









Research Paper

<https://doi.org/10.5564/pib.v38i1.2541>

PROCEEDINGS OF
PIB
THE INSTITUTE OF BIOLOGY

Enzymatic and antibacterial activity of some actinomycete strains

Munguntuya JAMYANMYADAG¹ , Choidash BATTSETSEG¹ , Khandaa OYUKHAN² ,
Purevjav SAINBILEG², Shagdar ERDENECHIMEG² , Tserennadmid RENTSENKHAND² ,
Baldorj PAGMADULAM^{2,*} 

¹Laboratory of Microbiology, Department of Biology, School of Arts and Sciences, National University of Mongolia, Ulaanbaatar, Mongolia

²Laboratory of Microbial Synthesis, Institute of Biology, Mongolian Academy of Sciences, Ulaanbaatar, Mongolia

*Corresponding author: pagmadulam_b@mas.ac.mn, <https://orcid.org/0000-0003-3749-326X>

Abstract. The soil samples were collected from the Tuv provinces of Mongolia. Three cultures of actinomycetes were isolated and extracted bioactive crude extract with organic solvents, and their antimicrobial activity and some enzyme activities were determined. Actinomycetes 24-TSAND1, 21-TSB8, and 54-TSB4 had protease and amylase enzyme activities. The cultures of actinomycetes 24-TSAND1, 21-TSB 8, and 54-TSB4 are highly active against pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus*. However, 24-TSAND1 and 21-TSB 8 cultures were not effective against *Escherichia coli* pathogens, while 54-TSAND4 culture was moderately active. Also, the nucleotide sequence of the 16S rRNA gene of the actinomycete 24-TSAND1 culture was determined, and the phylogenetic analysis revealed that it depends on the species of *Streptomyces microflavus*.

Keywords: Actinomycetes, 16S rRNA, phylogenetic, enzyme, antibacterial activity

Received 15 September 2022; received in revised form 24 November 2022; accepted 24 November 2022

© 2022 Author(s). This is an open access article under the [CC BY-NC 4.0 license](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Introduction

Actinomycetes play an important role in decomposing complex organic compounds that cannot be decomposed by other microorganisms in nature, forming soil nutrients, and neutralizing environmental pollutants [1]. Actinomycetes have a fibrous structure, the mycelium does not have transverse septa. 70% GC content, 0.5-1 µm size, gram-positive bacteria [2]. Produces antibiotics. Actinomycete-derived antibiotics include novobiocin, neomycin, and chloramphenicol [3]. Most of the pathogens present in the environment are tolerant and not all are active against bacteria. Like saprophytes, they are widely distributed in nature. Actinomycetes also synthesize many industrially important enzymes, and cellulase, amylase, lipase, and other actinomycete-derived enzymes are widely used

in food agriculture, light industry, and environmental remediation [4]. Since the 1990s, research on actinomycetes has been started in our country, rare species of actinomycetes have been discovered and research on their biological activity has been carried out [2], [5], [6], [7], [8], [9]. B. Pagmadulam *et al.* [6] determined that *Streptomyces actinomycetes* isolated from the soil of Mongolia produce anti-parasite (*Toxoplasma gondii*, *Plasmodium falciparum*) substances. Actinomycetes which can be used for was isolated from agricultural soil remediation [3], [5], [7], [8], [12]. Researchers isolated actinomycetes of the Amycolatopsis species from the soil of Khuvsgul and Uvs provinces and determined their antibacterial activity [5]. The present study, biologically active compounds producing actinomycetes isolated from soil and evaluated their enzymatic and antimicro-

bial activity which may indicate that Mongolian natural resources play an important role in food, agriculture, and soil remediation sectors. Therefore, we aimed to conduct taxonomic studies and evaluation of the enzymatic and antimicrobial activity of actinobacterial isolates.

Materials and Methods

Isolation of actinomycetes

Soil samples were diluted to 10^{-3} - 10^{-8} with Gause's No. 1 (20 g of starch, 1 g of KNO_3 , 0.5 g of NaCl, 0.5g of K_2HPO_4 , 0.5 g of $MgSO_4$, 0.01 g of $FeSO_4$, 10 g of agar) was inoculated from each dilution and cultured at 28°C for 7-14 days to differentiate pure cultures.

Antibacterial activity

Actinomycete strains were cultured in YM medium at 28°C for 7 days, centrifuged (3,000 rpm), supernatant and mycelial biomass were separated, extracted to ethyl acetate ($C_4H_8O_2$), and evaporated using a vacuum evaporator to prepare biologically active compound extracts. Gram-negative *Escherichia coli*, Gram-positive *Staphylococcus aureus*, and 3 types of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces pombe*, *Pichia anomala*) were used to determine the antimicrobial activity. *E. coli* and *S. aureus* pure cultures were grown in LB broth medium and incubated at 37°C for 24 hours. However, *S. cerevisiae*, *S. pombe*, and *P. anomala* cultures were cultured in a YPD medium and incubated at 25°C for 72 hours. YPD and Nutrient agar media were prepared and antimicrobial activity was determined by the agar diffusion method. Results were determined by a clear zone.

Enzymatic activity

To determine urease activity, a medium containing peptone 1 g, glucose 1 g, NaCl₅ g, $KHPO_4$ 2 g, urea solution 20%, and phenol red 0.012 g were sterilized at

115°C for 15 minutes. Tubes were regularly observed for up to 14 days for the production of enzymes. To determine the activity of protease, nutrient agar medium was prepared and 5% skimmed milk was sterilized and actinomycete cultures were incubated on the medium for 14 days. The plates were observed daily for clear zone around the growth. To define amylase enzyme activity, prepare a nutrient agar medium, add 5% starch solution, and incubate the actinomycete culture for 14 days. After incubation, the plates were flooded with Gram's iodine and observed for the formation of a clear zone around the growth. The ability to use hypoxanthine was tested by preparing meat peptone agar medium, then adding hypoxanthine (0.5%) to it and sterilizing it at 121°C for 15 minutes. Each strain was streaked across the plates and incubated for 21 days. Plates were examined daily for up to 21 days for the disappearance of the insoluble compounds around the area of growth.

Phylogenetic analysis

Genomic DNA was isolated from actinomycete cultures using a kit (Guangzhou Dongsheng Biotech Co., Ltd, China). Polymerase chain reaction (PCR) was performed using primers 8F and 1492R of the 16S rRNA gene, and the product was purified using a Qiagen gel separation kit. The nucleotide sequence of the 16S rRNA gene was determined by using a 3,130 xl genetic analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and processed by using BioEdit 7.2 and MEGA 11 software.

Results and Discussion

The activities of amylase, urease, and protease enzymes of actinomycetes 24-TSAND1, 21-TSB8, and 54-TSB4 are shown in Table 1. The following results show that 24-TSAND1 and 21-TSB8 cultures have high amylase enzyme activity and good hypoxanthine utilization ability. But the activity of the protease enzyme is weak. Inactivation of the urease enzyme is seen. But 54-TSB4 culture has high enzyme activity.

Table 2 shows the results of microbial activity determination of actinomycete cultures. Actinomycetes 24-TSAND1, 21-TSB8, and 54-TSB4 cultures are highly active against pathogenic *S. aureus*. However, 24-TSAND1 and 21-TSB8 cultures were not effective

Table 1. Enzymatic activities of actinomycetes strains

Isolation name	Enzymatic activities			
	Urease	Hypoxanthine utilization	Protease	Amylase
24-TSAND1	-	+++	+	+++
21-TSB8	-	+++	+	+++
54-TSB4	-	+++	+++	+++

+++ good activity, + moderate activity, - no activity

Table 2. Antimicrobial activity

Isolation name	Antibacterial activity (clear zone / mm)				
	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. pombe</i>	<i>P. anomala</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
24-TSAND1	-	3 ± 0.08	1 ± 0.20	-	3 ± 0.04
21-TSB8	2 ± 0.02	-	-	-	3 ± 0.1
54-TSB4	-	3 ± 0.12	2 ± 0.08	1 ± 0.08	3 ± 0.16

≤ 3 mm = good activity, ≤ 2 mm = moderate activity, - = no activity

against *E. coli* pathogens, while the 54-TSB4 culture was moderately active. The 21-TSB8 culture was highly active against *S. cerevisiae* yeast, while 24-TSAND1 and 21-TSB8 cultures were not effective. 24-TSAND1 and 54-TSB4 cultures were active against *S. pombe* yeast.

24-TSAND1 culture 16S rRNA gene nucleotide sequence was determined and added into BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) international DNA database, and similarity of 99% with *Streptomyces microflavus* strains. **Fig. 1** shows the phylogenetic tree.

Streptomyces microflavus actinomycete is weakly active against *S. cerevisiae* and *E. coli*, but moderately active against microorganisms such as *S. pombe*, *P. anomala*, and *S. aureus*. In the previous study, *Streptomyces felleus*, *Streptomyces* sp., and *Arthrobacter* sp. which has been found they had antagonistic activities against *E. coli*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *M. luteus*, and *P. aeruginosa* [10], [13].

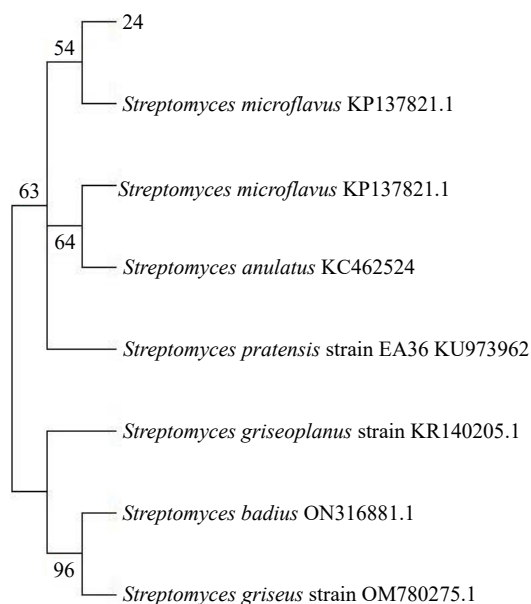


Fig. 1. 16S rRNA sequencing of the isolate *Streptomyces platensis* D9-24

In a previous study, *Streptomyces felleus* strain was found to have weak urease enzyme activity but high amylase enzyme activity [10]. Actinomycetes of *Streptomyces microflavus* strain had a high ability to degrade organic compound hypoxanthine. Actinomycetes of *Streptomyces ghanaensis* and *Streptomyces yerevanensis* strains have also been found to degrade the same organic compound as hypoxanthine [2].

Conclusion

The enzymatic activity and antimicrobial activity of actinomycetes 24-TSAND1, 21-TSB 8, and 54-TSB 4 cultures were evaluated which was isolated from the soil of Tuv province in Mongolia. The phylogenetic analysis of 24-TSAND1 culture revealed which had the highest similarity (100%) with actinomycete's strain *Streptomyces microflavus*. The actinomycetes used in this study had high enzymatic and antimicrobial activity. Further, it is important to continue the research in this field in order to discover microorganisms that can be used for food, agriculture, and environmental restoration from natural sources in Mongolia.

Acknowledgments

The research work was supported by grants from the Laboratory of Microbial Synthesis, Institute of Biology of MAS, and Sky Hypermarket LLC, Laboratory of Chemistry and Microbiology are gratefully acknowledged.







References

- [1] N. Keikha, S. Ayatollahi Mousavi, G. Shahidi Bonjar, B. Fouladi, and A. Izadi, "In vitro antifungal activities of Actinomyces species isolated from soil samples against *Trichophyton mentagrophytes*," *Curr. Med. Mycol.*, vol. 1, no. 3, pp. 33–38, Sep. 2015, <https://doi.org/10.18869/acadpub.cm0m.1.3.33>.
- [2] M. S. Palla, G. S. Guntuku, M. K. K. Muthyala, S. Pingali, and P. K. Sahu, "Isolation and molecular characterization of antifungal metabolite producing actinomycete from mangrove soil," *Beni-Suef Univ. J. Basic Appl. Sci.*, vol.

- 7, no. 2, pp. 250–256, Jun. 2018, <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2018.02.006>.
- [3] Pagmadulam B, Monisha Kh, Tserendulam D, and Rentsenkhand Ts, “The taxonomic study of some actinomycetes isolated from Mongolian soils,” *Proc. Mong. Acad. Sci.*, vol. 56, pp. 66–72, Nov. 2016, <https://doi.org/10.5564/pmas.v56i3.692>. (in Mongolian)
- [4] D. Prakash *et al.*, “Actinomycetes: a repertory of green catalysts with a potential revenue resource,” *BioMed Res. Int.*, vol. 2013, p. 264020, 2013, <https://doi.org/10.1155/2013/264020>.
- [5] T. Baljinova and D. D, “Antimicrobial activities of soil actinomycetes isolated with different methods from Khuvs gul and Uvs aimags and identification of actinomycetes of the genus Amycolatopsis using genus-specific primers,” *Proc. Inst. Gen. Exp. Biol.*, vol. 31, pp. 184–191, Jan. 2015.
- [6] B. Pagmadulam *et al.*, “Isolation and characterization of antiprotozoal compound-producing *Streptomyces* species from Mongolian soils,” *Parasitol. Int.*, vol. 74, p. 101961, Feb. 2020, <https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.101961>.
- [7] Pagmadulam B, Sainbileg P, Oyukhsn Kh, and Rentsenkhand Ts, “Enzymatic activities of actinomycetes isolated from soil in Tuv province of Mongolia,” *Proc Inst Biol*, vol. 37, pp. 9–15, 2021.
- [8] Tsetseg B, “Phylogenetic diversity of actinobacteria of the genus Kribble and their potential for production of extracellular enzymes,” *Conference paper*, 2022.
- [9] Tsetseg B, “Plant-microbe interactions: Actinomycetes in plant rhizosphere of Mongolian dry steppe ecosystem,” *Conference paper*, 2008.
- [10] K. Sarika *et al.*, “Antimicrobial and antifungal activity of soil actinomycetes isolated from coal mine sites,” *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 28, no. 6, pp. 3553–3558, Jun. 2021, <https://doi.org/10.03.248/j.sjbs.2021.03.029>.
- [11] S.-W. Liu, N. Jadambaa, A. A. Nikandrova, I. A. Osterman, and C.-H. Sun, “Exploring the Diversity and Antibacterial Potentiality of Cultivable Actinobacteria from the Soil of the Saxaul Forest in Southern Gobi Desert in Mongolia,” *Microorganisms*, vol. 10, no. 5, p. 989, May 2022, <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050989>.
- [12] C. I. Edemekong *et al.*, “Molecular Characterization and Bioassay of Soil Actinomycetes Strains on Multidrug Resistant Bacteria Molecular Characterization and Bioassay of Soil Actinomycetes Strains on Multidrug,” *J. Biotechnol. Biochem. IOSR-JBB*, vol. 8, no. 1, pp. 6–11, Feb. 2022.
- [13] E. Mulya and D. E. Waturangi, “Screening and quantification of anti-quorum sensing and antibiofilm activity of Actinomycetes isolates against food spoilage biofilm-forming bacteria,” *BMC Microbiol.*, vol. 21, no. 1, p. 1, Jan. 2021, <https://doi.org/10.1186/s12866-020-02060-7>.



Зарим актиномицетийн нутгийн өсгөвөрүүдийн ферментийн болон бичил биетний эсрэг идэвх

Мөнгөнтуяа Жамъянмядаг¹ , Чойдаш Батцэцэг¹ , Хандаа Оюухан² ,
 Пүрэвжав Сайнбилэг², Шагдар Эрдэнэчимэг² , Цэрэннадмид Рэнцэнханд² ,
 Балдорж Пагмадулам^{2,*} 

¹Монгол улсын их сургууль, Шинжлэх ухааны сургууль, Байгалийн ухааны салбар, Биологийн тэнхим, Микробиологийн лаборатори, Улаанбаатар, Монгол Улс

²Шинжлэх ухааны академи, Биологийн хүрээлэн, Микробын нийлэгжлийн лаборатори, Улаанбаатар, Монгол Улс

*Холбоо барих зохиогч: pagmadulam_b@mas.ac.mn, <https://orcid.org/0000-0003-3749-326X>

Хураангуй. Төв аймгийн хөрснөөс ялгасан актиномицетийн 3 өсгөврийг сонгон органик уусгагчаар хандлан бичил биетний эсрэг идэвх болон зарим ферментийн идэвхийг тодорхойлов. Актиномицетийн 24-Цанд1, 21-ЦБ8 болон 54-ЦБ4 өсгөвөрүүд нь протеаза, амилаза ферментийн өндөр идэвхтэй байна. Актиномицетийн 24-Цанд1, 21-ЦБ8, 54-ЦБ4 нутгийн өсгөвөрүүд өвчин үүсгэгч *S. aureus*-ийн эсрэг идэвх өндөртэй байна. Харин *E. coli* өвчин үүсгэгчийн эсрэг 24-Цанд1, 21-ЦБ8 өсгөвөрүүд үйлчлээгүй бол 54-ЦБ4 өсгөвөр дунд зэргийн идэвхтэй байв. Мөн актиномицетийн 24-Цанд1 өсгөврийн 16S рРНХ генийн нуклеотидийн дарааллыг тогтоож, филогенетикийн анализ хийхэд *Streptomyces microflavus*-ийн төрөл зүйлд хамаарч байгааг тодорхойлов.

Түлхүүр үгс: Актиномицет, 16S рРНХ ген, филогенетик, фермент, бичил биетний эсрэг идэвх

Хүлээн авсан 2022.09.15; хянан тохиолдуулсан 2022.11.24; зөвшөөрсөн 2022.11.24

© 2022 Зохиогчид. [CC BY-NC 4.0 лиценз](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Оршил

Актиномицетүүд нь байгальд бусад бичил биетний үйлчлэлээр үл задрах нийлмэл органик нэгдлүүдийг задлан хөрсний үржил шимийг нэмэгдүүлэх, байгаль орчныг бохирдуулж буй хүчин зүйлүүдийг саармагжуулахад чухал үүрэг гүйцэтгэдэг [1]. Актиномицет нь утаслаг бүтэцтэй, мицелл нь хөндлөн таславчгүй 0,5-1 мкм-ээс илүүгүй хэмжээтэй, грам эерэг бичил биетэн юм [2]. Актиномицетүүд нь антибиотик болон биологийн идэвхт нэгдлүүдийн гол нийлэгжүүлэгчид юм [3]. Актиномицетүүд нь үйлдвэрлэлийн ач холбогдолтой олон төрлийн фермент нийлэгжүүлдэг ба целлюлаза, амилаза, липаза зэрэг ферментүүдийг нийлэгжүүлдэг ба хүнс хөдөө аж ахуй, хөнгөн

үйлдвэрлэл, байгаль орчны нөхөн сэргээлтэнд өргөнөөр ашиглаж байна [4]. 1990-ээд оноос манай оронд актиномицетийн судалгааг хийж, ховор төрөл зүйлийн актиномицетүүдийг илрүүлэн тэдгээрийн биологийн идэвхийн судалгааг нэлээдгүй хийсээр байна [2], [5], [6], [7], [8], [9]. Мөн Монгол орны хөрснөөс ялгасан *Streptomyces*-ийн төрлийн актиномицет нь эгэл биет паразитын (*Toxoplasma gondii*, *Plasmodium falciparum*) эсрэг бодис нийлэгжүүлж байгааг тогтоосон байна [6]. Газар тариалангийн хөрснөөс хүнс хөдөө аж ахуй болон хөрсний нөхөн сэргээлтэнд ашиглах боломжтой ферментийн идэвх өндөртэй актиномицетийг ялгасан байдаг [3], [5], [7], [8], [12]. Цэцэг нарын судлаачид Хөвсгөл болон Увс аймгийн хөрснөөс *Amurolatopsis* төрлийн актиномицетүүдийг ялган бактерийн эсрэг идэвхийг

тодорхойлсон [5]. Бид Монгол орны байгалийн эх үүсвэр болох хөрснөөс биологийн идэвхтэй, хүнс хөдөө аж ахуй болон хөрсний нөхөн сэргээлтэнд ашиглах боломжтой актиномицетүүдийг илрүүлэн, ферментийн болон бичил биетний эсрэг идэвхийг судлан Микробын нийлэгжлийн лабораторийн бичил биетний санд хадгалан, цаашид газар тариалангийн үржил шимийг нэмэгдүүлэх, орчны бохирдлоос шалтгаалсан хөрсийг цэвэршүүлэх зэрэгт ашиглах боломжийг бүрдүүлж өгөх нь судалгааны чухал ач холбогдолтой юм. Иймээс энэхүү судалгааны ажлын хүрээнд актиномицетийн цэвэр өсгөвөр ялган, ангилал зүйн судалгаа явуулж, ферментийн болон бичил биетний эсрэг идэвхийг тодорхойлох зорилго тавив.

Судалгааны материал, арга зүй

Актиномицетийн өсгөвөр ялгах

Хөрсний дээжийг нэрмэл усанд 10^{-3} - 10^{-8} хүртэл шингэрүүлэн Gause's No. 1 (20 г цардуул, 1 г KNO_3 , 0.5 г NaCl , 0.5 г K_2HPO_4 , 0.5 г MgSO_4 , 0.01 г FeSO_4 , 10г агар) тэжээлт орчинд шингэрүүлэлт тус бүрээс тарилга хийж 28°C -г 7-14 хоног өсгөвөрлөж цэвэр өсгөвөр ялгасан.

Ферментийн идэвх тодорхойлох

Уреаза ферментийн идэвх тодорхойлоход пептон 1 г, глюкоз 1 г, NaCl 5 г, KH_2PO_4 2 г мочевины уусмал 20%, фенол улаан 0,012 г агуулсан тэжээлт орчинг бэлтгэж 115°C -д 15 минут ариутгав. Дээрх тэжээлт орчинд идэвхтэй өсгөврүүдээ тарилга хийж 25°C -г 14 хоног өсгөвөрлөж өнгөний өөрчлөлтөөр ферментийн идэвхийг шалгана. Протеаза ферментийн идэвхийг тодорхойлохдоо мах пептон агар тэжээлт орчин бэлтгэн 5%-ийн тосгүйжүүлсэн сүүг ариутган нэмж тэжээлт орчин дээр актиномицетийн өсгөврөө 14 хоног өсгөвөрлөсний дараа үр дүнг хүрээ үүсгэлтээр тодорхойлно. Амилаза ферментийн идэвхийг тодорхойлохдоо мах пептон агар тэжээлт орчин бэлтгэн 5%-ийн цардуулын уусмалыг ариутган нэмж актиномицетийн өсгөврөө 14 хоног өсгөвөрлөсний дараа иодын уусмал дусааж цэвэр хүрээ үүсгэлтээр үр дүнг тооцно. Гипоксантин ашиглах чадварыг мах пептон агар тэжээлт орчин бэлтгэн түүн

дээр гипоксантин (0.5%) нэмж 121°C -д 15 минут ариутгав. Дээрх тэжээлт орчинд өсгөврөө 21 хоног өсгөвөрлөсний дараа үр дүнг хүрээ үүсгэлтээр тодорхойлно.

Бичил биетний эсрэг идэвх тодорхойлох

Актиномицетийн омгуудыг ҮМ шингэн тэжээлт орчинд 28°C -г 7 хоног өсгөвөрлөсний дараа центрифүгдэж (3,000 эрг) супернатант болон мицеллийн биомассыг ялгаж, этил ацетатанд ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$) хандлан вакуум ууршуулагч ашиглан ууршуулан биологийн идэвх нэгдлийн ханд бэлтгэсэн. Грам сөрөг савханцар (*Escherichia coli*) грам эерэг кокк (*Staphylococcus aureus*), 3 төрлийн дрожжийн (*Sachromyces cerevisiae*, *Sachromyces pombe*, *Pichia anomala*) өсгөврийг ашиглан бичил биетний эсрэг идэвхийг тодорхойлов. *E. coli*, *S.aureus* цэвэр өсгөврүүдийг LB шөл шингэн тэжээлт орчинд 37°C -ийн термостатад 24 цаг ургуулав. Харин *S. cerevisiae*, *S. pombe*, *P. anomala* өсгөврийг YPD тэжээлт орчинд 25°C -ийн термостатад 72 цаг өсгөвөрлөв. YPD болон МПА тэжээлт орчин бэлтгэн бичил биетний эсрэг идэвхийг агар диффүзийн аргаар тодорхойллоо. Үр дүнг 3 давталтын хүрээ үүсгэлтээр тодорхойлов.

Филогенетикийн анализ

Актиномицетийн өсгөврүүдээс геномын ДНХ-г кит цомог ашиглан ялган (Guangzhou Dongsheng Biotech Co., Ltd China). 16S rPHX генийн 8F, 1492R, праймеруудыг ашиглан полимержих гинжин урвал (ПГУ) явуулж, бүтээгдэхүүнийг Qiagen гель ялгах кит ашиглан цэвэршүүлсэн. 16S rPHX генийн нуклеотидийн дарааллыг 3130xl genetic analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) ашиглан тогтоож, BioEdit 7.2 болон MEGA 11 программ ашиглан боловсруулалт хийсэн.

Судалгааны үр дүн

Актиномицетийн 24-Цанд1, 21-ЦБ8, 54-ЦБ4 өсгөврүүдийн амилаза, уреаза, протеаза ферментийн идэвхийг тодорхойлон **1-р хүснэгтэд** харуулав. Дараах үр дүнгээс харахад 24-Цанд1 болон 21-ЦБ8 өсгөврүүд нь амилаза ферментийн өндөр идэвхтэй, гипоксантин ашиглах чадвар сайн байна. Харин

протеаза ферментийн идэвх сул байна. Уреаза ферментийн идэвхгүй болох нь харагдаж байна. Харин 54-ЦБ4 өсгөвөр нь гипоксантин ашиглах чадвар, протеаза, амилаза ферментийн идэвх өндөр харин уреаза ферментийн идэвхгүй байна.

Актиномицетийн өсгөврүүдийн бичил биетний идэвх тодорхойлсон дүнг **2-р хүснэгтэд** харуулав. Актиномицетийн 24-Цанд1, 21-ЦБ8, 54-ЦБ4 нутгийн өсгөврүүд өвчин үүсгэгч *S. aureus*-ийн эсрэг идэвх өндөртэй байна. Харин *E.coli* өвчин үүсгэгчийн эсрэг 24-Цанд1, 21-ЦБ8 өсгөврүүд үйлчлээгүй бол 54-ЦБ4 өсгөвөр дунд зэргийн идэвхтэй. *S. cerevisiae* дрожжийн эсрэг 21-ЦБ8 өсгөвөр өндөр идэвхтэй бол 24-Цанд1, 21-ЦБ8 өсгөврүүд үйлчлээгүй. *S. pombe* дрожжийн эсрэг 24-Цанд1, 54-ЦБ4 өсгөврүүд өндөр идэвхтэй байлаа.

24-ЦАНД1 өсгөврийн 16S рРНХ генийн нуклеотидийн дарааллыг тогтоож BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) олон улсын ДНХ-ийн мэдээллийн санд оруулан хайлт хийж, төрөл зүйлийн хамаарлыг тогтооход *Streptomyces microflavus* омогтой 99% төстэй байсан учир *Streptomyces microflavus* зүйл гэж тодорхойлон 1-р зурагт филогенетикийн модыг байгуулж харуулав.

Streptomyces microflavus омгийн актиномицет нь *S. cerevisiae*, *E. coli* –ийн эсрэг идэвх сул харин *S. pombe*, *P. anomala*, *S. aureus* зэрэг бичил биетний эсрэг идэвх дунд зэрэг байна. Судлаачид Актиномицетийн *Streptomyces felleus*, *Streptomyces*

1-р хүснэгт. Актиномицетийн өсгөврийн зарим ферментийн идэвх

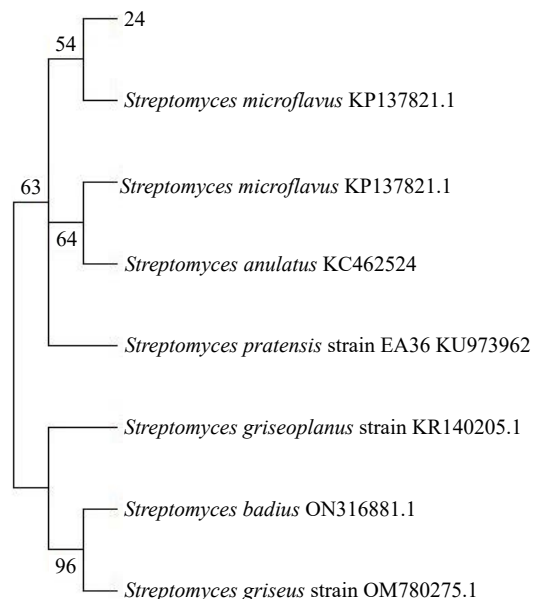
Өсгөврийн нэр	Ферментийн идэвх			
	Уреаза	Гипоксантин ашиглах чадвар	Протеаза	Амилаза
24-Цанд1	-	+++	+	+++
21-ЦБ8	-	+++	+	+++
54-ЦБ4	-	+++	+++	+++

+++ идэвх өндөр, + идэвх сул, - идэвхгүй

2-р хүснэгт. Актиномицетийн өсгөврүүдийн бичил биетний эсрэг идэвх

Өсгөврийн нэр	Бичил биетний эсрэг идэвх (Хүрээ үүсгэлт/мм)				
	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. pombe</i>	<i>P. anomala</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
24-Цанд1	-	3 ± 0.08	1 ± 0.20	-	3 ± 0.04
21-ЦБ8	2 ± 0.02	-	-	-	3 ± 0.1
54-ЦБ4	-	3 ± 0.12	2 ± 0.08	1 ± 0.08	3 ± 0.16

≤3 мм идэвх өндөр, ≤2 идэвх дунд, - идэвхгүй



1-р зураг. Актиномицетийн 24-ЦАНД1 омгийн 16S рРНХ генийн нуклеотидийн дараалал дээр үндэслэсэн филогенетикийн мод

sp. болон *Arthrobacter sp.* омгуудын *E. coli*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *M. luteus*, *P. aeruginosa* зэрэг бичил биетний эсрэг өндөр идэвхтэй байгааг судлан тогтоосон байдаг [10], [13].

Өмнөх судалгаагаар *Streptomyces felleus* омог нь уреаза ферментийн идэвх сул харин амилаза ферментийн идэвх өндөр байгаа нь тогтоогдсон [10]. *Streptomyces microflavus* омгийн актиномицет нь органик нэгдэл гипоксантин задлах чадвар өндөр байна. *Streptomyces ghanaensis*, *Streptomyces yerevanensis* омгийн актиномицетүүд нь мөн адил органик нэгдэл гипоксантин сайн задалдаг болох нь тогтоогдсон [2].

Дүгнэлт

Төв аймгийн хөрснөөс ялгасан актиномицетийн 24-Цанд1, 21-ЦБ8, 54-ЦБ4 өсгөврүүдийн ферментийн идэвх болон бичил биетний эсрэг идэвхийг тодорхойлов. 24-Цанд1 өсгөврийн филогенетикийн анализын дүнд *Streptomyces microflavus* зүйлийн актиномицет болохыг тогтоосон. Энэхүү судалгаанд ашигласан актиномицетүүд нь ферментийн болон бичил биетний эсрэг идэвх өндөр байна. Цаашид энэ талын судалгааг үргэлжлүүлэн Монгол орны

байгалийн эх үүсвэрээс хүнс, хөдөө аж ахуй болон байгаль орчны нөхөн сэргээлтэнд ашиглах боломжтой бичил биетэнг илрүүлэх нь ач холбогдолтой юм.

Талархал

Энэхүү судалгааны ажлыг гүйцэтгэхэд гүн туслалцаа үзүүлсэн Биологийн хүрээлэнгийн Микробын нийлэгжлийн лабораторийн судлаачид, Скай хайпермаркет ХХК-ийн Хими, микробиологийн лабораторийн хамт олонд гүн талархал илэрхийлье.

Ашигласан бүтээл

- [1] N. Keikha, S. Ayatollahi Mousavi, G. Shahidi Bonjar, B. Fouladi, and A. Izadi, “In vitro antifungal activities of Actinomycetes species isolated from soil samples against *Trichophyton mentagrophytes*,” *Curr. Med. Mycol.*, vol. 1, no. 3, pp. 33–38, Sep. 2015, <https://doi.org/10.18869/acadpub.cm0m.1.3.33>.
- [2] M. S. Palla, G. S. Guntuku, M. K. K. Muthyala, S. Pingali, and P. K. Sahu, “Isolation and molecular characterization of antifungal metabolite producing actinomycete from mangrove soil,” *Beni-Suef Univ. J. Basic Appl. Sci.*, vol. 7, no. 2, pp. 250–256, Jun. 2018, <https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2018.02.006>.
- [3] Пагмадулам Б, Мониша Канна, Цэрэндулам Д, Рэнцэнханд, “Монгол орны хөрснөөс ялгасан актиномицетийн ангилалзүйн судалгааны дүнгээс, хуу 66-71, 2016,” *Шинжлэх ухааны академийн мэдээ*, pp. 66–71, 2016. <https://doi.org/10.5564/pmas.v56i3.692>
- [4] D. Prakash *et al.*, “Actinomycetes: a repertory of green catalysts with a potential revenue resource,” *BioMed Res. Int.*, vol. 2013, p. 264020, 2013, <https://doi.org/10.1155/2013/264020>.
- [5] T. Baljinova and D. D., “Antimicrobial activities of soil actinomycetes isolated with different methods from Khuvsgul and Uvs aimags and identification of actinomycetes of the genus *Amycolatopsis* using genus-specific primers,” *Proc. Inst. Gen. Exp. Biol.*, vol. 31, pp. 184–191, Jan. 2015.
- [6] B. Pagmadulam *et al.*, “Isolation and characterization of antiprotozoal compound-producing *Streptomyces* species from Mongolian soils,” *Parasitol. Int.*, vol. 74, p. 101961, Feb. 2020, <https://doi.org/10.1016/j.parint.2019.101961>.
- [7] Pagmadulam B, Sainbileg P, Oyukhsn Kh, and Rentsenkhand Ts, “Enzymatic activities of actinomycetes isolated from soil in Tuv province of Mongolia,” *Proc Inst Biol*, vol. 37, pp. 9–15, 2021.
- [8] Tsetseg B, “Phylogenetic diversity of actinobacteria of the genus *Kribble* and their potential for production of extracellular enzymes,” *Conference paper*, 2022.
- [9] Tsetseg B, “Plant-microbe interactions: Actinomycetes in plant rhizosphere of Mongolian dry steppe ecosystem,” *Conference paper*, 2008.
- [10] K. Sarika *et al.*, “Antimicrobial and antifungal activity of soil actinomycetes isolated from coal mine sites,” *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 28, no. 6, pp. 3553–3558, Jun. 2021, <https://doi.org/10.0.3.248/j.sjbs.2021.03.029>.
- [11] S. W. Liu, N. Jadambaa, A. A. Nikandrova, I. A. Osterman, and C. H. Sun, “Exploring the Diversity and Antibacterial Potentiality of Cultivable Actinobacteria from the Soil of the Saxaul Forest in Southern Gobi Desert in Mongolia,” *Microorganisms*, vol. 10, no. 5, p. 989, May 2022, <https://doi.org/10.3390/microorganisms10050989>.
- [12] C. I. Edemekong *et al.*, “Molecular Characterization and Bioassay of Soil Actinomycetes Strains on Multidrug Resistant Bacteria Molecular Characterization and Bioassay of Soil Actinomycetes Strains on Multidrug,” *J. Biotechnol. Biochem. IOSR-JBB*, vol. 8, no. 1, pp. 6–11, Feb. 2022.
- [13] E. Mulya and D. E. Waturangi, “Screening and quantification of anti-quorum sensing and antibiofilm activity of Actinomycetes isolates against food spoilage biofilm-forming bacteria,” *BMC Microbiol.*, vol. 21, no. 1, p. 1, Jan. 2021, <https://doi.org/10.1186/s12866-020-02060-7>.