	109,6	2,9	2,6	<i>Albus</i>
33	10,0	116,6	114,0	2,6	2,2	<i>Albus</i>
34	10,5	137,6	131,7	5,9	4,3	<i>Albus</i>
35	9,9	72,1	70,6	1,5	2,1	<i>Albus</i>
37	9,6	93,8	90,0	3,8	4,0	<i>Albus</i>
38	9,8	133,4	128,5	4,9	3,7	<i>Albus</i>
39	9,6	116,7	110,4	6,3	5,4	<i>Albus</i>
50	9,6	102,7	98,7	4,0	3,9	<i>Albus</i>
26	9,8	65,0	45,0	20,0	30,8	<i>Albus</i>
27	10,0	54,0	36,6	17,4	32,2	<i>Albus</i>
28	10,3	62,0	40,0	22,0	35,5	<i>Albus</i>
29	9,9	83,8	57,2	26,6	31,7	<i>Albus</i>

В образцах соровых солончаков (Таблица 3) численность алкалотолерантных актиномицетов выше, чем нейтрофильных и галотолерантных и составляет от 0,5-7,0 тыс.КОЕ/г почвы. В процентном выражении к общей массе бактерий содержание алкалотолерантных актиномицетов в

образцах соровых солончаков ниже, чем галотолерантных и выше, чем нейтрофильных актиномицетов и составляет 2,1 – 6,7%. Качественный состав алкалотолерантных актиномицетов соровых солончаков представлен одной серией – *Albus*. В образцах засоленных такыров отме-

чен умеренный уровень присутствия алкалотолерантных актиномицетов, который варьирует в пределах 17,4-26,6 тыс.КОЕ/г почвы, что гораздо выше численности нейтрофильных форм. В процентном выражении к общей массе бактерий содержание алкалотолерантных актиномицетов в образцах засоленных такыров находится в тех же пределах, что и нейтрофильных и галотолерантных и составляет от 30,8 до 35,5%.

Таким образом, общая численность актиномицетов наиболее высока в образцах луговых солончаков Южного Казахстана и достигает в этих почвах нескольких сотен тысяч КОЕ/г почвы. Наименьшая численность отмечается в образцах сорных солончаков. Несмотря на общую низкую численность актиномицетов в почвах засоленных такыров, в процентном отношении они составляют значительную часть микробоценозов – от 25,7 до 32,6%. Общая численность актиномицетов в образцах луговых солончаков гораздо выше, чем в образцах засоленных такыров, но их составляющая в микробоценозах такая же. Численность галотолерантных и алкалотолерантных актиномицетов также наиболее высока в образцах луговых солончаков, но в процентном отношении они также составляют значительную часть микробоценозов засоленных такыров – до 36,5% и 35,5%, соответственно.

Таким образом, в исследованных почвах присутствует высокое количество галотолерантных и алкалотолерантных актиномицетов. Галотолерантные и алкалотолерантные представители рода *Streptomyces*, выделенные из соленных почв менее разнообразны в видовом отношении по сравнению с нейтральными стрептомицетами и представлены в основном белой серией (*Albus*). Среди нейтрофильных стрептомицетов в этих почвах встречаются виды, относящиеся к различным сериям. Способность к выживанию нейтрофильных стрептомицетов в соленных и щелочных почвах может демонстрировать приспособленность актиномицета к местообитанию – почве, характеризующейся микроразнообразием.

Наиболее богаты разнообразием актиномицетов луговые солончаки. Исследование актиномицетных комплексов и определение места этих мицелиальных прокариот в микробных комплексах засоленных почв может внести весомый вклад в представление о биологическом разнообразии. Высокий уровень присутствия галотолерантных и алкалотолерантных актиномицетов

в засоленных почвах свидетельствует о том, что они могут быть исследованы для биотехнологических целей.

Почвенные галоалкалофильные стрептомицеты обладают особым механизмом адаптации к росту в условиях засоленных почв. Они интенсивнее колонизируют щелочную среду с повышенной концентрацией солей, чем традиционную среду. Наличие этого механизма позволяет галоалкалофильным формам уменьшать конкуренцию со стороны негалофильных нейтрофильных стрептомицетов за счет более быстрого освоения субстрата.

Литература

- 1 Tang S. K., Li W. J., Dong W., Zhang Y. G., Xu L. H., Jiang C. L. Studies of the biological characteristics of some halophilic and halotolerant actinomycetes isolated from saline and alkaline soils // *Actinomycetologica*. – 2003. – V. 17. – P. 6-10.
- 2 Зенова Г.М., Оборотов Г.В., Звягинцев Д.Г. Солончаки – местообитание галофильных и алкалотолерантных стрептомицетов // *Почвоведение*. – 2005. – № 11. – С. 1341-1344.
- 3 Yoshida, F. Continuous hydrocarbon fermentation with colloidal emulsion feed. A kinetic model for two-liquid phase culture Text. / F. Yoshida, T. Ya-mane // *Biotechnology Bioeng.* – 2000. – V. 16. – P. 635-657.
- 4 Ganesh D. Saratale, Sang Eun Oh Production of thermotolerant and alkalotolerant cellulolytic enzymes by isolated *Nocardia* sp. KNU. *Biodégradation*. – 2011. – V. 22. – № 5. – P. 905-919.
- 5 Грузина В.Д., Галатенко О.А., Сумарукова И.Г., Ефременкова О.В., Терехова Л.П. Метод увеличения количества выделяемых актиномицетов, основанный на предварительном внесении в образцы почв водных суспензий бактерий // *Биотехнология*, 2003. – № 4. – С. 42-48.
- 6 Звягинцева И.С. Галобактерии // *Успехи микробиологии*. 1989. – Вып. 23. – С. 112-136.
- 7 Baldacci E. Contributo alla systematica degli actenomycei: X–XVI *Actinomyces madurae*; *Proactinomyces ruber*; *Proactinomyces pseudomadurae*; *Proactinomyces polychromogenus*; *Proactinomyces violaceus*; *Actinomyces coeruleus*; cjn un elencj alfabetico delle specie edelle varieta finora studiate. // *Atti. Ist. Dot. Univ. Pavia Ser.* – 1944. – V. 3. – P. 139–193.
- 8 Al-Zarban S.S., Abbas I., Al-Musallan

A.A., Steiner U., Stackebrandt E., Kroppenstedt R.M. *Nocardiopsis halotolerans* sp. nov., isolated from salt marsh soil in Kuwait // *Int. Syst. Evol. Microbiol.* – 2002. – V. 52. – P. 525–529.

9 Li W.J., Xu P., Zhang L.P., Tang S.K., Cui X.L., Mao P.H., Xu L.H., Schumann P., Stackebrandt E., Jiang C.L. *Streptomonospora alba* sp. nov., a novel halophilic actinomycete, and emended description of the genus *Streptomonospora* Cui et al. 2001 // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2003. – V. 53. – P. 1421–1425.

10 Prabakar V. *Pseudonocardia antarctica* sp. nov. an actinomycetes from McMurdo Dry Valleys, Antarctica // *Syst. Appl. Microbiol.* – 2004. – V. 27. – P. 66–71.

11 Antony-Babu S., Pathomaree, Nam S. Maldonado L.A., Ward A.C., Goodfellow M. Alkalitolerant streptomycete diversity in littoral and sand dune systems // 13-th Int. Sym. Biol Actinomycetes. Melbourne. – Australia, 2003. – P. 23.

12 Song J., Weon H.V., Yoon S.H., Park D.S., Go S.J., Suh J.W. Polygenetic diversity of thermophilic

actinomycetes and *Thermoactinomyces* spp. Isolated from mushroom composites in Korea based on 16 S rRNA gene sequence analysis // *FEMS Microbiol. Lett.* 2001. – V. 202. – № 1. – P. 97–102.

13 Kroppenstedt R.M. and Evtushenko L.I. The family Nocardiopsaceae // *The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications* / Eds. M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.H. Schleifer and E. Stackebrandt. – N.Y.: Springer, 2004. – 1125 p.

14 Зенова Г.М., Манучарова Н.А., Звягинцев Д.Г. Экстремофильные и экстремотолерантные актиномицеты в почвах разных типов // *Почвоведение.* – 2011. – № 4. – С. 457–478.

15 Методы микробиологического контроля почвы: Методические рекомендации. – 24 декабря 2004 г. N ФЦ/4022 (Д).

16 Гаузе Н.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А., Терехова Л.П., Максимова Т.С. *Определитель актиномицетов.* – М.: Наука, 1983. 245 – с.

А.Х. Хасенова, С.А. Айткелдиева, И.Э. Смирнова, Г.Д. Ултанбекова,
С.Ш. Шакиев, Л.П. Треножникова

**Оңтүстік Қазақстанның қысаң экосистемаларының
актиномицеттерінің қасиеттері мен құрамның зерттеу**

Оңтүстік Қазақстанның тұзды тақырлары мен шалғындық сорларының алынған үлгілеріндегі нейтрофилді актиномицеттерінің саны жоғары болатыны анықталған. Актинимицеттердің ең аз саны сортаң жерлерден алынған үлгілерінде екені болды. Зерттеуге алынған топырақтардың үлгілерінде гало және алкалотолеранттық актиномицеттерінің жоғары деңгейлермен сипатталады, олар түрлері жағынан аз және *Albus* топтамасынан құралған.

A.Kh. Khassenova, S.A. Aitkeldiyeva, I.E. Smirnova, G.D. Ultanbekova, S.Sh. Shakiev, L.P. Trenozhnikova

**Study of composition and properties of actinomycetes in
extreme ecosystems of south Kazakhstan**

The high number of neutrophilic actinomycetes in the samples of meadow saline soils and salty takyrs is established in the South Kazakhstan. The lowest numbers of actinomycetes are observed in samples of sor saline soils. The studied soil samples are characterized by high level of presence of halo- and alkalotolerant actinomycetes, which are less diverse in species composition and are mainly represented by the *Albus* series.