



МОНГОЛ ОРНЫ ХӨРСНӨӨС ЯЛГАСАН АКТИНОМИЦЕТИЙН АНГИЛАЛЗҮЙН СУДАЛГААНЫ ДҮНГЭЭС

Б.Пагмадулам¹, Мониша Канна², Д.Цэрэндулам¹, Ц. Рэнцэнханд¹

¹ Ерөнхий болон сорилын биологийн хүрээлэнгийн Микробын Нийлэгжлийн Лаборатори,
Шинжлэх ухааны Академи, Монгол улс

² Микробын технологийн лаборатори, АНДК, Дэлхийн Их Сургууль
Цахим шуудан: Pagm_b@yahoo.com, dugar_ts@yahoo.com, rkhandaa@yahoo.com

Хураангуй

Төв, Хэнтий аймгийн уул уурхай, газар тариалангийн хөрснөөс ялгасан N11 болон N22 актиномицетийн өсгөврийг сонгон ангилалзүйн судалгаа явууллаа. Дээрх өсгөврүүдийн морфологийн шинж чанарыг ISP тэжээлт орчинд өсгөвөрлөж субстрат мицелийн өнгө, агаарын мицелийн өнгө, спор үүсэлтийг тодорхойлов. Физиологи, биохимийн шинж чанар болох нүүрс ус ашиглах чадвар, уреазын идэвх, цардуулын задраг, тослоггүй сүү ашиглах чадвар, органик нэгдэл гипоксантин задлах чадварыг тодорхойлсон. Өсгөврүүдийн 16S rPHX генийн нуклеотидын дарааллыг тогтоож, филогенетикийн анализ хийхэд N22 өсгөвөр нь *Streptomyces ghanaensis* NBRC 15414(T) омогтой 99.39% төстэй байсан учир *Streptomyces ghanaensis* зүйл гэж тодорхойллоо. Харин N11 өсгөвөр нь *Streptomyces yerevanensis* NBRC 12517(T) омогтой 98.51% төстэй байна.

Түлхүүр үг: Актиномицет, 16S rPHX ген, ангилалзүй, филогенетик

ОРШИЛ

Актиномицетүүд грам эерэг, *Actinobacteria* хүрээнд багтдаг, хөрсний микрофлорын бүрэлдэхүүнд голлох байр суурыг эзэлдэг, биологийн идэвхит антибиотик, аминхүчил, фермент болон витамин нийлэгжүүлдэг бичил биетэн юм. Актиномицетийн гаралтай антибиотикт новобиоцин, нистатин, **неомицин**, **хлорамфеникол зэрэг хамаардаг.**

*Streptomyces*sp. төрлийн актиномицетүүд үндсэн антибиотик нийлэгжүүлэгч бичил биетэн бөгөөд ойролцоогоор 7600 төрлийн биологийн идэвхт метаболитуудыг нийлэгжүүлдэг [1]. Сүүлийн жилүүдэд антибиотикт тэсвэртэй өвчлөл нэмэгдэж байгаатай холбогдуулан төрөл бүрийн эх үүсвэрээс биологийн идэвхт метаболит

болон шинэ антибиотик нийлэгжүүлэгч актиномицетүүдийг илрүүлэн судлах нь чухал юм.

Манай оронд 1990-ээд оноос ховор актиномицетийн судалгааг эхэлж, цэвэр өсгөврүүд ялган, илрүүлсэн бөгөөд эдгээрийн дотор *Actinomadura*, *Micromonospora*, *Actinobispora*, *Microtetraspora*, *Glycomyces*, *Kibdelosporangium* зэрэг төрөлд хамаарах актиномицетийг тэмдэглэжээ [11]. Мөн манай орны хөрснөөс хэд хэдэн шинэ зүйл болох *Luteipulverulus mongoliensis*, *Actinoplanes toevensis* болон *Actinoplanes tereljensis* зэрэг актиномицетийг манай судлаачид илрүүлжээ [3,4].

СУДАЛГААНЫ МАТЕРИАЛ БА АРГАЗҮЙ

Өсгөврийн морфологи, физиологи-биохимийн шинж чанар

Микробын нийлэгжлийн лабораторийн санд хадаглагдаж буй Төв, Хэнтий аймгийн газар тариалангийн хөрснөөс ялгасан актиномицетүүдыг сонгон ангилалзүйн судалгаанд ашиглав.

Актиномицетийн эсийн морфологи шинж чанарыг Nixon ECLIPSE, TS 100 гэрлийн микроскоп ашиглан 40 x10 дахин өсгөлтөд тодорхойлсон. Өсгөврийн шинж чанарыг ISP1, ISP2, ISP4, ISP5, ISP7 тэжээлт орчингууд бэлдэж 28°C-т 10-14 хоног өсгөвөрлөн субстрат мицелийн өнгө, агаарын мицелийн өнгө болон спор үүсэлтийг тодорхойлсон. Мөн эдгээр өсгөврүүдийн Физиологи, биохимийн шинж чанар болох нүүрс ус ашиглах чадвар, уреазын идэвхи, цардуулын задраг, тослоггүй сүүг ашиглах чадвар, органик нэгдэл гипоксантин задлах чадварыг

тодорхойлов.

ДНХ ялгах болон филогенетик анализ Актиномицетийн өсгөврүүдээс геномын ДНХ ялган, ПГУ-ыг 8F, 1492R, 27F, 1542R праймеруудыг ашиглан явуулж, ПГУ бүтээгдэхүүнийг Qiagen гель ялгах кит ашиглан цэвэршүүлсэн. Micro Seq^R 16S rRNA gene sequencing kit (Applied biosystems, USA) болон Applied Biosystems 3100 AvantTM Genetic Analyzer Sequencer ашиглан 16S pPHX генийн нуклеотидын дараалалыг тогтоож, Sequence Analysis 5.1.1 програм ашиглан боловруулалт хийсэн. 16S pPHX генийн нуклеотидын дарааллыг ezTaxon (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>) олон улсын ДНХ-ийн мэдээллийн санд оруулж хайлт хийж төрөл зүйлийн хамаарлыг тогтоосон. Филогенетикийн модыг ClustalX 1.81 программ ашиглан neighbor-joining аргаар байгуулав.

СУДАЛГААНЫ ҮР ДҮН, ХЭЛЭЛЦҮҮЛЭГ

Монгол орноос ялгасан актиномицетийн N22 болон N11 өсгөврийг сонгон ангилалзүйн судалгааг хийхдээ ISP ISP1, ISP2, ISP4, ISP5, ISP7 тэжээлт орчингууд

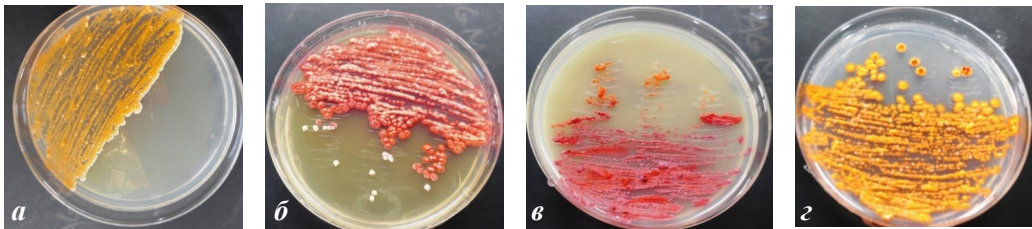
бэлдэж 28°C-т 10-14 хоног өсгөвөрлөн субстрат мицелийн өнгө, агаарын мицелийн өнгө болон спор үүсэлтийг тодорхойлж Хүснэгт 1-д үзүүлэв.

Хүснэгт 1. ISP тэжээлт орчингууд дахь өсгөврүүдийн морфологи шинж чанар

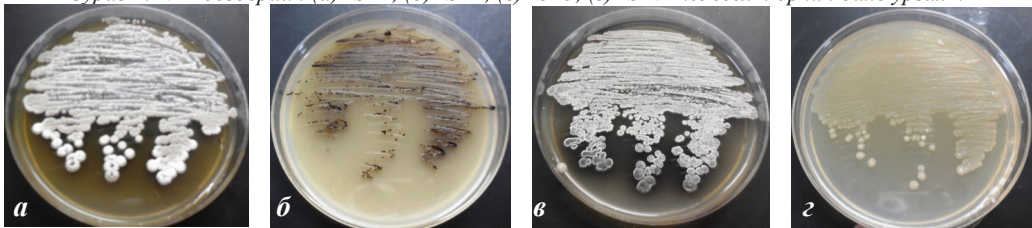
Өсгөврийн дугаар	ISP Тэжээлт орчин	Субстрат мицелийн өнгө	Агаарын мицелийн өнгө	Ургалт	Спор үүсгэлт
N11	ISP1	Цагаан	Цагаан	Сул	-
	ISP2	Бор	Саарал	Сайн	+
	ISP4	-	-	-	-
	ISP5	Хар	Хар	Сул	-
	ISP7	Хар	Саал	Сайн	+
N22	ISP1	Улбар шар	Улбар шар	Дундаж	+/-
	ISP2	Ягаан	Ягаан	Дундаж	-
	ISP4	-	-	-	-
	ISP5	Ягаан	Ягаан	Дундаж	+/-
	ISP7	Улбар шар	Улбар шар	Сайн	+

Дээрх хүснэгтээс харахад ISP 7 тэжээлт орчинд N22 болон N11 өсгөврүүдийн ургалт сайн байсан бол ISP4 тэжээлт орчин

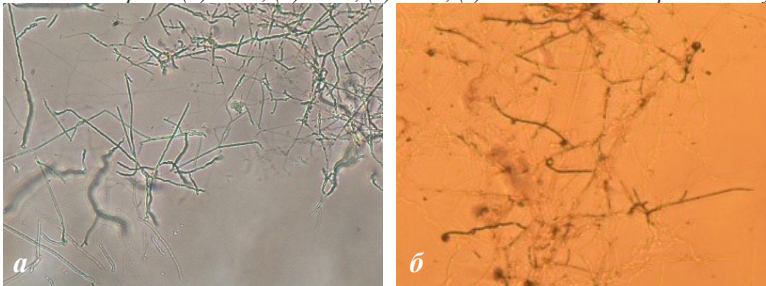
дээр ургаагүй. Мөн ISP7 тэжээлт орчинд спор үүсгэлт сайн байсан.



Зураг 1. N22 өсгөврийн (а) ISP1, (б) ISP2, (в) ISP5, (г) ISP7 тэжээлт орчин дахь ургалт



Зураг 2. N11 өсгөврийн (а) ISP2, (б) ISP5, (в) ISP7, (г) ISP1 тэжээлт орчин дахь ургалт



Зураг 3. (а) N22 өсгөврийн спор (*Rectiflexibles*) (б) N11 өсгөврийн спор (*Retinaculiaperti*)

N11 болон N22 өсгөврүүдийн физиологи биохимийн шинж чанарыг судалж, N11 өсгөврийн шинж чанарыг *Streptomyces*

Yerevanensis (Goodfellow et al. 1986) зүйлтэй харьцуулан үр дүнг Хүснэгт 2-нд үзүүлэв.

Хүснэгт 2. Физиологи, биохимийн шинж чанарыг тодорхойлсон дүн

Физиологи, биохимийн шинж чанар	L(+) Арабиноз	D(+) Галактоз	D(+) Манноз	D(+) Ксилоз	Инозитол	D(+) Глюкоз	Раффиноз	D-Маннитол	Melazitol	Цардуулын гидролиз	Уреазын идэвх	Твин	Гипоксантин	Тослоггүй сүүг ашиглах чадвар
N22	+	+++	+++	-	+++	++	-	+++	+++	+++	+++	+++	-	-
N11	-	+++	+++	-	+++	+++	-	+++	+++	++	+/-	++	+++	-
<i>Streptomyces Yerevanensis</i> (Goodfellow et al. 1986)	+++	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	ND	+++	+++

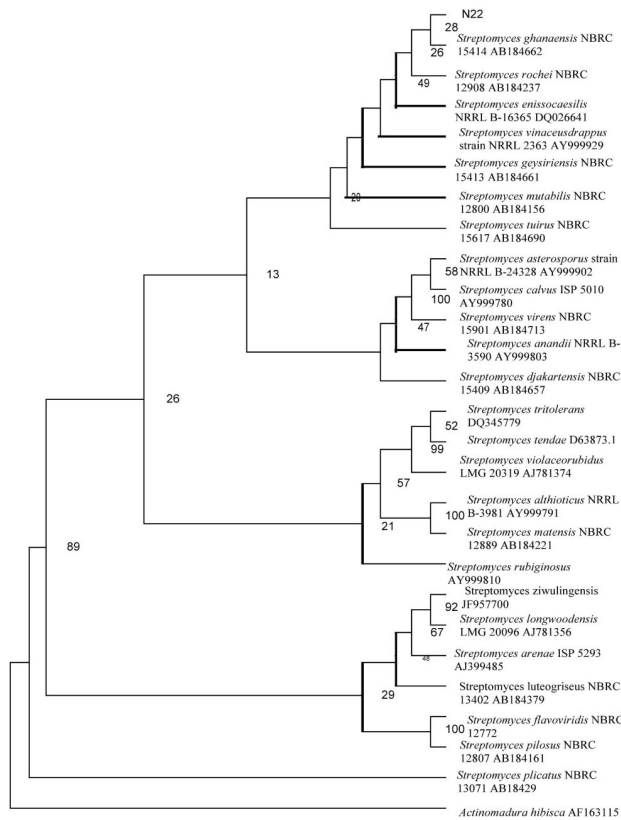
Тайлбар: +++ ургалт сайн, ++ ургалт дунд зэрэг, + ургалт сул, - ургаагүй, ND (харьцуулсан мэдээлэл байхгүй)

Хүснэгт 2-ээс харахад N 22 өсгөвөр нь нүүрс усны эх үүсвэрээр D(+) галактоз, D(+) манноз, инозитол, D-маннитолыг ашиглах чадвар сайн харин L(+) арабинозыг сул ашиглаж, D(+) ксилоз, раффинозыг ашиглах чадваргүй байсан. Мөн цардуулын задраг, уреазын идэвхи сайн байсан. Харин гипоксантин болон тослоггүй сүүг задлах чадваргүй байсан. N11 өсгөвөр нь D(+) галактоз, D(+) манноз, инозитол, D(+) глюкоз, D-маннитолыг ашиглах чадвар сайн байсан. Харин L(+) арабиноз, D(+) ксилоз, раффинозыг ашиглах чадваргүй байсан. Цардуулын задраг дунд зэрэг, байсан бол тослоггүй сүүг задлах чадваргүй байсан. N11 өсгөвөрийн физиологи, биохимийн

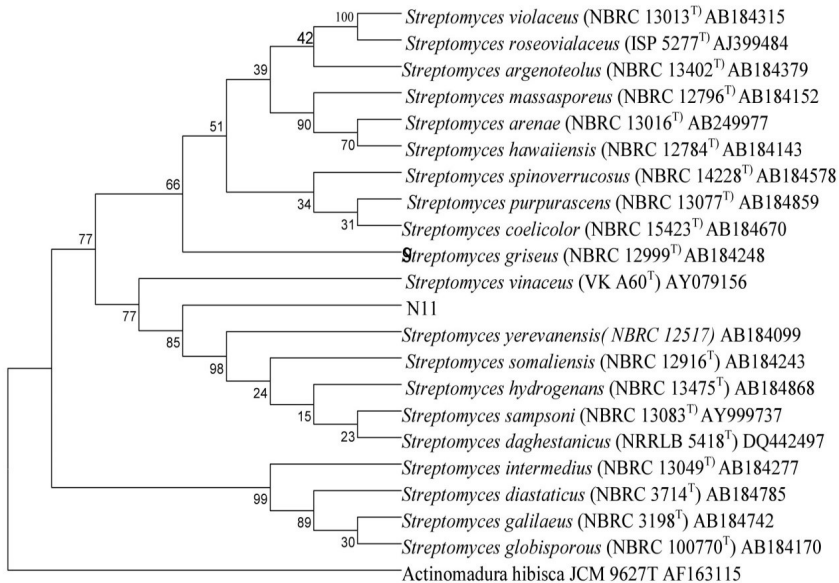
шинж чанарыг харьцуулахад *Streptomyces Yerevanensis* (Goodfellow et al. 1986) омгоос зарим шинж чанараараа ялгаатай байна.

Филогенетикийн анализын дүн

N11 болон N22 өсгөврүүдийн 16S рРНХ генийн нуклеотидын дарааллыг тогтоож ezTaxon (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>) олон улсын ДНХ-ийн мэдээллийн санд оруулан хайлт хийж, төрөл зүйлийн хамаарлыг тогтооход N22 өсгөвөр нь *Streptomyces ghanaensis* NBRC 15414(T) омогтой 99.39% төстэй байсан учир *Streptomyces ghanaensis* зүйл гэж тодорхойллоо. 3-р зурагт филогенетикийн модыг байгуулж харуулав.



Зураг 3. N22 өсгөвөрийн 16S рРНХ генийн нуклеотидын дараалал дээр үндэслэсэн филогенетикийн мод



Зураг 4. N11 өсгөврийн 16S рРНХ генийн нуклеотидын дараалал дээр үндэслэсэн филогенетикийн мод

N11 өсгөвөр нь 16S рРНХ генийн нуклеотидын дараалалаар *Streptomyces yerevanensis* NBRC 12517(T) омогтой 98.51% төстэй байгаа учир урьдчилсан байдлаар шинэ зүйл болох магадлалтай байна. Мөн филогенетикийн модноос

харахад N11 өсгөвөр нь *Streptomyces yerevanensis* зүйлээс удмын хувьд хол зайтай харагдаж байна. Гэвч шинэ зүйл эсэхийг бүрэн тодорхойлохын тулд ДНХ-ДНХ-ыг эрлийзжүүлэг хийх шаардлагатай.

ДҮГНЭЛТ

Төв, Хэнтий аймгийн уул уурхай, газар тариалангийн хөрснөөс ялгасан N11 болон N22 дугаартай актиномицетийн өсгөврийг сонгон авч ангилалзүйн судалгаа явуулав.

Өсгөврүүдийн 16S рРНХ генийн нуклеотидын дарааллыг тогтоож филогенетикийн анализ хийхэд N22 өсгөвөр нь *Streptomyces ghanaensis* NBRC 15414 (T) омогтой 99.39% төстэй байсан учир *Streptomyces ghanaensis* зүйл гэж тодорхойллоо. Мөн N22 өсгөврийн физиологи, биохимийн шинж чанарыг судлахад цардуулын задраг эерэг байгаа нь амилаза ферментийн идэвхтэй болох

нь харагдаж байна. Харин тослоггүй сүүг ашиглах чадваргүй байна.

N11 өсгөвөр нь *Streptomyces yerevanensis* NBRC 12517(T) омогтой 98.51% төстэй байгаа учир шинэ зүйл болох магадлалтай байна. Мөн N11 өсгөврийн физиологи, биохимийн шинж чанарыг *Streptomyces Yerevanensis* (Goodfellow et al. 1986) омогтой харьцуулан судлахад зарим шинж чанараараа ялгаатай байна. Шинэ зүйлийг баталгаажуулж, бүрэн тодорхойлохын тулд ДНХ-ДНХ-ыг эрлийзжүүлэг хийх шаардлагатай.



Ашигласан бүтээлийн жагсаалт

1. Berdy J (2005) *Bioactive microbial metabolites. The Journal of Antibiotics* 58, 1–26; doi:10.1038/ja.2005.1
2. *Bergey's manual of systematic bacteriology; Volume 5: The Actinobacteria* pp. 1766
3. Ismet Ara, Hideki Yamamura, Baljinova Tsetseg, Damdinsuren Daram and Katsuhiko Ando. 2010. “*Luteipulverulus mongoliansis* gen. nov., sp. nov., an actinobacterial taxon in the family Dermacocaceae”. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60. p 574-579.
4. Ismet Ara, Hideki Yamamura, Baljinova Tsetseg, Damdinsuren Daram and Katsuhiko Ando. 2010. “*Actinoplanes toevensis* sp. nov. and *Actinoplanes tereljensis* sp. nov., isolated from Mongolian soils. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60. 919-927.
5. Егоров Н.С. 1976. Практикум по микробиологии. стр 247-248.
6. Monisha Khanna, Renu Solanki (2012) *Streptomyces antibioticalis*, a novel species from a sanitary Landfill Soil. *Indian J Microbiol* 52(4);605-611
7. Norovsuren Zh et al., (2005) *Actinomycetes in the Rhizosphere of semidesert soils of Mongolia. Soil Biology*, volume 40, pp 415-418
8. Solanki R, Khanna M and Lal R. (2008) *Bioactive compounds from marine actinomycetes. Indian J Microbiol*, 48, 410-31
9. Solanki R et al., (2011) *Antimicrobial activities of Actinomycetes from diverse ecological habitats in Delhi and its adjoining states, India. J Microb World* 13(2) pp 233-240
10. Solanki, R., Das, P. and Khanna, M. (2013). *Metabolic profiling of actinomycetes having antimicrobial properties. Int. J. Adv. Biotechnol. Res.* 4:444-459.
11. Tsetseg B., Kudo T., Enkh amgalan J. Daram D. 1997. Preliminary results on isolation of actinomycetes rare genera from Mongolian soils. // Abstract book. The 10th international symposium on Biology of actinomycetes. May 27-30. Beijing, China. p 24



TAXONOMIC STUDY OF ACTINOMYCETES ISOLATED FROM MONGOLIAN SOILS

Pagmadulam B¹, Monisha Kh², Tserendulam D¹, Rentsenkhand Ts¹

¹*Laboratory of Microbial synthesis, Institute of General and Experimental Biology, MAS*

²*Microbial Technology Laboratory, ANDC, University of Delhi*

Soil samples were collected from Khentii and Tuv provinces in Mongolia. Two strains (N11, N22) were selected for polyphasic approach which including morphological, physiological and phylogenetic analysis.

Phylogenetic analysis revealed that the strain N22 has highest the 16S rRNA similarity of 99.39% with *Streptomyces ghanaensis* NBRC 15414(T). The 16S rRNA genes sequence of 1418 nucleotides was generated for N11 and compared to the validly described species of genus *Streptomyces* as closest neighbors. Phylogenetic analysis revealed that the strain N11 has highest the 16S rRNA similarity of 98.51% with *Streptomyces yerevanensis* NBRC 12517(T). Also some phenotypic characteristics were different from type strains. Preliminary study shows that strain N11 might be new actinomycete species. However, need to determine the genetic distance between two microorganisms by using DNA-DNA hybridization methods.