

УДК 581.1.

И.С. Савицкая*, А.С. Кистаубаева, Д.Х. Ибраева, Н. В. Воронова

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Республика Казахстан, г. Алматы

*E-mail: irasava_2006@mail.ru

Исследование активности аэробных целлюлозолитических бактерий, выделенных из природных источников

Из природных источников (почвы, древесины, растительных остатков и силоса) выделено 40 изолятов спорообразующих бактерий, способных к активному гидролизу целлюлозы.

Ключевые слова: почва, древесины, спорообразующие бактерий, силос.

И.С. Савицкая, А.С. Кистаубаева, Д.Х. Ибраева, Н.В. Воронова

Табиғи көздерден бөлініп алынған, аэробты-целлюлозадыратушы бактериялардың белсенділігін зерттеу

Табиғи көздерден (топырақтан, ағаш қабығынан, өсімдіктес қалдықтар мен силостан) целлюлозаны белсенді гидролиздеуге қабілетті споратүзуші бактериялардың 40 изоляты бөлініп алынды.

Түйін сөздер: топырақ, ағаш сүрегі, споратүзуші бактериялар, силос.

I.S. Savitskaya, A.S. Kistaubaeva, D.H. Ibrayeva, N.V. Voronova

Investigation of the activity of soil and vegetable isolates of cellulose degrading aerobic bacteria

40 isolates of spore-forming bacteria that are capable of active hydrolysis of cellulose are allocated from natural sources (soil, wood, plant residues and silage).

Keywords: soil, wood, spore-forming bacteria, silage

Защита окружающей среды от отходов агропромышленных предприятий представляет одну из многочисленных экологических проблем. Имеется достаточно много вторичных продуктов, которые остаются нередко в очень больших количествах после получения целевого первичного продукта. Эта проблема может быть решена путем микробной биоконверсии сложных субстратов, составленных из твердых агропромышленных отходов растительного происхождения [1, 2].

Например, тонны соломы не находят рационального применения и в основном просто сжигаются. Однако на соломе можно попытаться накапливать микробную биомассу. С этой же целью можно использовать такое вторичное сырье, как соломенная мука, подсолнечный шрот, соевый шрот, свеклосахарный жом.

Существует и другая экологическая проблема, связанная с утилизацией древесных отходов, к которым относятся не только опилки и стружка, но и кора, листва, ветви, хвоя, маломерная древесина и обломки стволов. Некоторая часть древесных отходов перерабатывается с производством древесноволокнистых, древесностружечных плит, другая же – служит для отопления жилых и производственных помещений. Возможно более рациональное использование древесных отходов в качестве органического удобрения методом компостирования, который будет способствовать образованию и накоплению гумусовых веществ.

Для практической реализации микробной биоконверсии требуются активные штаммы микроорганизмов, ее осуществляющие [3]. В разрезе данной проблемы – это целлюлозолитические

бактерии, способные осуществлять деструкцию таких устойчивых к разложению биополимеров, как целлюлоза и лигнин.

Коммерческие ферменты для биоконверсии целлюлозосодержащих материалов в простые легкоусвояемые сахара малодоступны из-за их высокой стоимости, что препятствует их широкому внедрению в практику [4-6]. В связи с этим целесообразным представляется поиск штаммов микроорганизмов, способных продуцировать различные гидролитические ферменты, среди которых особый интерес представляет комплекс целлюлозолитических ферментов [7-10]. Поэтому поиск среди бактерий новых высокоактивных продуцентов целлюлаз становится актуальной проблемой.

Это послужило основанием для проведения настоящего исследования, цель которого – сформировать коллекцию целлюлозолитических штаммов аэробных бактерий, составляющих основу заквасок и биопрепаратов, предназначенных для компостирования и биоконверсии отходов, а также интенсификации деструкционных процессов в природе.

Целлюлозолитические бактерии выделяли из почвы, древесины, гниющих растительных остатков и силоса. Использован метод накопительных культур с селективной средой Гетчинсона. В работе применяли 2 варианта сред:

1) на агаризованную среду Гетчинсона, разлитую в чашки Петри с кружками фильтроваль-

ной бумаги, взятой в качестве единственного источника углерода, вносили кусочки гомогенизированного субстрата, предположительно инфицированных целлюлозолитическими бактериями. О развитии микроорганизмов судили по величине зоны гидролиза фильтровальной бумаги. После микроскопирования из зоны разложения делали отсев для дальнейшей очистки и определения бактерий;

2) в жидкую среду Гетчинсона с 0,5% Na-КМЦ (карбоксиметилцеллюлоза) помещали используемые для выделения бактерий субстраты. Культивирование проводили в колбах на шейкере в течение 56 часов, после чего проводили высеивание на агаризованную среду с 0,1% Na-КМЦ в качестве источника углерода.

В результате проделанной работы выделено 250 изолятов спорообразующих бактерий.

На втором этапе проводили скрининг штаммов, который состоял из прямого отбора культур различных видов бактерий, из их посевов на поверхность агаризованной среды с Na-КМЦ. При исследовании культуральных свойств, выделенные изоляты спорообразующих бактерий были отнесены к морфологическим типам. Активность продуцируемых изолятами ферментов оценивали по диаметру зон просветления окраски вокруг выросших колоний после прокрашивания чашек красителем Конго (таблица).

Таблица - Эндоглюканазная активность бактерий, выделенных из природных источников

Тип колоний	Общее количество штаммов	Количество активных штаммов в отношении Na-КМЦ (диаметр зон гидролиза, мм)			
		0-10	10-15	15-20	20-25
контроль	250	30	81	99	40
1	32	4	11	12	5
2	37	5	13	12	7
3	42	2	10	18	12
4	34	0	17	15	2
5	44	7	14	22	1
6	25	8	8	0	9
7	36	4	8	20	4

Согласно полученным данным, 30 изолятов обладают низкой активностью, 180 – средней (зона гидролиза от 10 до 20 мм), и только 40 – высокой.

Таким образом, выделено 250 изолятов бактерий из природных источников, способных расти на среде с целлюлозой в качестве единственного источника углерода. Из них отобрано 40 штаммов,

проявляющих наибольшую активность. Прослежена динамика биосинтеза компонентов целлюлазного комплекса у бактерий. Максимум выхода

продуктов производимого активными штаммами гидролиза можно получить на третьи сутки их культивирования на целлюлозе.

Литература

- 1 Клесов А.А. Ферменты целлюлазного комплекса// Проблемы биоконверсии растительного сырья. – М., Наука, 1986. – С. 93-51.
- 2 Рабинович М.Л., Мельник М.С., Болобова А.В. Целлюлазы микроорганизмов // Прикладная биохимия и микробиология.- 2002, Т.38.- №4.- С.355-373.
- 3 Клесов А.А., Черноглазов В.М., Рабинович М.А., Синицын А.П. Роль адсорбционной способности эндоглюканазы в деградации кристаллической и аморфной целлюлозы// Биоорганич.химия. – 1982. – Т.8, №5. – С. 643-651.
- 4 Manmeet Kaur and Dr. S. Arora Isolation and Screening of Cellulose Degrading Bacteria in Kitchen Waste and Detecting Their Degrading Potential // IOSR Journal of Mechanical and Civil Engineering. - 2012. - Issue 2.- P. 33-35.
- 5 Авдеева Л.В., Осадчая А.И., Хархота М.А. Целлюлазная активность бактерий рода Bacillus // Микробиология и биотехнология .- 2011. - №2. - С.65-72.
- 6 Balamurugan A., Jayanthi R., Nepolean P., Vidhya R. Pallavi and R. Premkumar Studies on cellulose degrading bacteria in tea garden soils // African Journal of Plant Science.- 2011.- Vol 5 (1).- P. 22-27.
- 7 Barman D., Saud Z.A., Habib M.R., Islam M.F., Hossain K., Yeasmin T. Isolation of Cellulytic Bacterial Strains from Soil for Effective and Efficient Bioconversion of Solid Waste // Life Sciences and Medicine Research.- Volume 2011.- P. 1-7.
- 8 Борзова Н. В., Варбанець Л. Д. Целлюлозодеградуєчі мікроорганізми: біосинтез, властивості та структурно-функціональні особливості // Біотехнологія. – 2009. – Т.2, № 2, – С. 23-41.
- 9 Ушакова Н. А., Белов Л. П., Варшавский А. А., Козлова А. А., Колганова Т. В., Булыгина Е. С., Турова Т. П. Расщепление целлюлозы при дефиците азота бактериями, выделенными из кишечника позвоночных // Микробиология.- 2003.-Т.72, № 3. - С.400-406.
- 10 Осадчая А.И., Сафронова Л.А., Авдеева Л.В., Иляш В.М. Скрининг штаммов с высокой целлюлазной активностью// Микробиологический журнал. – 2009. – Т.71, № 5. – С. 41-48.

References

- 1 Klesov A.A. Fermenty celljulaznogo kompleksa// Problemy biokonversii rastitel'nogo syr'ja. – М., Nauka, 1986. – S. 93-51.
- 2 Rabinovich M.L., Mel'nik M.S., Bolobova A.V. Celljulazy mikroorganizmov // Prikladnaja biohimija i mikrobiologija.- 2002, T.38.- №4.- S.355-373.
- 3 Klesov A.A., Chernoglazov V.M., Rabinovich M.A., Sinicyn A.P. Rol' adsorbcionnoj sposobnosti jendogljukanazy v degradacii kristallicheskoj i amorfnoj celljulozy// Bioorganich.himija. – 1982. – T.8, №5. – S. 643-651.
- 4 Manmeet Kaur and Dr. S. Arora Isolation and Screening of Cellulose Degrading Bacteria in Kitchen Waste and Detecting Their Degrading Potential // IOSR Journal of Mechanical and Civil Engineering. - 2012. - Issue 2.- R. 33-35.
- 5 Avdeeva L.V., Osadchaja A.I., Harhota M.A. Celljulaznaja aktivnost' bakterij roda Bacillus// Mikrobiologija i biotehnologija.- 2011.- №2.- S.65-72.
- 6 Balamurugan A., Jayanthi R., Nepolean P., Vidhya R. Pallavi and R. Premkumar Studies on cellulose degrading bacteria in tea garden soils // African Journal of Plant Science.- 2011.- Vol 5 (1).- R. 22-27.

7 Barman D., Saud Z.A., Habib M.R., Islam M.F., Hossain K., Yeasmin T. Isolation of Cellulytic Bacterial Strains from Soil for Effective and Efficient Bioconversion of Solid Waste // Life Sciences and Medicine Research.- Volume 2011.- R. 1-7.

8 Borzova N. V., Varbanec# L. D. Celljulozodegradujuchi mikroorganizmiv: biosintez, vlastivostita strukturno-funkcional'ni osoblivosti // Biotehnologija. – 2009. – T.2, № 2, - S. 23-41.

9 Ushakova N. A., Belov L. P., Varshavskij A. A., Kozlova A. A., Kolganova T. V., Bulygina E. S., Turova T. P. Rasshheplenie celljulozy pri deficite azota bakterijami, vydelennymi iz kishechnika rastitel'nojadnyh pozvonochnyh // Mikrobiologija.- 2003.-T.72, № 3. - S.400-406.

10 Osadchaja A.I., Safronova L.A., Avdeeva L.V., Iljash V.M. Skrining shtammov s vysokoj celljulaznoj aktivnost'ju// Mikrobiologichnyj zhurnal. – 2009. – T.71, № 5. – S. 41-48.