

Nataliia Tkachuk, Liubov Zelena, Yevheniy Olkhovik



ISOLATION OF ACTINOBACTERIES FROM THE SOIL
FERROSPHERE AND THEIR IDENTIFICATION
ВИДІЛЕННЯ АКТИНОБАКТЕРІЙ З ФЕРОСФЕРИ ҐРУНТУ
ТА ЇХ ІДЕНТИФІКАЦІЯ

DOI: 10.5281/zenodo.7110904

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© Tkachuk N., Zelena L., Olkhovik Ye., 2022

ABSTRACT

Actinobacteria is one of the bacterial groups important in terms of biofilm formation. Among them, representatives of *Streptomyces* sporoactinobacteria, some of the most active soil ammonifying bacteria, deserve attention. It is known that ammonifying bacteria are involved in microbially induced corrosion in the first stages of biofilm formation and form ammonia – a corrosion-dangerous metabolite. However, their diversity in soil ferrosphere remains poorly understood. The purpose of the work is the isolation of an actinobacterium strain from the soil ferrosphere and its identification.

The work was carried out by conventional methods: general biological (preparation of mounts "crushed drop", stained smears, microscopy), microbiological (preparation of medium for the cultivation of bacteria, the method of ten-fold dilutions, Koch's method, seeding microorganisms in a liquid and agar medium, methods of staining of cells of bacteria and their structures (staining with fuchsin, methylene blue, Gram staining method in Kalina's modification), methods of determining physiological and biochemical properties (tests for catalase, oxidase, utilization of citrate, casein, fats, starch, urea, formation of indole, ammonia, hydrogen sulfide, MRVP-test, relation to oxygen and temperature), molecular-genetic (isolation of DNA from bacterial cells, polymerase chain reaction with primers for 16S rRNA gene, 16S rRNA gene sequencing, horizontal agarose gel electrophoresis, phylogenetic analysis using GenBank database and MEGA 6.0 computer program).

Scientific novelty – from the soil ferrosphere is isolated a strain of actinobacteria, which by the complex of microbiological, physiological and biochemical properties and based on the sequence of the 16S rRNA gene fragment (according to the results of phylogenetic analysis) is classified as *Streptomyces canus*. It develops and expands the understanding of the diversity of corrosive bacteria and a set of test cultures for the study of microbial-induced corrosion processes.

Conclusions – according to a number of microbiological, physiological, biochemical and genetic characteristics, the NUChC F2 strain is classified as *Streptomyces* and identified as *Streptomyces canus*. The nucleotide sequences of the 16S rRNA gene were registered in the GenBank database as *Streptomyces canus* MG924748 and MG924855. The isolated strain is ammonifying, thus potentially corrosion-active, and can be used in the study of microbial-induced corrosion processes. According to the level of biosafety, bacteria of the *S. canus* species belong to the 1st risk group (according to the German Technical Rules for biological agents) and are safe for human health.

Key words: ferrosphere, actinobacteria, phenotypic characteristics, 16S pRNA gene.

АНОТАЦІЯ

Однією з бактеріальних груп, важливих з точки зору формування біоплівки, є актинобактерії. Серед них на увагу заслуговують представники спороактинобактерій роду *Streptomyces* – одні з найбільш активних амоніфікувальних бактерій ґрунту. Відомо, що

амоніфікувальні бактерії беруть участь у мікробно індукованій корозії на перших етапах формування біоплівки та утворюють амоніак – корозійно небезпечний метаболіт. Проте їх різноманіття у феросфері ґрунту залишається недостатньо вивченим. Мета роботи – виділення штаму актинобактерій з феросфери ґрунту та його ідентифікація.

Роботу здійснювали загальноприйнятими методами: загальнобіологічними (виготовлення препаратів «роздавлена крапля», препаратів-мазків, мікроскопування), мікробіологічними (приготування середовищ для вирощування бактерій, метод граничних десятикратних розведень, метод Коха, посів у рідке середовище, посів на щільне середовище, морфологічний аналіз колоній мікроорганізмів, методи фарбування клітин бактерій та їх структур (фарбування фуксином, метиленовим синім, за Грамом у модифікації Каліни), методи визначення фізіолого-біохімічних властивостей (тести на каталазу, оксидазу, утилізацію цитрату, казеїну, жирів, крохмалю, сечовини, утворення індолу, амоніаку, сірководню, MRVP-тест, відношення до кисню та температури), молекулярно-генетичними (виділення ДНК з клітин бактерій, полімеразна ланцюгова реакція з праймерами до гена 16S рРНК, секвенування гена 16S рРНК, електрофорез у горизонтальному агарозному гелі, філогенетичний аналіз з використанням бази даних GenBank та комп'ютерної програми MEGA 6.0).

Наукова новизна – з феросфери ґрунту виділено штаму актинобактерій, який за комплексом мікробіологічних ознак, фізіолого-біохімічних властивостей та на основі сиквенсу фрагмента гена 16S рРНК (за результатами філогенетичного аналізу) віднесено до виду *Streptomyces canus*, що розвиває й розширює уявлення про різноманіття корозійно активних бактерій та набір тест-культур для дослідження процесів мікробно індукованої корозії.

Висновки – за рядом мікробіологічних, фізіолого-біохімічних та генетичних ознак штаму NUChC F2 віднесено до роду *Streptomyces* та ідентифіковано як *Streptomyces canus*. Нуклеотидні послідовності гена 16S рРНК зареєстровано у базі даних GenBank як *Streptomyces canus* MG924748 та MG924855. Виділений штаму амоніфікувальний, отже потенційно корозійно активний, і може бути використаний при дослідженні процесів мікробно індукованої корозії. За рівнем біобезпеки бактерії виду *Streptomyces canus* відносяться до 1-ї групи ризику (за Німецькими Технічними Правилами для біологічних агентів) і безпечні для здоров'я людини.

Ключові слова: феросфера, актинобактерії, фенотипові ознаки, ген 16S рРНК.

Постановка проблеми

Феросфера є зоною ґрунту, що безпосередньо контактує з поверхнею металу. У ній існують бактерії різних еколого-трофічних груп, які прикріплюються до поверхні металу або захисного покриття, формують біоплівку і спричиняють мікробно індуковану корозію [17].

Однією з бактеріальних груп, важливих з точки зору формування біоплівки, є актинобактерії [5]. Серед них на увагу заслуговують представники спороактинобактерій роду *Streptomyces*, оскільки вони є одними з найбільш активних амоніфікувальних бактерій ґрунту [1]. Відомо, що амоніфікувальні бактерії беруть участь у мікробній корозії на перших етапах формування біоплівки та утворюють амоніак – корозійно небезпечний метаболіт [17]. В літературних джерелах показано, що мікробні пошкодження

металів бактеріями роду *Streptomyces* залежать від досліджуваного виду та штаму.

Так, дослідження Jaaraman зі співавторами [12] показали однаковий ступінь корозії зразків сталі у стерильному контролі та за присутності *S. lividans*. Встановлено, що фосфати не забезпечують зниження корозії у мінеральних середовищах за присутності *S. pilosus* DSM 40714, що не утворює біоплівку [26].

Стрептоміцети досліджуються у монокультурах та асоціативних культурах. При цьому зазначають як посилення, так і послаблення корозії. Так, встановлено, що спільна присутність *Streptomyces* та *Nocardia sp.* посилює корозію сталі [23]. При вивченні мікробної корозії за участі *Thiobacillus ferrooxidans*, стрептоміцетів та асоціації цих мікроорганізмів відмічено найбільш серйозні пошкодження за участі стрептоміцетів, асоціація на другому місці [24]. У той же час спільна присутність

S. griseus та *Bacillus amyloliquefaciens* запобігала відшаруванню біоплівки, що мало місце при культивуванні одного стрептоміцету [27].

Встановлено, що штам *S. limalinbaresi* 235 пригнічує ріст штамів *Bacillus pumilus* LF-4 та *Desulfotribrio alaskensis* NCIMB 13491, які є учасниками формування біоплівки та процесу біокорозії [20]. Автори зазначають, що запобігання вище названим штамом утворення біоплівки сульфатвідновлювальними бактеріями відбувається завдяки антимікробним речовинам, які утворює штам [21]. Наразі дослідженнями Nnabuk Okon Eddy показано, що альбоміцин (продукт ферментації *S. griseus*) є гарним адсорбційним інгібітором корозії цинку у розчині сульфатної кислоти [18]. Дослідники зауважують, що серед вторинних метаболітів стрептоміцетів слід звернути увагу на тiazолілові пептиди (тіопептиди), оскільки з'ясовано, що тіоцилін (антибіотик групи тіопептидів) сприяє росту популяції матрикс-продукуючих *B. subtilis* [3].

Таким чином, представники роду *Streptomyces* заслуговують на увагу як такі, що можуть вплинути на процес корозії утворенням біоплівки, виробленням антимікробних або корозійно небезпечних речовин. У той же час різноманіття актинобактерій у феросфері ґрунту залишається недостатньо вивченим. Тому метою даної роботи було виділення штамів актинобактерій з феросфери ґрунту та його ідентифікація.

Виділення штаму бактерій із феросфери ґрунту

Відбір ґрунтових зразків, підготовку до посіву, посів, виділення та культивування мікроорганізмів здійснювали за загальноприйнятими у мікробіології методами [16, 22]. Для виділення чистих культур бактерій використали ґрунт, відібраний з глибини 0,7 м, що безпосередньо контактував з поверхнею металевої конструкції (феросфера) [2, 17].

Виділення чистої культури бактерій штаму NUChC F2 здійснювали з феросфери ґрунту методом Коха на м'ясо-пептонному агарі (МПА) за аеробних умов. Інкубація відбувалась за

температури 29 °C. Матеріал однієї ізольованої колонії з однієї із чашок пересівали на м'ясо-пептонний бульйон. Після п'яти пасажів на МПА та м'ясо-пептонному бульйоні одержали штам NUChC F2, який використали у подальших дослідженнях.

Дослідження культурально-морфологічних та деяких фізіолого-біохімічних властивостей виділених бактерій

Перевірку чистоти культури здійснювали мікроскопуванням. Для вивчення морфології бактерій використовували світлову мікроскопію (мікроскоп Delta Optical Genetic Pro) за збільшення ($\times 400$ та $\times 1000$). Препарати клітин мікроорганізмів забарвлювали за Грамом у модифікації Калини для визначення грамналежності [6]. Морфологічний аналіз колоній здійснювали за загальноприйнятою схемою [22].

Дослідження фізіолого-біохімічних властивостей бактерій штаму здійснювали загальновідомими методами [15–16, 22]. Зокрема дослідження здатності виділеного штаму до утворення деяких корозійно небезпечних метаболітів здійснювали наступним чином: амоніак – за зміною кольору лакмусового папірця, сірководень – за зміною кольору папірця, просоченого сіллю плюмбуму [6, 22].

Молекулярно-генетичне дослідження виділеного штаму

Для встановлення систематичного положення виділених бактерій здійснювали молекулярно-генетичне дослідження, яке включало наступні етапи: виділення ДНК з клітин бактерій, полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), електрофорез продуктів ампліфікації, очищення ПЛР-продукту, секвенування.

Бактеріальну ДНК виділяли з добової культури з використанням набору «GeneJET Genomic DNA Purification Kit» (Thermo Scientific, Литва), згідно до інструкції виробника. Ампліфікацію гена 16S рРНК проводили з праймерами 27f (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') і 1492r (5'-CGGTTACCTTGTACGACTT-3') [14] за наступного температурного режиму:

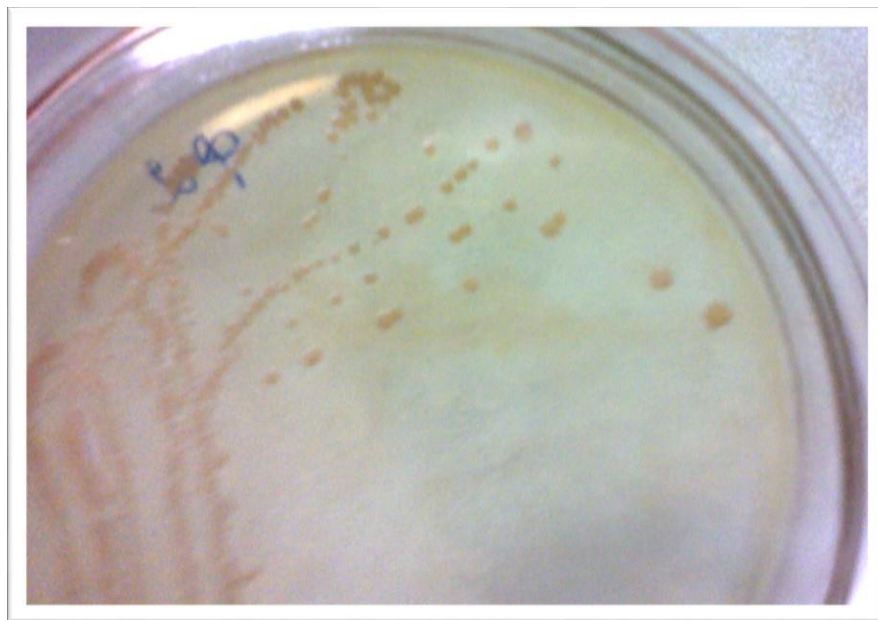
початкова денатурація 2 хв., 95°C; 30 циклів – 30 сек., 95°C; 45 сек., 56°C; 90 сек., 72°C; кінцева елонгація 7 хв., 72°C. ПЛР-суміш, об'ємом 25 мкл, містила 12,5 мкл 2x DreamTaq PCR Master Mix (ThermoScientific), 30 пкмоль кожного праймера та 50 нг ДНК. ПЛР проводили на ампліфікаторі Mastercycler Personal 5332 (Eppendorf, Німеччина). Продукти ПЛР розділяли у 1,7 % агарозному гелі, що містив 0,01 % бромистого етидію. Результати візуалізували в УФ-світлі. Отриманий амплікон розміром ~1500 п.н. вирізали з гелю і очищували за допомогою набору GeneJet PCR Purification Kit (ThermoScientific). Концентрацію ДНК визначали на приладі "BioPhotometer" (Eppendorf, Німеччина). Очищений ПЛР-продукт сиквенували у двох напрямках на приладі "Genetic Analyzer 3130" з використанням набору реактивів "BigDye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit". Отриману нуклеотидну послідовність порівнювали з внесеними до бази даних GenBank за допомогою програми Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Філогенетичний аналіз, вирівнювання нуклеотидних послідовностей 16S рДНК представників

різних видів роду *Streptomyces* здійснювали за допомогою програми MEGA 6.0 [25]. Дендрограму філогенетичних зв'язків будували за допомогою методу найближчого зв'язування (Neighbor Joining) з використанням двопараметричної моделі Кімури по 1000 реплікам бутстреп-аналізу з використанням програми MEGA 6.0 [25]. Послідовності гена 16S рРНК типових культур бактерій роду *Streptomyces* були взяті з бази даних GenBank та web-ресурсу www.straininfo.net (дата звернення 10.05.17).

Результати дослідження

Мікробіологічні та деякі фізіолого-біохімічні властивості штаму

На МПА колонії штаму округлі, діаметром 2–4 мм, сіро-коричневого кольору, поверхня складчаста, шкіриста, матова, структура крупнозерниста, консистенція тверда (рис. 1, а). Штам виділяє пігмент темно-коричневого кольору (рис. 1, б). Повітряний міцелій не утворюється.



а



б

Рис.1. Ріст штаму NUCc F2 на МПА: а – агарова пластинка; б – косий агар

Бактерії утворюють розгалужений міцелій (рис. 2).

За морфологічними ознаками виділений мікроорганізм можна віднести до актинобактерій. Відомо, що при рості на багатих живильних середовищах (до яких належить МПА) актинобактерії дають так званий атиповий ріст – щільні шкіристі колонії, зазвичай не опушені типовим для штамів роду *Streptomyces* повітряним міцелієм. Для прояву диференціювання, утворення характерних спор і пігментів актинобактеріям потрібні спеціальні середовища. Таким середовищем, зокрема, є вівсяний агар [19].

Ми виростили штам на вівсяному агарі та одержали поверхневі, сіро-білого кольору колонії, діаметром 2–4 мм (рис. 3, 4). Форма округла з валиком, профіль кратероподібний, поверхня складчаста, консистенція волокниста (рис. 3). На 14–20-у добу розвивається добре виражений повітряний міцелій білого кольору. З нижнього боку колонії коричневого кольору (рис. 3). Штам утворює коричневий пігмент, який з часом (1–2 місяці) набуває червонуватого відтінку (рис. 4).

Бактерії утворюють розгалужений міцелій зі спорами, розташованими ланцюжком по 10– 50 спор і більше (рис. 5). Ланцюжки спор спіральні, але є деякі спорові ланцюжки прямі та петлеподібні. Клітини грампозитивні.

Виділений штам відноситься до мезофілів, оскільки температурний оптимум для нього становить 19–33 °С.

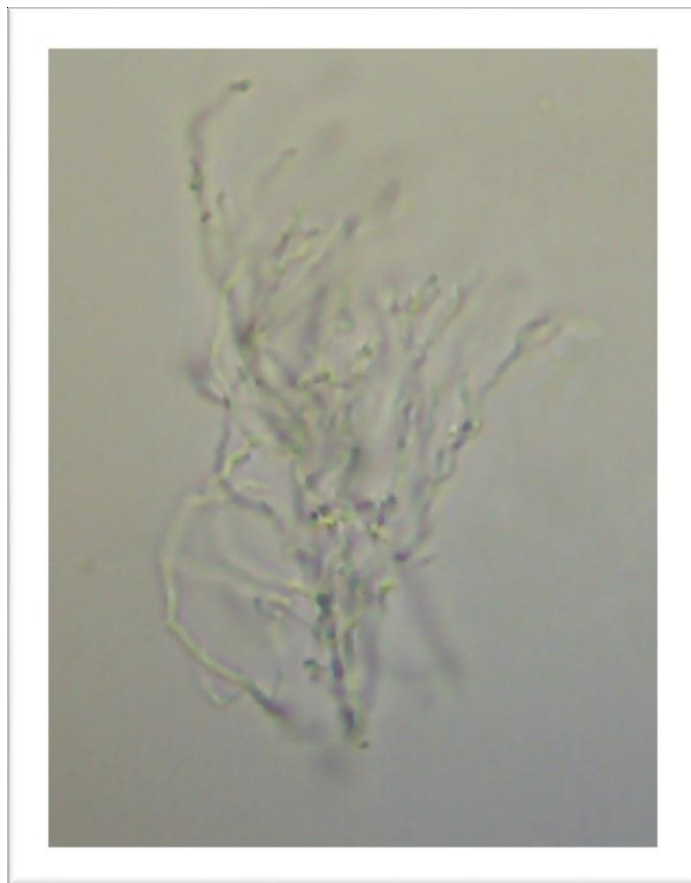


Рис. 2. Мікрофотографія штаму NUChC F2 (світлова мікроскопія, препарат «роздавлена крапля», збільшення x400)

Результати дослідження деяких фізіолого-біохімічні властивостей виділеного штаму узагальнено у таблиці 1.



Рис. 3. Ріст штаму NUChC F2 на вівсяному агарі: агарова пластинка (5 діб, вигляд колоній зверху та знизу відповідно)

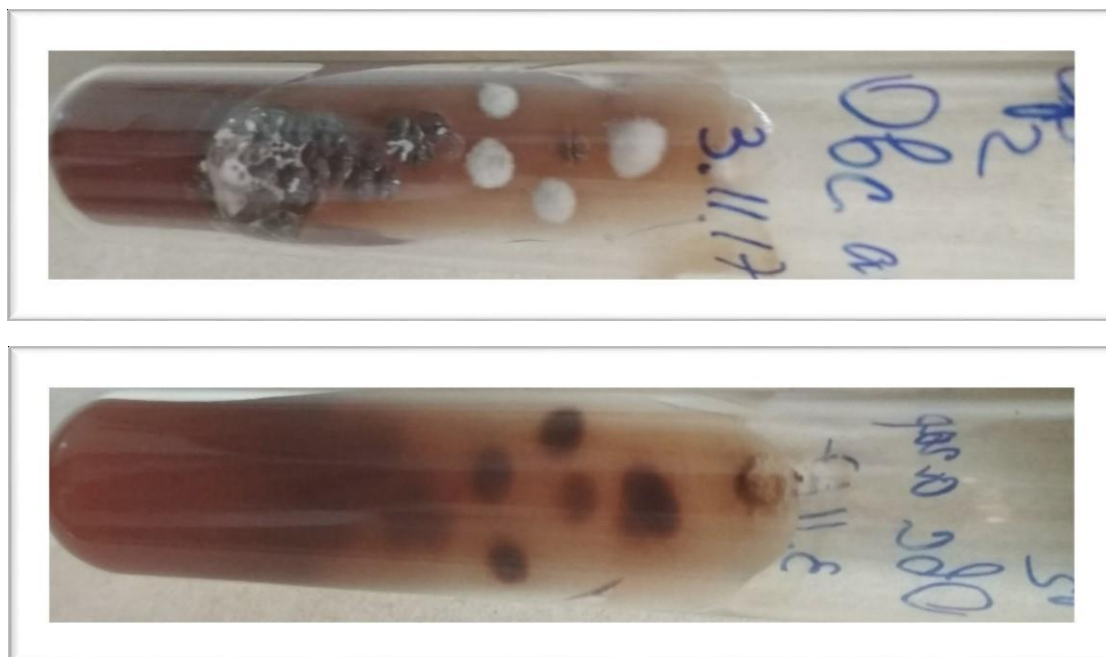
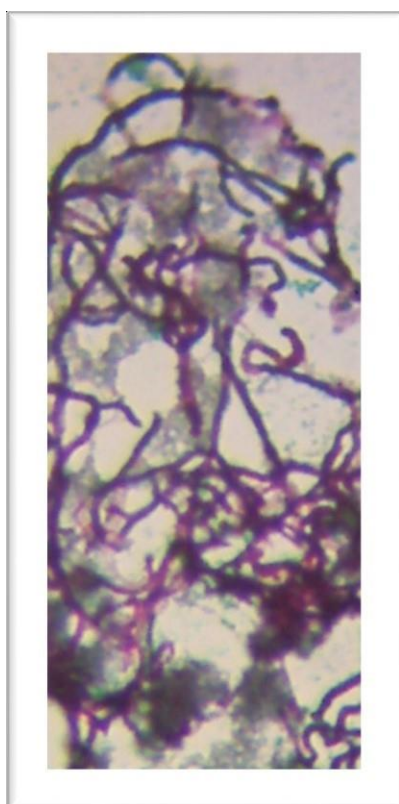
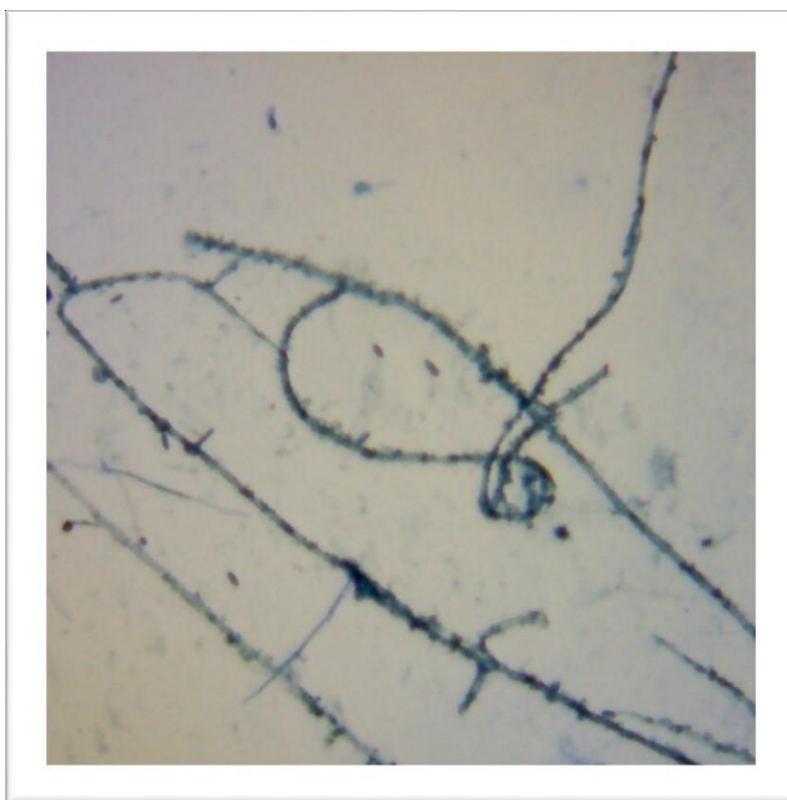


Рис. 4. Ріст штаму NUChC F2 на вівсяному агарі: косий агар (1–2 місяці, вигляд колоній зверху та знизу відповідно)



а



б

Рис. 5. Мікрофотографії штаму NUChC F2 (світлова мікроскопія, імерсія, збільшення x1000): а – фарбування фуксином; б – фарбування метиленовим синім

Таким чином, за культурально-морфологічними та фізіолого-біохімічними властивостями згідно з Bergey's Manual of

Systematic Bacteriology [9] виділений штам віднесено до роду *Streptomyces*.

Таблиця 1

Фізіолого-біохімічні властивості виділеного штаму

№ п/п	Властивість	Наявність
1.	Каталазна активність	+
2.	Оксидазна активність	—
3.	Аеробний ріст	+
4.	Анаеробний ріст	—
5.	Утилізація глюкози	—
6.	Виділення амоніаку	+
7.	Гідроліз казеїну	+
8.	Гідроліз крохмалю	+
9.	Гідроліз ліпідів	—
10.	Уреазна активність	—
11.	Утилізація цитрату	+
12.	Утворення індолу	—
13.	Утворення сірководню	—
14.	Левансахараза	—
15.	Реакція з метиловим червоним	—
16.	Реакція Фогеса-Проскауера	—

Молекулярно-генетична характеристика гену 16S р рННК виділеного штаму

У результаті визначення нуклеотидної послідовності гену 16S р рННК досліджуваного штаму отримано сиквенс фрагменту, загальною довжиною 1286 п.н. Порівняльний аналіз цього фрагменту з задепонованими у базі даних

GenBank виявив високий відсоток схожості (99 %) з декількома видами роду *Streptomyces*, зокрема *S. canus*, *S. ciscaucasicus*, *S. resistomyzificus*. Відсоток подібності нуклеотидних послідовностей гену 16S р рННК між досліджуваним штамом та деяких видами роду *Streptomyces* наведено у табл. 2.

Таблиця 2

Відсоток схожості між нуклеотидними послідовностями гену 16S р рННК *S. canus* NUCCh F2 та іншими видами роду *Streptomyces*

Вид	% схожості
1	2
<i>S. canus</i> NBRC 12752	99
<i>S. ciscaucasicus</i> NBRC 12872	99
<i>S. resistomyzificus</i> NBRC 12814	99
<i>S. lincolnensis</i> NBRC 13054	99

1	2
<i>S. novaecaesareae</i> NBRC 13368	99
<i>S. antibioticus</i> NBRC 12838	98
<i>S. coralus</i> NBRC 12856	98
<i>S. mirabilis</i> ATCC27447	98
<i>S. mexicanus</i> NBRC 100915	97
<i>S. albus</i> NRRL B-1811	96
<i>S. coelicolor</i> DSM 40233	96

Для уточнення рівня генетичної спорідненості штаму NUChC F2 з іншими стрептоміцетами, на основі сиквенсів гену 16S рРНК було побудовано дендрограму (рис. 6). Досліджуваний штам сформував одну групу з типовими штамми видів *S. ciscaucasicus* та *S. canus* (див. рис. 6). Вперше вид *S. canus* був описаний у 1953 році [10], а дані щодо виду *S. ciscaucasicus* були опубліковані у 1983 році [8]. Однак, незважаючи на фенотипові відмінності між цими видами, на основі порівняльного аналізу

їх геномів та за результатами мультилокусного сиквенування типових штамів цих видів, на цей час запропоновано вважати *S. ciscaucasicus* синонімом *S. canus* [13].

Нуклеотидна послідовність фрагмента гена 16S рРНК штаму NUChC F2 занесена у базу даних GenBank як *Streptomyces canus* MG924748 (з прямого праймеру) та MG924855 (зі зворотного праймеру).

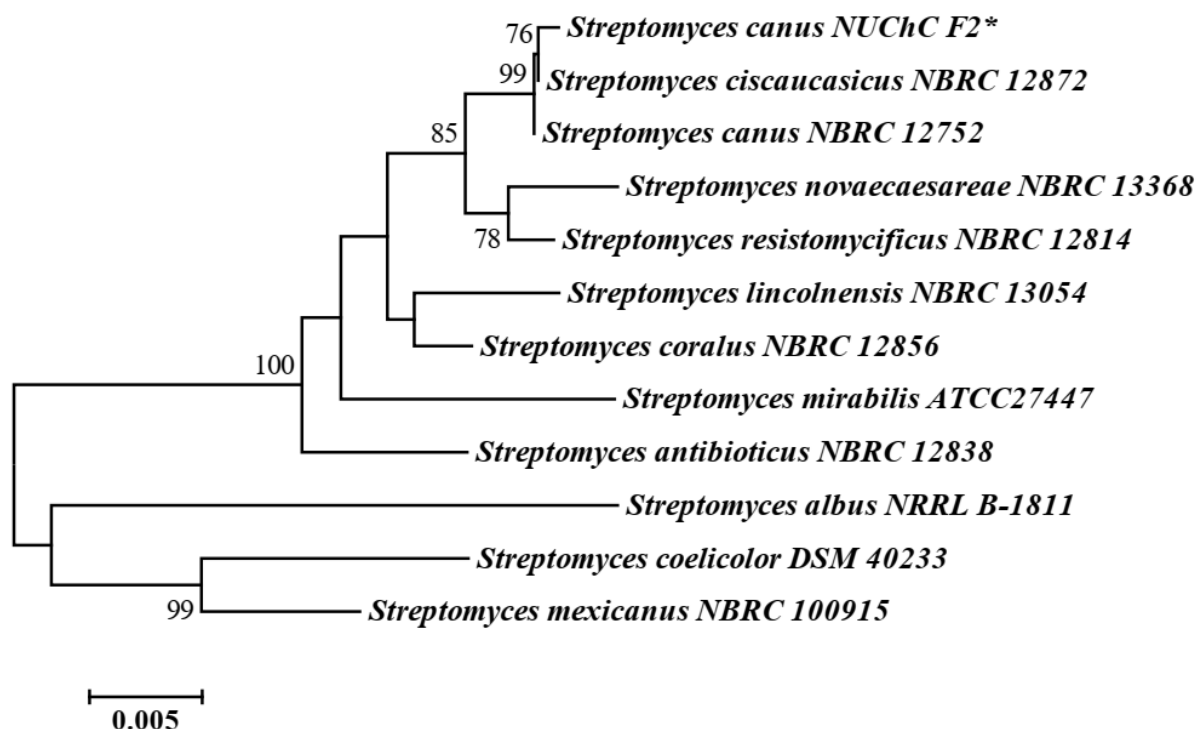


Рис. 6. Дендрограма філогенетичних зв'язків між деякими видами роду *Streptomyces*, побудована на основі нуклеотидних послідовностей гену 16S рРНК та з використанням neighbor-joining методу. Досліджуваний штам позначений *.

Теоретичний аналіз біобезпеки досліджуваних мікроорганізмів

Біобезпека описує принципи ізолювання, технології та методи, використовувані для запобігання ненавмисному впливу патогенів і токсинів на людину або їх випадковому розповсюдженню [11]. За рівнем біобезпеки бактерії виду *S. canis* відносяться до 1-ї групи ризику згідно Німецьких Технічних Правил для біологічних агентів [4]. У відповідності з Директивою 2000/54/ЕС Європейського Парламенту та Ради про захист працівників від ризиків, пов'язаних із впливом біологічних агентів на роботі, мікроорганізм з 1-ї групи ризику навряд чи спричинить захворювання людини [7]. Згідно Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я у представників групи ризику 1 відсутня або низька індивідуальна і суспільна небезпека. Мікроорганізм цієї групи потенційно не є збудником хвороб людини або тварин [28]. Для роботи з представниками 1-ї групи ризику не вимагається захисного обладнання, а особливостями лабораторного захисту є застосування «правильних мікробіологічних технік» [11]. Отже, виділені бактерії безпечні для здоров'я людини.

Висновки

З феросфери ґрунту виділено штам актинобактерій NUChC F2, одержано чисту культуру.

За фенотиповими і генотиповими характеристиками досліджуваного штаму, керуючись останніми публікаціями та правилами щодо систематики і таксономії видів стрептоміцетів, штам NUChC F2 віднесено до виду *Streptomyces canis*.

Нуклеотидні послідовності гена 16S рРНК зареєстровано у базі даних GenBank як *Streptomyces canis* MG924748 (з прямого праймеру) та MG924855 (зі зворотного праймеру).

Бактерії виділеного штаму амоніфікувальні, отже потенційно корозійно активні, і можуть бути використані при дослідженні процесів мікробно індукованої корозії.

За рівнем біобезпеки бактерії виду *Streptomyces canis* відносяться до 1-ї групи ризику (за Німецькими Технічними Правилами для біологічних агентів) і безпечні для здоров'я людини.

References

1. Andreyuk, E. I., Iutinskaya, G. A., and Dulgerov, A. N. (1988). Pochvennyie mikroorganizmyi i intensivnoe zemlepolzovanie [Soil microorganisms and intensive land use]. Kyiv, Ukraine : Naukova dumka.
Андреюк Е. И., Иутинская Г. А., Дульгеров А. Н. Почвенные микроорганизмы и интенсивное землепользование. К.: Наук. думка, 1988. 192 с.
2. Andreyuk, E. I., Kozlova, I. A., Kopteva, Zh. P. et al. (2002). Ferrosfera – zona formirovaniya korrozionno-aktivnogo soobshchestva mikroorganizmov [Ferrosphere – a zone of formation of a corrosion-active community of microorganisms]. *Reports of NAS of Ukraine*, 3, 157–161.
Андреюк Е. И., Козлова И. А., Коптева Ж. П. и др. Ферросфера – зона формирования коррозийно-активного сообщества микроорганизмов. *Доповіди НАН України*. 2002. № 3. С. 157–161.
3. Bleich, R., Watrous, J. D., Dorrestein, P. C., Bowers, A. A., and Shank, E. A. (2015). Thiopeptide antibiotics stimulate biofilm formation in *Bacillus subtilis*. *PNAS*, 10(112), 3086–3091. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1414272112>.
4. Catalogues of Leibniz Institute DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cells Cultures). (n.d.). Retrieved from <https://www.dsmz.de/catalogues/details/culture/DSM-40017.html>.

5. Chadderton, R. A., Christensen, G. L., and Henry-Unrath, P. (1992). Implementation and Optimization of Distribution Flushing Programs. *American Water Works Association*. Retrieved from https://books.google.com.ua/books?id=tgtA_05lcGYC&pg.

6. Dikiy, I. L., Holupyak, I. Yu., and Sidorchuk, I. I. Mikrobiologiya. Rukovodstvo k laboratornyim zanyatiyam [Microbiology. Guide to laboratory exercises] (2002). Kharkov, Ukraine : Publishing House of the National Pharmaceutical University «Golden Pages».

Дикий И. Л., Холупяк И. Ю., Сидорчук И. И. Микробиология. Руководство к лабораторным занятиям. Харьков: Изд. НФаУ "Золотые страницы", 2002. 444 с.

7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work. (2000). *Official Journal of the European Communities*, 22–45. Retrieved from <https://osha.europa.eu/en/legislation/directives/exposure-to-biological-agents/77>.

8. Gauze, G. F., Preobrazhenskaya, T. P., Sveshnikova, M. A., Terehova, A. P., and Maksimova, T. S. (1983). *Opredelitel aktinomitsvetov. [Key to actinomycetes]*. Moscow, Russian Federation : Nauka.

Гаузе Г. Ф., Преображенская Т. П., Свешникова М. А., Терехова А. П., Максимова Т. С. Определитель актиномицетов. Москва: Наука, 1983. 248 с.

9. Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J. et al. The Actinobacteria, Part A. (2012). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd ed. Vol. 5. New York, USA : Springer.

10. Heinemann, B., Kaplan, M. A., Muir, R. D., and Hooper, I. R. (1953). Amphomycin, a new antibiotic. *Antibiotics & chemotherapy* (Northfield, Ill.), 3(12), 1239–1242.

11. Holubnycha, V. M., Pohorielov, M. V., and Korniienko, V. V. (2016). Biobezpeka ta biozakhyst u biolohichnykh laboratoriiakh 1-ho ta 2-ho rivniv biobezpeky: monohrafiia [Biosafety and biosecurity in 1st and 2nd level biological laboratories: monograph]. Sumy, Ukraine : Sumy State University.

Голубнича В. М., Погорелов М. В., Корнієнко В. В. Біобезпека та біозахист у біологічних лабораторіях 1-го та 2-го рівнів біобезпеки: монографія. Суми: Сумський державний університет, 2016. 123 с.

12. Jayaraman, A., Cheng, E. T., Earthman, J. C., and Wood, T. K. (1997). Importance of biofilm formation for corrosion inhibition of SAE 1018 steel by axenic aerobic biofilms. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 18, 396–401. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900396>.

13. Kämpfer, P., Rückert, C., Blom, J. et al. (2018). *Streptomyces ciscaucasicus* Sveshnikova et al. 1983 is a later subjective synonym of *Streptomyces canus* Heinemann et al. 1953. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 68(1), 42–46. DOI: <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002418>.

14. Lane, D. G. (1991). Nucleic acids techniques in bacterial systematic. Ed. by E. Stackebrandt and M. Goodfellow. Chichester, United Kingdom : John Wiley. Pp.115–175.

15. Gerhard, F. et al. (Ed.). (1984). *Metody obschey bakteriologii. [General bacteriology methods]*. Moscow, USSR : Mir Publishing House.

Методы общей бактериологии / Под ред. Ф. Герхардта и др. Москва: Мир, 1984. 264 с.

16. Zvyagintsev, D. G. (Ed.). (1991). *Metody pochvennoy mikrobiologii i biohimii* [Methods of soil microbiology and biochemistry] (1991). Moscow, USSR : Moscow University Press.
Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д.Г. Звягинцева. Москва: Изд-во Моск. ун-та, 1991. 303 с.
17. Andreiuk, K. I. et al. (2005). *Mikrobnna koroziia pidzemnykh sporud* [Microbial corrosion of underground structures]. (2005). Kyiv, Ukraine : Naukova dumka.
Мікробна корозія підземних споруд / Андрейук К.І. та ін. Київ: Наук. думка, 2005. 258 с.
18. Nnabuk Okon Eddy. (2010). Fermentation product of *Streptomyces griseus* (albomycin) as a green inhibitor for the corrosion of zinc in H₂SO₄. *Green Chemistry: Letters and Reviews.*, 4(3), 307–314. DOI: <https://doi.org/10.1080/17518253.2010.486771>.
19. Hoult, J., Krig, N., Snit, P., Steily, J., and Williams, S. (1997). *Opredelitel bakteriy Berdzhii* [Bergey Bacterial Identifier]. Moscow, Russian Federation : Mir.
Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж.Хоулта, Н.Крига, П.Снита, Дж.Стейли, С.Уилльямса. Москва: Мир, 1997. Т. 2. 800 с.
20. Pacheco da Rosa, J., Korenblum, E., Franco-Cirigliano, M. N. et al. (2013). *Streptomyces lunalinharesii* Strain 235 Shows the Potential to Inhibit Bacteria Involved in Biocorrosion Processes. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*. Vol. 2013, Article ID 309769. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/309769>.
21. Pacheco da Rosa, J., Tibùrcio, S. R. G., Marques, J. M. et al. (2016). *Streptomyces lunalinharesii* 235 prevents the formation of a sulfate-reducing bacterial biofilm. *Brazilian journal of microbiology*, 47, 603–609. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.04.013>.
22. Egorov, N. S. (Ed.). (1983). *Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po mikrobiologii* [Microbiology Practice Tutorial]. Moscow, USSR : Moscow University Press.
Руководство к практическим занятиям по микробиологии: Практ. пособие / Под ред. Н.С. Егорова. Москва: Изд-во Моск. ун-та, 1983. 215 с.
23. Song-Mei, L., Yuan-Yuan, Z., Ru-Bing, B. et al. (2009). Corrosion Behavior of Steel A3 under the Combined Effect of *Streptomyces* and *Nocardia* sp. *Acta Phys.-Chim. Sin.*, 25(5), 921–927. DOI: <https://doi.org/10.3866/PKU.WHXB20090518>.
24. Songmei, L., Yuanyuan, Z., Juan, D. et al. (2010). Influence of streptomyces on the Corrosion Behavior of Steel A3 in *Thiobacillus ferrooxidans* Media. *Acta Chimica Sinica*, 1(68), 67–74.
25. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., and Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 12(30), 2725–2729. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>.
26. Volkland, H.-P. (2001). *From Biocorrosion to Bioprotection: A New Approach in Corrosion Control*. A dissertation submitted to the Swiss Federal Institute Of Technology for the degree of Doctor Of Natural Sciences. Zürich, Switzerland.

27. Winn, M., Casey, E., Habimana, O., and Murphy, C. D. (2014). Characteristics of *Streptomyces griseus* biofilms in continuous flow tubular reactors. *Federation of European Microbiological Societies. Microbiol. Lett*, 352, 157–164. DOI: <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12378>.

28. Zlenko, V. V., Piriatska, N. Ye., Lytvynenko, M. I. et al. (2015). Orhanizatsiia roboty ta zabezpechennia sanitarno-protyepidemichnoho rezhymu v laboratorno-diahnostychnykh ustanovakh riznoho profilu [Organization of work and maintenance of sanitary-anti-epidemic regime in laboratory-diagnostic establishments of different profile]. Kharkiv, Ukraine : Publisher of Kharkiv National Medical University.

Зленко В. В., Пірятинська Н. Є., Литвиненко М. І. та ін. Організація роботи та забезпечення санітарно-протиепідемічного режиму в лабораторно-діагностичних установах різного профілю : навч. посібник. Харків: ХНМУ, 2015. 56 с.

Received: 09.01.2020. Accepted: 23.01.2020. Published: 07.01.2022.

Cite this article in APA Style as:

Tkachuk, N., Zelena, L., and Olhovich, Ye. (2022). Vydilennia aktynobakterii z ferosfery gruntu ta yikh identyfikatsiia [Isolation of actinobacteria from the soil ferrosphere and their identification]. *BHT: Biota. Human. Technology*, 1(1), 33–44. (in Ukrainian)

Information about the authors:

Tkachuk N. [*in Ukrainian: Ткачук Н.*] ¹, Ph.D. in Biol. Sc., Assoc. Prof., email: nataliia.smykun@gmail.com
ORCID: 0000-0002-5115-7716 Scopus-Author ID: 7801574248
Department of Biology, T.H. Shevchenko National University “Chernihiv Colehium”,
53 Hetmana Polubotka Street, Chernihiv, 14013, Ukraine

Zelena L. [*in Ukrainian: Зелена Л.*] ², Ph.D. in Biol. Sc., Senior Researcher, email: zelenalyubov@gmail.com
ORCID: 0000-0002-5148-1030
Danylo Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine,
154 Akademika Zabolotnoho Street, Kyiv, 03680, Ukraine

Olhovich Ye. [*in Ukrainian: Ольховик Є.*] ³, Pupil (11th grade), email: e.olhovich2003@gmail.com
ORCID: 0000-0002-8510-3820
Chernihiv Lyceum No 32,
11 Shevchuka Street, Chernihiv, 14000, Ukraine

¹ Study design, data collection, statistical analysis, manuscript preparation, funds collection.

² Data collection, statistical analysis.

³ Data collection, statistical analysis, manuscript preparation.