

## ВЫДЕЛЕНИЯ АКТИНОМИЦЕТОВ ИЗ ПОЧВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ УЛЬТРАЗВУКА\*

*В условиях Азербайджана для изучения актиномицетов, распространенных в техногенных и чистых почвах, использован метод, основанный на предварительной обработке почвенных образцов ультразвуком. Показано, что 30 — минутная обработка почвенных образцов позволяет выявить существенно большее количество актиномицетов как в количественном, так и таксономическом аспекте.*

**Ключевые слова:** актиномицеты, почвы, ультразвук, посев, агар, микроорганизм, штаммы.

Несмотря на огромное число уже известных микроорганизмов, специалисты полагают, что изучена лишь малая часть всех существующих сегодня видов микробов [5, 12]. Одной из проблем для выделения и определения является невозможность культивирования некоторых микроорганизмов, используя традиционные методы. Поэтому для селективного выделения микроорганизмов, в том числе актиномицетов из естественных мест обитания, используют разнообразные приемы [2, 12], в том числе методы предварительной обработки образцов, взятые для анализа.

В работах некоторых авторов [2, 4, 7, 10-11] для этой цели используют химические соединения (например, фенол, хлорамин, и т.д.), физические факторы (воздействия ультрафиолетом, СВЧ-излучением, электрическими импульсами, температурой). В результате таких подходов значительно увеличивается как доля актиномицетов от общего количества видов, так и число редких видов.

Надо отметить, что актиномицетное разнообразие почв Азербайджана изучается уже на протяжении многих лет, и до настоящего времени для выделения используются в основном классические микробиологические методы (разведения почвенных образцов, посев на питательную среду)[1, 6].

В связи с этим целью настоящей работы явилась оценка возможности использования ультразвука для выделения актиномицетов из почвенных образцов на основе таксономической принадлежности выделенных культур.

Объектом исследования в настоящей работе послужили образцы почвы двух (Апшеронский и Масаллинский) районов Азербайджанской Республики. Исследовались нефтезагрязненные, орошаемые и чистые (целина) почвенные образцы. Почвенные образцы перед посевом подвергались обработке ультразвуком длительностью 15, 30 и 60 минут. Использовали дезинтегратор мощностью 400-500 мВт, частотой 40 кГц. Суммарное время экспозиции в физиологическом растворе составило два часа. В качестве контроля использовали те же почвенные образцы, которые не были обработаны ультразвуком.

Почвенные суспензии, как контрольную, так опытную, высевали [8] на органический агар Гаузе 2 [3] с добавлением антибиотика (10 мкг/мл налидиксовой кислоты и нистатина). Засеянные чашки инкубировали в течение 15( иногда 30)

\* © Гусейнова Л. А. А., Алиева Г.А.

суток при 28°C.

Таксономическую принадлежность выделенных культур определяли по их морфологическим признакам [3, 9, 12]. Строение органов спороношения изучали у культур, выращенных на минеральном агаре Гаузе [1] и овсяном агаре [3] под световым микроскопом.

Первоначально было выбрано оптимальное время обработки УЗ образцов почв, и при этом процесс оценивали по изменению численного состава актиномицетов. Полученные результаты показали, что не наблюдается однозначная зависимость между временем обработки и количеством выделенных микроорганизмов (таб. 1). Тем не менее, из таблицы прослеживается, что 30 — минутная обработка во всех почвенных образцах приводит к увеличению численности актиномицетов.

Результаты сравнительного изучения таксономической принадлежности культур, выделенных из обработанных и контрольных образцов почв, показали, что воздействие УЗ на таксономический состав актиномицетов носит относительно селективный характер и позволяет выявлять существенно

Таблица 1

Подбор время обработки почвенных образцов УЗ на численный состав (10<sup>5</sup> КОЕ/г почв) актиномицетов

Время обработки УС (мин)	Нефтезагрязненные почвы	Орошаемые почвы	Целина
15	4,3	5,0	5,7
30	4,5	5,2	5,7
60	4,2	4,9	5,5
Контроль	4,2	5,0	5,5

большее количество актиномицетов, в том числе представителей редких или редко встречаемых родов (табл. 2). Так, в контроле, число выделенных штаммов

Таблица 2

Влияние предварительной обработки почвенных образцов УЗ на выделение различных штаммов родов актиномицетов

Роды		Нефтезагрязненные почвы		Орошаемые почвы		Целина	
		Количество	%	Количество	%	Количество	%
Streptomyces	O <sup>1</sup>	64	50,8	68	50,4	75	49,3
	K <sup>2</sup>	61	58,7	65	59,1	69	57,0
Редко встречаемые роды (Actinomadura, Chainia, Saccharotrix, Micromonospora, Pseudonocardia и др.)	O	56	44,4	60	44,4	69	45,4
	K	43	41,3	45	40,9	50	41,3
Неидентифицированные роды	O	6	4,8	7	5,2	8	5,3
	K	0	0	0	0	2	1,7
Всего	O	126	100	135	100	152	100
	K	104	100	110	100	121	100

Примечание: 1- Почвенные образцы подвергались УЗ обработке в течение 30 мин.; 2 – контроль

редко встречаемых родов на нефтезагрязненных почвах составляет 46%, а 30 минутная обработка почвенных образцов приводит к увеличению таких актиномицетов в 1,07 раза. Такая тенденция прослеживается и во всех образцах почв, взятых для анализа.

Надо отметить, что в результате применения УЗ для изучения актиномицетного разнообразия почв Азербайджана выделены такие виды, как *Chainia fumigata*, *Streptomyces citreus*, *S.sulphureus*, *S.massosporus* *S.oligocarophilus* и др., которые являются новыми для почв Азербайджана, что также свидетельствует о целесообразности использования УЗ для выделения актиномицетов из почв.

Таким образом, проведенные исследования показали, что использование УЗ для обработки почвенных образцов до посева является целесообразными, так как именно такой подход позволяет выявлять более широкий спектр разнообразия актиномицетов как в численном, так и видовом составе по сравнению с данными, полученными классическими методами выделения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абушов Р.А. Физиолого-биохимические свойства актиномицетов Азербайджана и его народнохозяйственное значение. Автореферат диссертации на соискание д.б.н. Баку, 2004. — 54 с.
2. Булина Т.И., Алферова И.В., Терехова Л.П. Новый метод выделения актиномицетов с использованием обработки почвенных образцов микроволнами. // Микробиология, 1997. т.66. — №2, — С.278-282.
3. Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. М.: Наука, 1983. — 248с.
4. Захарова О.С., Зенова Г.М., Звягинцев Д.Г. Селективные приемы выделения из почвы актиномицетов рода *Actinomyces*. // Микробиология, 2003. — т.72. — № 1. — С.126-130.
5. Звягинцев Д.Г., Зенова Г.М. Экология актиномицетов. М.: ГЕОС, 2001. — 253с.
6. Касимова Г.С. Актиномицеты почв Кура-Араксинской низменности // Ученые записки АГУ. Баку, 1973, сер. биол., — № 2. — С. 26 – 29
7. Ли Ю.В., Терехова Л.П., Гапочка М.Г. Выделение актиномицетов из почвы с использованием КВЧ-излучения. // Микробиология, 2002. — т.71. — № 1. — 119-122.
8. Методы почвенной микробиологии и биохимии. / Под ред. Звягинцева Д.Г. М.: МГУ, 1991. — 302с.
9. Bergey's manual determinative bacteriology. / Eds. Holt J.A. et al. Baltimore: Williams and Wilkins, 1994, 787p.
10. Hayakawa M., Iino H., Takeuchi S., Yamazaki T. Application of a method incorporating treatment with chloramine-T for the selective isolation of Streptosporangiaceae from soil. // J. Ferment. Bioeng., 1997, v.84, p.599.
11. Hayakawa M., Tetsuo S., Takayuki K., Nonomura H. New methods for the highly selective isolation of Micromonospora and Microbispora of soil. // J. Ferment. Bioeng., 1991, v.72, p.320-326.
12. <http://www.cbs.knaw.nl/databases>

*L. Guseinova, G. Alieva*

### *ALLOCATION ACTINOMYCETES FROM SOILS WITH ULTRASOUND USE*

*It is used method based on preliminary processing of soil samples by ultrasound for studying actinomycetes widely distributed in technogene and pure soils in conditions of Azerbaijan. It is shown, that a 30 minute processing of soil samples allows revealing essentially a lot of actinomycetes as in quantitative and in taxonomic aspect.*

*Key words: actinomycetes, soils, ultrasound, crops, agar, microorganism, strains.*