

Г.Ф. Гаузе

Определитель актиномицетов

Роды *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Chainia*

**Москва
«Книга по Требованию»**

УДК 57
ББК 28
Г11

Г11 **Г.Ф. Гаузе**
Определитель актиномицетов: Роды *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Chainia* / Г.Ф. Гаузе – М.: Книга по Требованию, 2024. – 248 с.

ISBN 978-5-458-47107-7

ISBN 978-5-458-47107-7

© Издание на русском языке, оформление
«YOYO Media», 2024
© Издание на русском языке, оцифровка,
«Книга по Требованию», 2024

Эта книга является репринтом оригинала, который мы создали специально для Вас, используя запатентованные технологии производства репринтных книг и печати по требованию.

Сначала мы отсканировали каждую страницу оригинала этой редкой книги на профессиональном оборудовании. Затем с помощью специально разработанных программ мы произвели очистку изображения от пятен, клякс, перегибов и попытались отбелить и выровнять каждую страницу книги. К сожалению, некоторые страницы нельзя вернуть в изначальное состояние, и если их было трудно читать в оригинале, то даже при цифровой реставрации их невозможно улучшить.

Разумеется, автоматизированная программная обработка репринтных книг – не самое лучшее решение для восстановления текста в его первоизданном виде, однако, наша цель – вернуть читателю точную копию книги, которой может быть несколько веков.

Поэтому мы предупреждаем о возможных погрешностях восстановленного репринтного издания. В издании могут отсутствовать одна или несколько страниц текста, могут встретиться невыводимые пятна и кляксы, надписи на полях или подчеркивания в тексте, нечитаемые фрагменты текста или загибы страниц. Покупать или не покупать подобные издания – решать Вам, мы же делаем все возможное, чтобы редкие и ценные книги, еще недавно утраченные и несправедливо забытые, вновь стали доступными для всех читателей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящее время в различных изданиях и научных журналах, а также в патентной литературе опубликовано более 1200 названий таксонов представителей только одного рода *Streptomyces*. Такая обширная и неупорядоченная номенклатура создает большие трудности как при определении культур, так и при выяснении, не было ли какое-либо название упомянуто ранее. Совершенно очевидно, что значительная часть названий представляет собой синонимы, часть названий относится к недостаточно полно описанным таксонам, а часть — дана таксонам, описания которых вообще отсутствуют, или опубликованы в мало доступных для широкого круга исследователей изданиях.

В целях упорядочения номенклатуры бактерий Международная Ассоциация бактериологических обществ разработала новый Международный Кодекс Номенклатуры Бактерий (1978). В Кодексе, перевод которого на русский язык опубликован в 1978 г., имеются правила, касающиеся опубликования названий видов (раздел 5, правила 23—32). Согласно этим правилам названия и эпитеты считаются законными и правильными, если они находятся в соответствии с требованиями Кодекса, кроме того, они должны быть эффективно и действительно опубликованными. Эффективное опубликование предусматривает публикацию описания и названия таксона с указанием типа в общедоступном для научной общественности издании; действительное опубликование предусматривает публикацию названия таксона в Международном Журнале систематики бактерий (*International Journal of Systematic Bacteriology*).

Кроме того, Кодексом была предусмотрена публикация Одобренных списков названий, которые были присвоены таксонам различных рангов до 1980 г. Номенклатурный статус этих названий оценивала Юридическая Комиссия при участии экспертов по таксономии различных групп бактерий. Работа по подготовке материалов для Одобренных списков должна была быть закончена к 1.1.1980 г., после этой даты добавление названий к спискам прекращалось.

Названия таксонов, опубликованные до 1980 г. и не вошедшие в Одобренные списки, лишаются положения в номенклатуре. Однако они не будут включены в списки отвергнутых названий и, таким образом, станут доступными для повторного использования.

Кодекс предусматривает такую возможность, оговаривая ряд условий, необходимых для восстановления номенклатурного статуса названий тех таксонов, для которых это название было применено

первоначально. Восстановленные названия рассматриваются как новые. Однако Кодекс рекомендует не использовать названия, уже данные ранее какому-либо таксону, для обозначения нового таксона, оставляя, таким образом, авторам возможность восстановить прежние названия для описанных ими таксонов. Редакционные правила, которые должны служить руководством для авторов, желающих действительно опубликовать данные ими названия, или желающих восстановить названия, не вошедшие в Одобренные списки, изложены в статье Вайна [Wayne, 1981].

Одобренный список названий (Approved Lists..., 1980) куда были включены названия таксонов актиномицетов, опубликованных до 1980 г., появился в 1980 г.

Из всех опубликованных названий таксонов актиномицетов в Одобренном списке представлено только 607 (из них 376 — род *Streptomyces*). Таким образом, все остальные названия согласно Кодексу считаются недействительными и больше не существующими. Между тем многие из этих недействительных названий даны реально существующим таксонам, отдельные представители которых являются продуцентами антибиотиков, нередко практически важных. Ожидать пока закончится процедура восстановления многих названий видов было бы нецелесообразно. Учитывая «переходный период» в номенклатуре актиномицетов, авторы настоящего руководства поместили в соответствующие разделы описания целого ряда таксонов с прежними названиями, не внося в эти названия никаких номенклатурных поправок или изменений. Авторы считают, что этот собранный и обработанный ими материал представляет интерес для дальнейшей таксономической работы. Следует отметить, что название «актиномицеты» употребляется для обозначения всех представителей порядка *Actinomycetales*. Стрептомицетами в мировой литературе называют представителей рода *Streptomyces* (*Actinomyces* — по Красильникову).

Настоящее исследование основано на сравнительном изучении типовых культур различных видов представителей *Streptomyces*, *Streptoverticillium* и *Chainia*. В текст включены также виды, типовыми штаммами которых мы не располагали, но чьи описания содержали всю необходимую информацию.

Мы стремились, насколько это возможно, приводить описания видов по определенной схеме с использованием общеизвестных питательных сред, наиболее благоприятных для выявления и изучения признаков, необходимых и достаточных для определения культур.

При составлении настоящего руководства в нашем распоряжении были штаммы актиномицетов, полученные из различных коллекций:

1. ВКМ (VKM) — Всесоюзная коллекция микроорганизмов при ИБФМ АН СССР, Пущино, Московская обл.
2. ВНИИА (RIA) — Всесоюзный научно-исследовательский институт антибиотиков, Москва, Нагатинское шоссе, 3а.
3. ИНА (INA) — Всесоюзный научно-исследовательский Институт по изысканию новых антибиотиков АМН СССР, Москва, Б. Пироговская, 11.

4. ИНМИ (INMI) — Институт Микробиологии АН СССР, Москва, просп. 60-летия Октября, 7, корп. 2.
5. ЛИА (LIA) — Всесоюзный научно-исследовательский технологический Институт антибиотиков и ферментов медицинского назначения ММП СССР, Ленинград, пр. Огородникова, 41.
6. ATCC American Type Culture Collection, Rockvill, Maryland, USA.
7. CBS Centraal bureau voor Schimmel cultures, Baarn, Netherlands.
8. ETH Eidgenössische Technische Hochschule, Institut für Botanik, Zürich, Switzerland.
9. IMET Zentralinstitut für Mikrobiologie und Experimentelle Therapie, Jena, DDR.
10. IMRU Institute of Microbiology, Rutgers University, New Jersey, USA.
11. IPV Institute di Patologia Vegetale, Milan, Italy.
12. NCIB National Collection of Industrial Bacteria, Aberdeen, Scotland.
13. NRRL Northern Regional Research Laboratories, Peoria, USA.
14. SIH State Institute of Hygiene, Warsaw, Poland.

Проведенное нами сравнительное изучение диагностических признаков при росте штаммов актиномицетов на различных питательных средах показало, что эти признаки наиболее полно проявляются на следующих средах:

Минеральный агар 1 [Гаузе и др., 1957б, с. 22]

крахмал (растворимый)	20,0 г	FeSO ₄	0,01 г
K ₂ HPO ₄	0,5 г	агар	30,0 г
MgSO ₄	0,5 г	вода	1 л
KNO ₃	1 г	pH = 7,2—7,4	
NaCl	0,5 г		

Овсяный агар [Waksman, 1961]

овсяная мука	20—65 г	водопроводная вода	1 л
агар	20,0 г	pH = 7,2	

Глицерин-нитратный агар [Lindenbein, 1952]

глицерин	30,0 г	KCl	0,5 г
NaNO ₃	2,0 г	FeSO ₄	0,01 г
K ₂ HPO ₄	1,0 г	агар	20,0 г
MgSO ₄	0,5 г	вода	1 л
pH = 7,2			

Глюкозо-аспарагиновый агар [Krainsky, 1914]

глюкоза	10,0 г	агар	20,0 г
аспарагин	0,5 г	дистиллированная вода	1 л
K ₂ HPO ₄	0,5 г	pH = 6,8—7,0	

Сахарозо-нитратный агар, или агар Чапека [Waksman, 1961]

сахароза	30,0 г	FeSO ₄	0,01 г
NaNO ₃	2,0 г	агар	20,0 г
K ₂ HPO ₄	1,0 г	дистиллированная вода	1 л
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,5 г	pH = 7,0—7,3	
KCl	0,5 г		

Глюкозо-нитратный агар СР-I [по Красильникову, 1950, с. 32]

глюкоза	20,0 г	CaCO ₃	0,5 г
K ₂ HPO ₄	0,5 г	FeSO ₄	0,001 г
KNO ₃	1,0 г	агар	20,0 г
NaCl	0,2 г	водопроводная вода	1 л
MgCO ₃	0,3 г	pH = 7,2—7,4	

Органический агар 2 [Гаузе и др., 1957б, с. 22]

бульон Хоттингера	30 мл	агар	30,0 г
пептон	5,0 г	вода водопроводная	1 л
NaCl	5,0 г	pH = 7,0—7,2	
глюкоза	10 г		

Органический агар 79 [Prauser et Falta, 1968]

глюкоза	10,0 г	NaCl	6,0 г
пептон	10,0 г	агар	20,0 г
гидролизат казеина	2,0 г	вода водопроводная	1 л
дрожжевой экстракт	2,0 мл	pH = 7,0	

Пептонно-дрожжевой агар с железом (Оригинальная модификация среды ISP-6, см. Shirling et Gottlieb, 1966)

пептон	10,0 г	агар	25—30 г
дрожжевой экстракт	1,0 г	дистиллированная вода	1 л
цитрат железа	0,5 г	pH = 7,0—7,2	

Культуральные признаки имеющихся в нашем распоряжении гиповых штаммов были изучены на всех указанных питательных средах.

Оказалось, что диагностические признаки культур лучше всего выражены при росте на минеральном агаре 1, овсяном агаре, глицерин-нитратном агаре, органическом агаре 2 и агаре 79. Поскольку проявление признаков при росте штаммов на органическом агаре 2 и агаре 79 в большинстве случаев совпадало, в описаниях видов указаны признаки на органическом агаре 2. Таким образом, как правило, в стандартных описаниях видов приведены признаки штаммов на минеральном агаре 1, глицерин-нитратном агаре, овсяном агаре и органическом агаре 2, в отдельных случаях приведены признаки на некоторых других средах.

В описаниях некоторых видов *Streptovorticillium* и *Chainia*, приводимых по литературным данным, указаны следующие среды:

Агар Эмерсона [Waksman, 1961]

глюкоза	10,0 г	NaCl	2,5 г
дрожжевой экстракт	10,0 г	агар	20—25 г
мясной экстракт	4,0 г	дистиллированная вода	1 л
пептон	4,0 г	pH = 7,2 - 7,4	

Глюкозо-нитратный агар (соответствует сахарозо-нитратному агару Чапека, где сахароза заменена глюкозой)

Крахмальный агар [Waksman, 1961]

растворимый крахмал	10,0 г	MgCO ₃	1,0 г
NaNO ₃	1,0 г	агар	20—25 г
K ₂ HPO ₄	0,3 г	дистиллированная вода	1 л
NaCl	0,5 г	pH = 7,0—7,4	

Агар с дрожжевым и солодовым экстрактом [Waksman, 1961]

глюкоза	4,0 г	агар	20—25 г
дрожжевой экстракт	4,0 г	дистиллированная вода	1 л
солодовый экстракт	10,0 г	pH = 7,1—7,3	

В соответствии с правилами, рекомендованными для восстановления названий, в описании таксона должны быть указаны признаки, позволяющие заключить, что предлагаемое название таксона заслуживает восстановления, т. е., другими словами, таксон нужно сравнить с близкими действительно опубликованными таксонами и доказать его обособленность. Описания видов, названия которых мы считаем целесообразным восстановить, содержат, кроме описаний признаков, на стандартных средах еще и описания признаков при росте на питательных средах, принятых для изучения стрептомицетов в рамках Международного Эксперимента (ISP 3, ISP 4, ISP 5, ISP 6, ISP 9) [Shirling, Gottlieb, 1966]:

Солевой раствор А

(используется для добавки к питательным средам ISP 3, ISP 4, ISP 5,
можно не добавлять, если пользоваться водопроводной водой)

FeSO ₄	0,1 г	ZnSO ₄	0,1 г
MnCl ₂	0,1 г	дистиллированная вода	100 мл

Овсяный агар ISP 3

овсяная мука	20 г	дистиллированная вода	1 л
солевой раствор А	1,0 мл	pH = 7,2	
агар	20,0 г		

Крахмально-аммиачный агар ISP 4

растворимый крахмал	10,0 г	CaCO ₃	2,0 г
K ₂ HPO ₄	1,0 г	солевой раствор А	1,0 мл
MgSO ₄	1,0 г	агар	20—25 г
NaCl	1,0 г	дистиллированная вода	1 л
(NH ₄) ₂ SO ₄	2,0 г	pH = 7,0—7,4	

Глицерин-аспарагиновый агар ISP 5

аспарагин	1,0 г	агар	20—25 г
глицерин	10,0 г	дистиллированная вода . . .	1 л
K ₂ HPO ₄	1,0 г	pH = 7,0—7,4	
солевой раствор А	1,0 мл		

Пептонно-дрожжевой агар с железом ISP 6 *

Бакто-пептонный агар с железом		дистиллированная вода . . .	100 мл
Дифко	36,0 г	pH = 7,0—7,2	
дрожжевой экстракт	1,0 г		

* Среда используется для определения способности к образованию меланоидных пигментов. Для этой цели мы применяли более простую модификацию — пептонно-дрожжевой агар с железом (см. выше).

Среда ISP 9 (среда Придгема и Готтлиба) (для определения использования источников углерода)

А. Раствор со следами солей

CuSO ₄	0,64 г	ZnSO ₄	0,15 г
FeSO ₄	0,11 г	дистиллированная вода . . .	100 мл
MgCl	0,79 г		

Б. Основная среда

(NH ₄) ₂ SO ₄	2,64 г	солевой раствор	1,0 мл
KN ₂ PO ₄	2,38 г	источник углерода	10,0 г
K ₂ HPO ₄	5,65 г	промытый агар	20—25 г
MgSO ₄	1,0 г	дистиллированная вода . . .	1 л
		pH = 6,8—7,0	

В. Источники углерода

глюкоза (положительный контроль)	фруктоза
арабиноза	рамноза
сахароза	раффиноза
ксилоза	целлюлоза (или полоски фильтро-
маннит	вальной бумаги, опущенные в жидкую
	основную среду Придгема и Готтлиба)

Определение признаков.

На основании проведенных нами ранее исследований по выяснению диагностической ценности различных признаков для определения видов актиномицетов были отобраны следующие диагностические признаки:

А. *Морфологические*: 1) форма цепочек спор; 2) характер поверхности оболочки спор.

Б. *Культуральные*: 1) окраска воздушного мицелия; 2) окраска субстратного мицелия; 3) наличие растворимых пигментов; 4) наличие меланоидных пигментов.

Физиологические признаки по данным М. А. Свешниковой и соавт. (1960) не имеют диагностической ценности. В стандартных описаниях видов мы не приводим спектр использования источников углерода, поскольку этот признак, по нашему мнению, относится к дополнительным признакам и не служит разграничению видов. Кроме того, отношение к источникам углерода нередко меняется в процессе хранения культур.

А. Морфологические признаки.

Для изучения морфологического строения репродуктивных структур культуры актиномицетов выращивают на средах, наиболее благоприятных для спороношения, обычно на минеральном агаре I или овсяном агаре, в чашках Петри или на скошенном агаре в пробирках. Тип цепочек и характер поверхности спор определяют у зрелых культур обычно на 7—14-й день роста, а при необходимости и в более поздние сроки. Кусочек агара с мицелием помещают на предметное стекло, срезав бритвой предварительно весь лишний агар, и просматривают в световом микроскопе.

1. Цепочки спор. При определении типа спороношения мы пользовались терминологией, предложенной Придгемом и соавт. [Pridham et al., 1958]: RF — для прямых и извитых цепочек, RA — для цепочек с недоразвитыми и примитивными спиралями; S — для цепочек с хорошо сформированными спиралями. Поскольку типы спороношения, указанные выше, носят общий характер, мы выделили в пределах каждого типа некоторые варианты.

RF — цепочки спор прямые или извитые;

- а) короткие, расположены вдоль гифы или в пучках (рис. 1, а),
- б) длинные, часто разветвленные (рис. 1, б).

RA — цепочки спор в форме крючков, петель и неправильных спиралей:

- а) короткие, спирали от $1/2$ до 2 оборотов (рис. 1, в);
- б) длинные, со спиралями от 1 до 3 и более оборотов (рис. 1, г).

S — цепочки спор спиральные:

- а) с хорошо развитыми, правильными растянутыми спиралями от 2 до 10 оборотов (рис. 1, д);
- б) со сжатыми, плотными спиралями (рис. 1, е).

Между этими типами нет резких границ, чаще всего у одной культуры можно наблюдать несколько типов вместе, например RF и RA или RA и S.

Если культура образует преимущественно прямые цепочки спор и изредка спиральные, она рассматривается как культура со спиральными цепочками спор.

Виды рода *Streptoverticillium* имеют мутовчато расположенные цепочки спор, сами цепочки могут быть прямыми — RF (рис. 1, ж) или в виде крючков, петель, спиралей с 1 $1/2$ оборотами — RA (рис. 1, з).

Виды рода *Chainia* по строению цепочек спор не отличаются от видов *Streptomyces*, но имеют плодовые тела — склероции. Склероции чаще всего бывают шаровидной формы от 50 до 450 мкм в диаметре, они хорошо видны при увеличении микроскопа 150—200.

2. Поверхность оболочки спор. Поверхность спор изучали с помощью электронного микроскопа без фиксации или напыления при увеличении 8000—10 000. Для приготовления образца для просмотра в электронном микроскопе слегка прикасались сеткой с нанесенной на нее коллодиевой или формваровой пленкой к поверхности спороносящего воздушного мицелия.

Существует несколько типов поверхности спор: 1) гладкая (рис. 2, а); 2) бородавчатая (рис. 2, б); 3) шиповатая: шипы короткие (рис. 2, в); средние (рис. 2, г) и длинные (рис. 2, д); 4) волосистая: волоски средние (рис. 2, е), длинные (рис. 2, ж); 5) выросты промежуточные между шипами и волосками (рис. 2, з).

Шипы имеют не только различную длину, но и различные внешние очертания: игловидные, зубцевидные, с широким или узким основанием. Иногда небольшие шипы не являются истинными, а образуются в результате незначительного сморщивания оболочки споры.

Волоски бывают средних размеров, не превышающих длину споры, или длинные, в несколько раз превышающие длину споры, они могут быть крепкими или хрупкими, ломкими (рис. 2, е, ж).

Более полная информация о разнообразии различных выростов на поверхности спор приведена в книге «Атлас спор избранных родов и видов Actinomycetaceae» [1970].

Б. Культуральные свойства.

Под культуральными признаками обычно подразумевают цвет воздушного и субстратного мицелия и цвет растворимых пигментов, которые окрашивают среду. Пигменты, продукты вторичного метаболизма, являются важной биохимической характеристикой актиномицетов, позволяющей говорить об известной общности их метаболизма.

Определение цвета проводится на 7, 14, 21-й день роста культур.

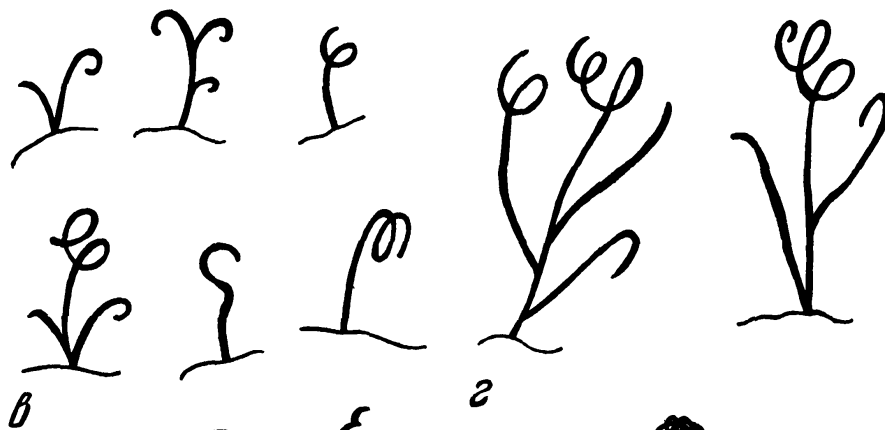
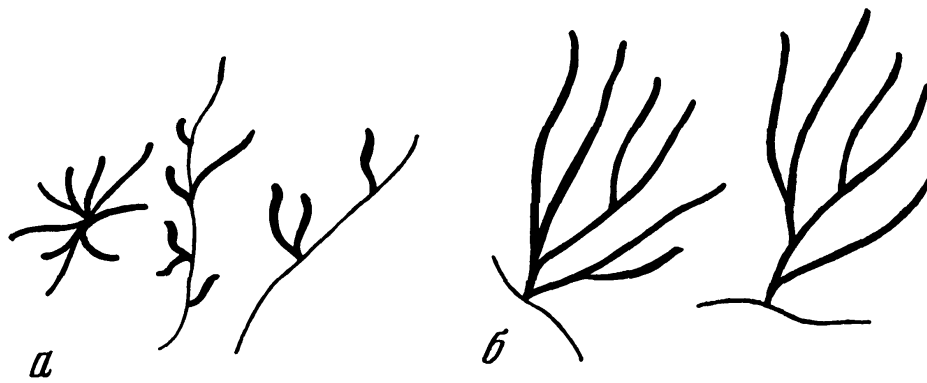
1. Окраска воздушного мицелия. Цвет воздушного мицелия, как правило, определяли на минеральном агаре 1 и овсяном агаре, поскольку эти среды наиболее благоприятны для образования спороносящего воздушного мицелия. У подавляющего большинства изученных культур окраска спороносящего воздушного мицелия на других средах (глюкозоаспарагиновом, сахарозо-нитратном, глюкозо-нитратном агарах) такая же, как на минеральном агаре 1 и овсяном агаре. На органическом агаре 2 и на агаре 79 у многих культур воздушный мицелий не развивается вовсе, или образуется белый стерильный воздушный мицелий. В связи с этим окраска воздушного мицелия на органических средах обычно не имеет существенного диагностического значения.

Определение цвета воздушного мицелия проводится при дневном освещении, в ясный день (не на прямом солнечном свете).

Для культур секции *Azigeus* необходимо определять цвет воздушного мицелия в течение первых десяти дней роста, так как позднее он часто теряет яркость окраски. Прежде всего необходимо определить основной цвет воздушного мицелия: голубой, серый, розовый, желтый, коричневый или белый. Если обозначение цвета состоит из 2—3 оттенков, то основной оттенок помещается в конце названия,

Рис. 1. Цепочки спор

а — прямые, короткие, расположены вдоль гифы или в пучках; б — прямые, длинные, разветвленные; в — короткие, в виде крючков, петель или коротких неправильных спиралей; г — длинные, в виде крючков, петель или неправильных спиралей; д — в виде правильных спиралей; е — с плотными сжатыми спиральями (типа псевдоспорангиев); ж — в мутовках, прямые; з — в мутовках, имеют крючки, петли, спирали в 1—1.5 оборота



HL

например, «желто-розовый», означает, что культура имеет розовый воздушный мицелий с желтоватым оттенком. Если цвет воздушного мицелия изменяется в процессе роста, но не старения культуры, например, от белого до розового и затем до серого, то последняя окраска является основной при определении цвета.

Иногда истинный цвет воздушного мицелия маскируется пигментами, образуемыми субстратным мицелием. В этом случае цвет воздушного мицелия нужно определить на среде, не благоприятной для образования этих пигментов. Для этой цели полезно вырастить культуру на кусочке целлофана, помещенном на поверхность агаровой среды в чашке Петри. Метод особенно полезен для культур с темно-бурым или темно-коричневым воздушным мицелием. Когда определению истинного цвета воздушного мицелия мешают индикаторные пигменты, может оказаться полезным следующий метод: вырезанную из агаровой среды колонию актиномицета помещают в чашки Петри на поверхность воды с $\text{pH} < 7$ и $\text{pH} > 7$; так как при этом цвет субстратного мицелия изменяется, то легко определить цвет воздушного мицелия.

2. Окраска субстратного мицелия. Цвет субстратного мицелия (определяют по цвету обратной стороны колонии) обусловлен образованием различных пигментов — желтых, оранжевых, зеленых, красных, розовых, голубых, фиолетовых, бурых или черных. Иногда цвет субстратного мицелия изменяется в процессе роста культур вследствие образования нескольких пигментов, например, желтый — на 7-й день роста, желто-бурый — на 15-й день и позднее бурый. В таком случае последний цвет будет основным. Необходимо отметить, что совершенно бесцветные культуры встречаются редко, чаще всего субстратный мицелий имеет кремоватый, слабо желтоватый, сероватый или буроватый оттенок. Такой мицелий рассматривается как бесцветный, так как диагностическую ценность представляет только хорошо выраженная окраска.

К сожалению, в процессе длительного культивирования и хранения культуры иногда теряют способность к образованию пигментов (особенно культуры с желтым субстратным мицелием). Для восстановления пигментации такие культуры полезно вырастить на жидкой питательной среде или применить методы селекции.

3. Растворимые пигменты. Все сказанное выше об определении окраски субстратного мицелия относится также и к определению цвета растворимых, т. е. окрашивающих среду, пигментов.

4. Меланоидные пигменты. Образование меланоидных пигментов определяли на пептоно-дрожжевом агаре, содержащем железо, на 2—4-е сутки роста. Если при этом образовывался темно-зелено-бурый, бурый или черный растворимый пигмент, то считалось, что культура образует меланоидные пигменты.

Дополнительной характеристикой описываемых культур является образование антибиотиков, продуктов вторичного метаболизма. Сведения об антибиотиках представляют интерес для специалистов, работающих в области изыскания и изучения биологически активных веществ из актиномицетов. В тексте не приведены ссылки на литера-