УДК 575.13:579.873.7632.15.122.1/2:579.23/222

В.В. Лук'янчук, Л.В. Поліщук, Б.П. Мацелюх

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП, Д03680, Україна

ПЛАЗМІДИ СТРЕПТОМІЦЕТІВ, ІЗОЛЬОВАНИХ З ГРУНТІВ УКРАЇНИ З РІЗНИМ АНТРОПОГЕННИМ НАВАНТАЖЕННЯМ

В результаті дослідження 94 штамів стрептоміцетів, що виділені зі зразків ґрунтів України з різним антропогенним забрудненням, виявлено 17 штамів, що містять плазмідні ДНК. Встановлено, що ряд штамів містять більш ніж 1 плазміду (Streptomyces sp. M15, S.sp.T8, S.sp.T19). За молекулярним розміром плазміди розподіляються на 2 групи: 3 тпн–15 тпн та 30 тпн–70 тпн. Проведено дослідження ряду морфологічних та фізіологічних властивостей плазмідних штамів стрептоміцетів.

Ключові слова: стрептоміцет, плазмідна ДНК, антропогенне забруднення, властивості штаму.

Плазміди – це необов'язкові носії позахромосомної спадковості мікроорганізмів (в тому числі і стрептоміцетів). Як відомо, плазміди стрептоміцетів містять послідовності, що необхідні для забезпечення власного існування та поширення в популяції: мініреплікон; гени, які необхідні для внутрішньоміцеліального розповсюдження та міжклітинного перенесення плазмідної ДНК, інтеграції останньої в хромосому і ряд інших [10, 11]. Встановлено, що плазміди можуть детермінувати і ознаки, корисні для клітини-господаря: наприклад забезпечувати їй додаткові адаптивні можливості в несприйнятливих умовах навколишнього середовища [7, 8, 14–16]. Завдяки детермінованому плазмідою перенесенню, як плазмідних, так і хромосомних генів між бактеріями, має місце формування біорізноманіття [11].

Дана робота здійснена з метою: 1) визначення плазмідного статусу 94 штамів стрептоміцетів, що виділені зі зразків ґрунтів України з різним антропогенним забрудненням;

2) дослідження ряду морфологічних і фізіолого-біохімічних ознак виявлених 17 штамів стрептоміцетів, які містять позахромосомну ДНК.

Матеріали і методи. В роботі було використано 94 штами стрептоміцетів з колекції відділу генетики мікроорганізмів НАНУ, виділених у різні роки зі зразків ґрунтів України з різним антропогенним забрудненням (табл. 1) Родова належність мікроорганізмів визначена за допомогою рекомендацій ряду керівництв [4].

При виконанні роботи використовували агаризовані соєве середовище та середовище Хопвуда, рідкий та агаризований варіанти середовища S [4, 6].

Плазмідні ДНК із дводобового міцелію стрептоміцетів отримували методом, який запропонував Кізер [6]. Рестрикційний аналіз плазмідних ДНК проводили за методикою, що пред-

© В.В. Лук'янчук, Л.В. Поліщук, Б.П. Мацелюх, 2010

ставлена в керівництві [6]. Електрофорез плазмід та рестриктів проводили в 0,8 % агарозі в ТБЕ буфері. Як стандарт молекулярних розмірів фрагментів плазмідних ДНК використовували HindIII-фрагменти ДНК фагу λ. В роботі використовували ДНК фагу λ, рестриктази і стандартні буфери для рестрикції фірми «Ферментас» (Литва).

Чутливість культур стрептоміцетів до антибіотиків досліджували методом накладання стандартних паперових дисків з антибіотиками [1]. В дослідженнях використовуються диски із антибіотиками таких груп: аміноглікозиди (канаміцин, мономіцин, неоміцин, стрептоміцин), макроліди (олеандоміцин, еритроміцин), β-лактами (ампіцилін, бензилпеніцилін, карбецилін, метицилін, оксацилін) та представники деяких інших груп (рифампіцин, тетрациклін, левоміцетин, полімиксин) фірма «НИЦФ», Росія.

Таблиця 1

Походження досліджуваних штамів стрептоміцетів

Штами стрептоміцетів	**Час та місце відбору зразків ґрунту**	**Антропогенне навантаження**
Л-група		
"Тулігер" *S.sp.*Л25, *S.sp.*Л55, "Транстар" *S.sp.*Л27, *S.sp.*Л41, *S.sp.*Л42	Липень* 1995 р., сільськогосподарські угіддя, смт. Глеваха (Київська обл.)	Гербіциди "Транстар" і "Тулігер" (похідні сульфонілсечовини)
М-група		
*S.sp.*М4, *S.sp.*М5, *S.sp.*М25, *S.sp.*М28	Червень 2002 р., ділянка покладів міді х. Картамиш (Луганська обл.)	Сульфат міді (вміст міді у ґрунті 1572 мг/кг**)
Т-група		
*S.sp.*Т1, *S.sp.*Т2, *S.sp.*Т4, *S.sp.*Т8, *S.sp.*Т19, *S.sp.*Т23, *S.sp.*Т25, *S.sp.*Т29	Серпень 2002 р., територія ІМВ НАНУ, м. Київ (Київська обл.)	Дослідна ділянка відділу мікробіологічних процесів на твердих поверхнях ІМВ НАНУ.

Примітки: * - Зразки ґрунту відбирали через місяць після застосування гербіцидів (0,02 кг/гектар);
** - Визначення вмісту міді проведено н.с. Кадошніковим Н.С. та с.н.с. Злобенком Б.П. (Інститут геохімії навколишнього середовища НАН і МНС України).

Тіострептон (фірми "Sigma", США) додавали в середовище S до концентрації 50 мкг/мл.

Здатність штамів стрептоміцетів синтезувати речовини з антибіотичними властивостями досліджували методом накладання агарових блоків, що були вирізані з п'ятидобових газонів культур [1, 4]. У ролі тест-культур було використано представників різних таксономічних груп: *Clavibacter michiganensis 13a, Pseudomonas syringae 8511, Erwinia carotovora 8982, Agrobacterium tumefaciens 8628, Xanthomonas campestris 8003б, S.levoris 165, S.globisporus 1912, Mycobacterium smagmatis NCTS 8150, Bacillus subtilis H24, Staphylococcus aureus, Corynebacterium glutamaticum ATCC14020, Candida albicans, Sacharomyces cerevisie.*

При дослідженні стійкості до важких металів використовували середовище Чапека, в яке додавали розчини сульфатів міді, кобальту, марганцю та цинку. Так, розчин $CuSO_4$ додавали до концентрацій 0,1, 0,5, 1,0 та 2,0 мМ; розчини $ZnSO_4$, $CoSO_4$ та $MnS0_4$ додавали до концентрацій 0,1, 0,25, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0 та 10,0 мМ. Для дослідження резистентності стрептоміцетів до важких металів здійснювали нанесення на поверхню твердого середовища аліквот відмитого п'ятиденного міцелію. Культуру вважали стійкою до тієї концентрації солі, що було внесено в середовище, на якому був наявний її ріст, та чутливою – при відсутності росту.

Дослідження ендонуклеазної активності штамів стрептоміцетів проводили за модифікованою методикою Бєлавіна [12]. У ролі субстратів використовували ДНК фагів лямбда та Т7.

Результати та їх обговорення. 94 штами стрептоміцетів, що були виділені зі зразків

ґрунтів України з різним антропогенним забрудненням були досліджені на наявність позахромосомної ДНК і було виявлено 17 штамів, які містили плазміди (табл. 2). Таким чином, плазмідні ДНК містилися у 18,1 % штамів із дослідженої групи спонтанно відібраних культур стрептоміцетів.

Таблиця 2

Виявлені плазмідні штами стрептоміцетів та попередньо визначені кількість і молекулярний розмір їх плазмід

Групи штамів	Штами стрептоміцетів, які містять плазмідні ДНК	Кількість та молекулярний розмір плазмід, тпн
Л-група	*S.sp.*Л25	1 (11)
	*S.sp.*Л27	1 (35)
	*S.sp.*Л41	1 (65)
	*S.sp.*Л42	1 (14)
	*S.sp.*Л55	1 (35)
М-група	*S.sp.*М4	1 (11)
	*S.sp.*М5	2 (8; 14)
	*S.sp.*М25	1 (14)
	*S.sp.*М28	1 (8)
Т-група	*S.sp.*Т1	1 (14)
	*S.sp.*Т2	1 (14)
	*S.sp.*Т4	1 (35)
	*S.sp.*Т8	2 (3,75; 7,5)*
	*S.sp.*Т19	кілька
	*S.sp.*Т23	1 (14)
	*S.sp.*Т25	1 (14)
	*S.sp.*Т29	1 (35)

Примітки: * - точний молекулярний розмір плазмід визначено за даними рестрикційного аналізу

За даними ряду авторів плазмідна ДНК існує більш, ніж у 25 % досліджуваних штамів стрептоміцетів [8], але окремі дослідження продемонстрували наявність плазмід тільки у 7% культур [9]. Встановлено, що поширеність плазмідних ДНК в популяції ґрунтових мікроорганізмів залежить від місця відбору зразку ґрунту, екологічного стану ґрунту – його забрудненості, використання в сільському господарстві та інше [8, 9].

Наші дослідження виявили різну поширеність плазмідних ДНК в різних групах: так до Л-групи належало 5 штамів, які мали плазміди, до М-групи належало 4 плазмідні штами, а до Т- групи – 8 плазмідних штами (табл. 2). Таким чином серед штамів, що були виділені з ґрунтів з різною антропогенною контамінацією, спостерігалося різна поширеність плазмідних ДНК: 10 %, 16 % та 42 %. Найбільша кількість штамів (42 %), що містить плазміди було виявлено серед штамів ізольованих з ґрунту дослідної ділянки ІМВ НАНУ, в той час як найменше плазмідних штамів (10 %) було виявлено серед штамів виділених з ґрунтів, забруднених гербіцидами. Цікаво, що наші попередні дослідження 32 штамів стрептоміцетів, ізольованих з цих же зразків ґрунтів виявили плазмідні ДНК 17 % культур. Ми вважаємо така відмінність результатів може бути пов‘язана з втратою автономних форм плазмідних ДНК під час зберігання.

За даними літератури, молекулярні розміри плазмід стрептоміцетів можуть становити від кількох тпн (pSLG33, 2,6 тпн) до кількох сотень тпн (pKSL, 520,0 тпн), однак, за даними літератури більшість досліджених плазмід мають молекулярний розмір до 40 тпн [2, 6, 7]. Молекулярні розміри виявлених нами плазмідних ДНК становили від 3 тпн до 70 тпн. За молекулярним розміром плазміди розподіляються на 2 групи: 3 тпн-15 тпн та 30 тпн – 70 тпн (рис. 1, рис. 2). Найбільшу за молекулярним розміром плазміду (65 тпн) містив штам *S.sp.*Л41. Чотири штами (*S.sp.*Л55, *S.sp.*Л27, *S.sp.*Т4, *S.sp.*Т29) містили плазміди з молекулярним розміром 35 тпн; плазміди з молекулярним розміром 11 тпн було виявлено у 2 штамів (*S.sp.*Л25 та *S.sp.* М4); штам *S.sp.*М28 містив плазміду з розміром молекули 8 тпн; плазміду з молекуляр-

ним розміром 14 тпн було виявлено у 7 штамів (*S.sp.*Л42, *S.sp.*Т1, *S.sp.*Т2, *S.sp.*Т23, *S.sp.*Т25, *S.sp.*М5 та *S.sp.*М25) та штам *S.sp.T*8 містив плазміду розміром 3,75 тпн. Однак, два штами (*S.sp.*Т8 та *S.sp.*М5) містили ще додатково по плазміді з молекулярним розміром 8 тпн (рис. 3). Таким чином, більшість (38,8 %) виявлених нами плазмід мали молекулярні розміри 14 тпн.

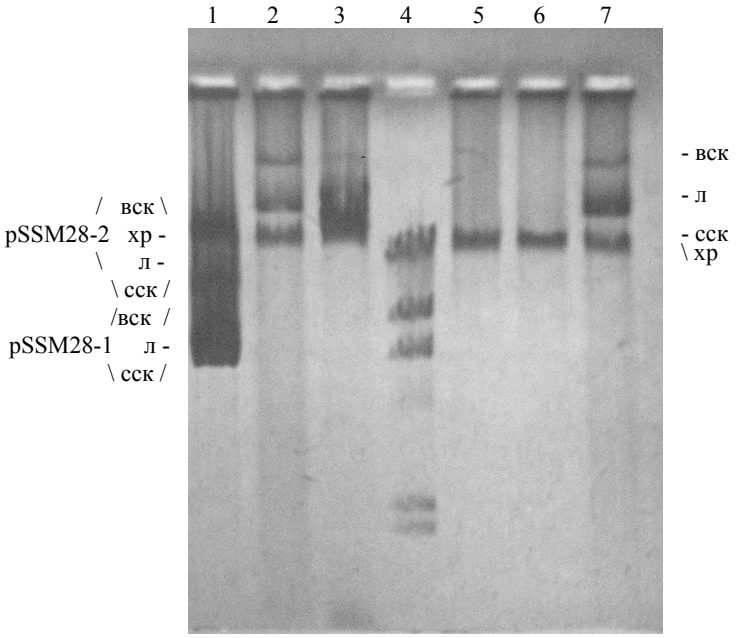

Рис. 1. Електрофоретичне розподілення плазмід штамів стрептміцетів *S.sp.*М28 (1), *S.sp.*Л55 (2), *S.sp.*Т4 (3), λ + HindIII (4), *S.sp.*М1 (5), *S.sp.*М21 (6), *S.sp.*Т29 (7).

Позначення: вск – відкрита скручена кільцева, л – лінійна, сск – суперскручена кільцева форми плазміди.

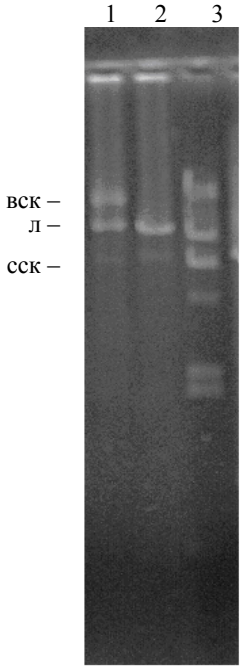

Рис. 2. Електрофоретичне розподілення плазмідної ДНК штаму *S.sp.*М4 pSSM4 (1) та HindIII-фрагментів плазміди pSSM4 (2) та фагу λ (3).

Позначення: вск – відкрита скручена кільцева, л – лінійна, сск – суперскручена кільцева форми плазміди.

Досить часто в клітині стрептоміцету можуть співіснувати по декілька плазмід, наприклад штам *S. erythreus* NRRV 2338 містить 6 плазмід різної спорідненості [2]. Нами виявлено три штами стрептоміцетів, які містили більше однієї плазміди. Так, по дві плазміди було виявлено у штамів *S.sp.*Т8 та *S.sp*.М5 та штам *S.sp.*Т19 містив більш ніж 3 плазміди. Таким чином, багатоплазмідні штами складали 17,5 % від усіх плазмідних штамів та 3,1 % від усіх досліджених штамів.

Необхідно зазначити, що плазміди з молекулярним розміром 35–65 тпн були виявлені у штамів, що належали до Л та Т груп. Так в Л-групі штами, що містили плазміди з таким молекулярним розміром становили 60 % культур. До цієї ж групи належить і штам, що містить найбільшу за молекулярним розміром зі знайдених плазмід (65 тпн). Цікаво, що всі штами з цієї групи містять тільки одну плазміду. Жоден штам з цієї групи не містив плазмід з молекулярним розміром 4 тпн чи 8 тпн. Також необхідно відмітити, що штами з М-групи не містять плазміди з молекулярним розміром, більшим 15 тпн.

При подальших дослідженнях за допомогою рестрикційного аналізу було встановлено, що молекулярні розміри плазмід штама *S. sp. T8* становлять 3,75 тпн (pSST8-1) та 7,5 тпн (pSST8-2). Обидві плазміди штаму Т8 не мають сайтів рестрикції для рестриктаз HindIII та XbaI, містять по одному сайту для BamHI та EcoRI. Крім того плазміда pSST8-2, на відміну від меншої плазміди pSST8-1, має сайт рестрикції для ендонуклеази PstI [3] (рис. 3).

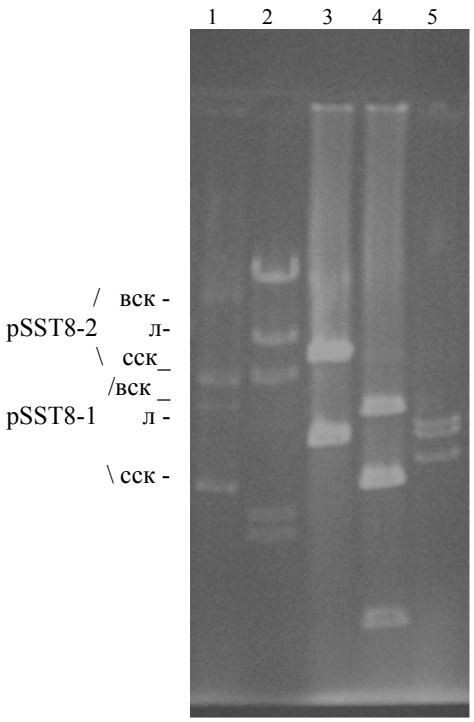

Рис. 3. Електрофореграма рестриктів плазмід штама Streptomyces sp.T8 (pSST8-1 та pSST8-2) : нативні pSST8-1 та pSST8-2 (1), λ + HindIII (2), BamHI (3), BamHI + EcoRI (4), BamHI + Pst1 (5).

Позначення: вск – відкрита скручена кільцева, л – лінійна, сск – суперскручена кільцева форми плазміди.

Як відомо, плазміди стрептоміцетів, крім забезпечення власної реплікації, горизонтального та вертикального розповсюдження самої плазмідної ДНК в популяції, детермінують і ряд властивостей, що корисні для клітини-господаря: міжклітинний перенос хромосомної ДНК клітини-господаря, синтез амінокислот, вітамінів, ферментів, антибіотиків, білків оболонки спор. Встановлено, що гени локалізовані на плазмідах стрептоміцетів забезпечують переваги в несприйнятливих умовах – завдяки детермінації стійкості до антибіотиків, до сполук важких металів [7, 8, 14–16].

Дослідження ряду морфологічних, фізіологічних та біохімічних властивостей досліджуваних штамів стрептоміцетів виявили, що штами в своїй більшості (82,3 %) продукують метаболіти, які пригнічують ріст та розвиток одного чи більше тестерних штамів використаних прокаріотичних мікроорганізмів. Жоден штам досліджуваних стрептоміцетів не пригнічував росту дріжджів та кишкової палички. Штами *S.sp.*Т2 та *S.sp.*Т4 продукували метаболіти, що були активними проти більшості (8 штамів) використаних тест-культур. За даними літератури, достовірно доведеним є тільки плазмідна локалізація *mmy-mmf*-кластеру генів, необхідних для синтезу антибіотику метиленоміцину А, на плазмідах SCP1, pSV1 та ряду інших [7]. Молекулярний розмір найменшої з них (pSV1) становить 165,0 тпн, а молекулярний розмір *mmy-mmf* -кластеру – 22,0 тпн [7].

Більшість досліджених штамів (13 штамів) гідролізували ДНК фагу лямбда, однак сайт специфічна активність була виявлена тільки у 2 культур *S.sp.*Л25 та *S.sp.*Л42. Нами раніше вже опубліковано, що в результаті дослідження сайт специфічної активності 32 штамів із групи Л було виявлено 7 штамів, які продукують ізошизомери ендонуклеази II типу AsuII [12]. Аналогічна активність виявлена і у штаму *S.sp.*Л42. За даними літератури, плазміди стрептоміцетів детермінують ензими з різною ферментативною активністю, наприклад, плазміди PSB1 (640,0 тпн) та pBL2.2 (12,5 тпн) детермінують ендонуклеазу II типу SbgI, плазміда pSLA2-L – полікетидсинтазу II типу, плазміда *S.cattlea* (4,2 тпн) – аргінінсукциназу [13, 16].

Встановлено, що гени резистентності стрептоміцетів до металів можуть бути локалізовані на плазмідах [15]. Так плазміди pRJ3L (322,0 тпн) та pRJ28 (330,1 тпн) детермінують стійкість до ртуті штамів *S.sp.*CHR3 і *S.sp.*CHR28 відповідно; плазміда pHZ227 (130,0 тпн) штаму Streptomyces sp. FR-008 містить кластер з 7 генів, що забезпечує резистентність до миш'яку [15]. Кластер з 5 генів плазміди pRJ3L, який детермінує стійкість до ртуті має молекулярний розмів 5,9 тпн. Серед 17 досліджених нами штамів стрептоміцетів виявлено 8 культур (47 %), які були резистентними до солей важких металів. З них два штами (*S.sp.*Т8 та *S.sp.*М25) були полірезистентними. В той час, як штам S.*sp.*М25 був стійким до 4 металів у максимальних застосованих концентраціях, штам *S.sp.*Т8 був стійким тільки до максимальних концентрацій 3 металів. Стійкими до максимальних (10,0 мМ) концентрацій солі одного металу є штами *S.sp.*Л25, *S.sp.*Т4, *S.sp.*Т19, *S.sp.*М4, *S.sp.*М23 та *S.sp.*М28.

Серед 17 плазмідних штамів виявлено 3 неспорулюючі штами (*S.sp.*Т1*, S.sp.*М5, *S.sp.* М25), які не мали характерного для спорулюючих культур стрептоміцетів оксамитової поверхні колоній (так звані bald-colony). Однією з головних морфологічних характеристик стрептоміцетів є утворення повітряного міцелію та споруляція. Проведення дослідження цих характеристик необхідно в зв'язку з тим, що з одного боку, утворення поверхневих білків спор стрептоміцетами, як встановлено, у деяких штамів детермінується плазмідами (наприклад, SCP1, SCP2 і SLP2) [2], а з другого – виявлено, що спороутворення та пігментація як поверхневого, так і субстратного міцелію корелює з синтезом біологічно активних речовин, зокрема антибіотиків [1, 5]. Як встановлено, 53 % штамів продукують пігменти різних відтінків та інтенсивності. Більшість з них (66,6 %) забарвлюють середовище в коричневий колір. Також виявлено і синтез пігменту, який забарвлює середовище у фіолетовий колір (33,3 %).

Як відомо, стійкість до антибіотиків є однією з найбільш досліджених властивостей мікроорганізмів, які можуть детермінуватися плазмідами. Так встановлено, що плазміди здебільшого детермінують ферменти, які модифікують антибіотики: наприклад, плазміда pNO33 (*S.albus* IFO14147) кодує β-лактамазу, яка забезпечує клітині господарю стійкість до ампіциліну [14]. Однак, штам *S. thermoluteus* Т422 отримує стійкість до стрептоміцину-лінкоміцину-спіраміцину завдяки тому, що плазміда pST4 детермінує РНК-метилазу, яка модифікує РНК рибосоми. За даними літератури, навіть плазміди з молекулярним розміром меншим 10,0 тпн можуть кодувати стійкість до антибіотиків: так плазміда pGIF3 *S. incarnatus*, що детермінує стійкість до тіострептону має молекулярний розмір 8,7 тпн. Молекулярний розмір tsr^r-гену плазміди pGIF3 становить 1,14 тпн [9].

Перевірені культури стрептоміцетів виявилися найбільш стійкими до β-лактамних антибіотиків: більшість штамів (88,2 %) виявилися стійкість всіх 5 використаних антибіотиків.

Більшість (82,4 %) досліджених стрептоміцетів виявилися стійкими до обох макролідних. Дослідження культур стрептоміцетів на стійкість до аміноглікозидних антибіотиків виявили, що більшість з них чутливі до цих речовин: наприклад, до антибіотиків неоміцину, мономіцину та канаміцину були чутливими 16 з 17 культур стрептоміцетів. Найбільш резистентними виявилися штами *S.sp.*M27 та *S.sp.*T8: вони були стійкі до всіх п‘яти β-лактамних антибіотиків, левоміцетіна, тетрацикліна та інших.

Встановлено детермінацію резистентності до тіостептону стрептоміцетною плазмідою pGIF3 з молекулярним розміром 8,7 тпн. Нами були проведені дослідження стійкості 12 штамів стрептоміцетів (Т та М групи) до тіостептону (50 мкг/мл середовища) та встановлено, що тільки половина штамів є чутливими до нього.

У зв‘язку з тим, що, за даними літератури, більшість встановлених властивостей, які детермінуються плазмідами – це стійкість до антибіотиків та невеликим розмірам генів резистентності, ми вважаємо, що найбільш можливою є детермінація виявленими нами плазмідами стійкості до антибіотиків, наприклад, β-лактамних чи тіостептону, однак така наша гіпотеза потребує підтвердження.

Таким чином, дослідження 94 штамів стрептоміцетів, які були виділені зі зразків ґрунтів України з різним антропогенним навантаженням, виявлено плазмідних 17 штамів. Встановлено, що 3 штами (*S.sp.*M15, *S.sp.*T8, *S.sp.*T19) містять 2 чи більше плазмід. Найбільша кількість штамів (42 %), що містить плазміди, було виявлено серед штамів ізольованих з ґрунту дослідної ділянки ІМВ НАНУ, в той час як найменше плазмідних штамів (10 %) було виявлено серед штамів виділених з ґрунтів, забруднених гербіцидами. За молекулярним розміром виявлені плазміди розподіляються на 2 групи: 3 тпн-15 тпн та 30 тпн – 70 тпн. Найбільша кількість штамів (42 %), що містить плазміди було виявлено серед штамів ізольованих з ґрунту дослідної ділянки ІМВ НАНУ, в той час як найменше плазмідних штамів (10 %) було виявлено серед штамів виділених з ґрунтів, забруднених гербіцидами.

Проведено дослідження ряду морфологічних та фізіологічних характеристик/властивостей 17 плазмідних штамів стрептоміцетів та встановлена наявність у них ознак, які можуть, за даними літератури, детермінуватися плазмідними генами: наприклад стійкість до антибіотиків та важких металів, синтез антибіотиків та ферментів.

Лукьянчук В.В., Полищук Л.В, Мацелюх Б.П.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев

ПЛАЗМИДЫ СТРЕПТОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВ УКРАИНЫ С РАЗЛИЧНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКОЙ

Резюме

В результате исследования 94 штаммов стрептомицетов, выделенных из образцов почв Украины с различным антропогенным загрязнением обнаружено 17 штаммов, содержащих плазмидные ДНК. У ряда штаммов установлено наличие более одной плазмиды (*Streptomyces sp.*M15, *S.sp.*T8, *S.sp.*T19). По величине молекулярного размера плазмиды распределяются на 2 группы: 3 тпн-15 тпн и 30 тпн – 70 тпн. Проведены исследования ряда морфологических и физиологических свойств плазмидных штаммов стрептомицетов.

Ключевые слова: стрептомицет, плазмидная ДНК, антропогенное загрязнение, свойства штамма.

V.V.Lukyanchuk., L.V. Polishchuk, B.P. Matselyukh

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

PLASMIDS OF STREPTOMYCETES STRAINS ISOLATED FROM SOILS OF UKRAINE WITH DIFFERENT ANTHROPOGENIC LOADING

Summary

Screening of plasmid DNA was carried out among 94 streptomycetes cultures which were isolated from the samples of Ukrainian soils with different anthropogenic contamination. Seventeen streptomycetes strains

containing plasmid DNA were found. It is established that some cultures contain more than one plasmid (*Streptomyces sp.*M15, *S.sp.*T8, *S.sp.*T19). Depending on a molecular sizes the found plasmids were divided in 2 groups: 3 kb-15kb, and 30 kb-70 kb. Research of a few morphological and physiological properties of plasmid strains of streptomycetes was carried out.

The paper is presented in Ukrainian.

K e y w o r d s : streptomycetes, plasmid DNA, anthropogenic contamination, strain properties.

T h e a u t h o r's a d d r e s s**:** *Polishchuk L.V.,* Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, MSP, D03680, Ukraine.

1. *Егоров Н.С.* Основы учения об антибиотиках // Высшая школа. – Москва, 1986. – 448 с.
2. Інтернет-бази даних GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) та EMBL (www.ebi.ac.uk/embl.html).
3. *Лук'янчук В.В., Поліщук Л.В., Мацелюх Б.П.* Плазміди штаму Streptomyces sp. T8 // Мікробіол. журнал. – 2008. – **70**, № 6. – С. 23–26.
4. Определитель актиномицетов: рода *Streptomyces, Streptoverticillium, Chainia* (ред. Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А., Мишутин Е.Н.). – Москва: Наука, 1983. – 248 с.
5. *Davis N.K., Chater K.F.* Spore color in *Streptomyces coelicolor* A3(2) involves the developmentally regulated synthesis of a compound biosynthetically related to polyketide antibiotics // Mol. Biol. – 1990. – **4,** N10. – P.1679 – 1691.
6. *Kieser, T., Bibb M. J., Chater K. F., Buttner M. J., Hopwood D. A.* Practical *Streptomyces* genetics: a laboratory manual. – Norwich (United Kingdom): John Innes Foundation, 2000. –424 p.
7. *Kinashi H., Shimaji M., Sakai A.* Giant linear plasmids in *Streptomyces* which code for antibiotic biosynthesis genes // Nature. – 1987. – **328**, N6129. – P.454 – 456.
8. *Koraki T.G., Karagouri A.D.* Occurrence and diversity of plasmids in populations of streptomycetes in soil// Anton Van Leeuwenhoek. – 2000. –**78,**N3-4. – P.323 – 329.
9. *Malina H., Roberto-Gero M.* Characterization of an 8.7-kilobase thiostreptone resistance-encoding plasmid (pDIF3) of *Streptomyces incarnates* // Appl. Environ. Microbiol. – 1992. – **58**, N3. – P.895–899.
10. *Ohkuki T., Imanaca T., Aiba. S.* isolation and characterization of pock-forming plasmids for *Streptomyces griseus* from soil acticomycetes//Gene.-1983. – **25**. –P.155 - 159.
11. *Poele E.M., Bolhuis H., Dijkhuizen L.* Actinomycete integrative and conjugative elements // Antonie Van Leeuwenhoek. – 2008. – **94**,N1. – P. 127–143.
12. *Polishchuk L.V., Lukyanchuk V.V., Matselyukh B.P.* Site-specific endonucleases of streptomycetes // Actinomycetes. – 2000, – **10**, N2. - P. 13 - 15.
13. *Suwa M., Sugino H., Sasaoka A. et al.* Identification of two polyketide synthase gene clusters on the linear plasmid pSLA2-L in *Streptomyces roche*i // Gene. – 2000. – **246**, N1-2. – P.123 – 131.
14. *Takagi H., Hoshino Y., Nakamori S., Inouve S.* Isolation and sequence analysis of plasmid pN033 in the epsilon-poly-L-lysine-producing actinomycete *Streptomyces albulus* IFO14147 // J. Biosci. Bioeng. – 2000. –**89**, N1. – P.94 –96.
15. *Wang L., Chen S., Xiao X et al.* arsRBOCT arsenic resistance system encoded by linear plasmid in *Streptomyces* sp. strain FR-008 // Appl. Environ. Microbiol. –2006. – **72**, N5. – P.3738 – 3742.
16. *Zotchev S.B., Shrempf H., Hutchinson C.R.* Identification of a methyl-specific restriction system mediated by a conjugative element from *Streptomyces bambergiensis* // J. Bacteriology. – 1995. – **177**, N16. – P.4809 – 4812.

Отримано 16.02.2009