

ПРИМЕНЕНИЕ БАКТЕРИЙ РОДА *CELLULOMONAS* ДЛЯ РАЗЛОЖЕНИЯ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ В ПОЧВЕ

**Майоров П.С., ассистент,
тел. 89084748043, pavelmayorovv@yandex.ru
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ**

Ключевые слова: целлюлоза, *Cellulomonas*, бактерия, ферменты

Превращение целлюлозы в полезные химические вещества СЗ имеет большие перспективы для устойчивого получения различных молекул, представляющих интерес для фармацевтической и химической промышленности. Не малую роль в этом процессе играют различные микроорганизмы, обладающие способностью расщепления целлюлозы в растительных остатках. Одной из групп таких микроорганизмов являются бактерии рода Cellulomonas.

Род *Cellulomonas* представляет собой гетерогенную группу бактерий, разлагающих целлюлозу, в основном выделенных из почвенных материалов. Род *Cellulomonas* относится к семейству Cellulomonadaceae. Филогенетически семейство относится к отряду Актиномицетам. Сочетание хемотаксономических и морфологических свойств отличает представителей Cellulomonadaceae от родственных таксонов. Несмотря на их очевидную тесную фенотипическую связь, представители рода *Cellulomonas* генотипически различны, хотя у них есть несколько общих генов. Различие между видами основано на ряде морфологических и биохимических

характеристик, для которых, как сообщалось, были разработаны различные схемы идентификации видов целлюломонад. Штаммы рода продуцируют целлюлазы и гемицеллюлазы, которые имеют несколько промышленных применений [1,6].

Первоначально в роде было собрано 27 предполагаемых видов, но позже было признано только 10 видов, остальные были признаны синонимами этих десяти. Эти 10 видов отличались друг от друга подвижностью, восстановлением нитратов, производством аммиака, хромогенезом и, в случае *C. fimi*, ферментацией ксилозы и арабинозы. Они рассматривались как грамотрицательные палочки, расположенные под углом друг к другу в виде V-образных образований [5].

Поскольку разложение целлюлозы является особенностью многих других почвенных бактерий и грибов, поэтому этот род получил только академическое значение, поскольку он не имел никакой экономической пользы. В последнее время предпринимаются усилия по утилизации целлюлозных растительных остатков, основных агропромышленных отходов и загрязнителей окружающей среды для производства продуктов с добавленной стоимостью. Поэтому возродился интерес к выделению, идентификации и применению *Cellulomonas spp.* в производстве глюкозы из таких отходов. В последнее время они были выделены в том числе из рубца животных, активного ила и обогащенных целлюлозой сред [2,3].

Позже по данным исследований гомологии ДНК-ДНК и биохимических реакций были признаны семь видов рода *Cellulomonas*. Из-за значительной степени сходства целлюломоны были включены в семейство Corynebacteriaceae. Соседние группы определяются

Arthrobacter, *Renibacterium*, *Micrococcus*, *Stomatococcus*, *Dermatophilus*, *Brevibacterium* и *Microbacterium* и родственными родами. Во втором томе Руководства Берджи по систематической бактериологии были признаны шесть видов, а именно *Cellulomonas biazotea*, *C. cellasea*, *C. fimi*, *C. flavigena*, *C. gelida* и *C. uda*. Различие основывалось на ряде биохимических и хемотаксономических характеристик, а именно на типе пептидогликанов, составе жирных кислот и других обычных тестах, а именно на морфологии, культурных условиях для хорошего роста, биохимических реакциях, проявляемых этими видами, и составе клеточной стенки в отношении углеводов. Реакцию на грамм у этих видов иногда бывает трудно определить; некоторые грамположительные штаммы могут терять цвет и казаться грамотрицательными [1,8].

Некоторые авторы предложили схему идентификации этих шести видов целлюломонад, которая может быть использована для предварительного разделения этих видов. Согласно этой схеме, *C. biazotea* может быть разделена, потому что это единственный вид, который растет на рафинозе. Среди других, *C. fimi* является положительным по лизину и орнитину, все остальные виды отрицательны. *C. fimi*, *C. flavigena* и *C. uda* являются положительными по о-нитрофенил- β -d-галактопиранозиду (ONPG), в то время как *C. gelida* и *C. cellasea* отрицательны. *C. gelida* производит кислоты из глюкозы, в то время как *C. cellasea* не производит и может быть отделена. Среди *C. fimi*, *C. flavigena* и *C. uda*, *C. fimi* не продуцируют нитратредуктазу. *C. flavigena* не производит кислоту из лактозы и может быть отделена от *C. uda*. Согласно этой классификации, *Cellulomonas spp.* обычно являются грамотрицательными в течение первых 24 ч роста, после чего на клетках,

выращенных в оптимальных условиях роста, получают грамположительное или грамположительное окрашивание. В некоторых старых культурах реакция Грама обычно отрицательная, а клетки плеоморфны по своей природе и подвижны [8].

В настоящее время хорошо известными видами являются *C. biazotea*, *C. cellasea*, *C. cellulans*, *C. fimi*, *C. flavigena*, *C. fermentans*, *C. gelida* и *C. uda*. Они имеют оптимальную температуру для роста 28-33°C. Они растут в широком диапазоне pH (pH 5,5–7,8). Они нуждаются в азоте и витаминах для хорошего роста и производства целлюлазы. При оптимальных условиях роста состав клеточной стенки, структура пептидогликанов, состав менахинона и профили жирных кислот являются уникальными свойствами и могут быть использованы для отделения этого рода от других родственных родов. Все виды, как правило, положительно реагируют на нитратредуктазу и каталазу и имеют желтый хромогенез [4].

Штаммы целлюломонов продуцируют гидролазы для потребления углеводов, а именно крахмала, ксилана и целлюлозы. Некоторые из этих ферментов многофункциональны, обладают многодоменной структурой и могут индуцироваться многими субстратами. Они состоят из ряда внеклеточных и внутриклеточных ферментов, продуцируемых различными видами целлюломонад. Внеклеточные и внутриклеточные целлюлазы и ксиланазы, продуцируемые *Cellulomonas spp.*, представлены в таблице 1 [2,3].

Таблица 1. Продукция целлюлаз и ксиланаз у различных видов рода *Cellulomonas*

| Фермент | Вид бактерий | Дополнительная информация |
|------------------------|--|---|
| Целлобиогидролаза | <i>C. biazotea</i> , <i>C. fimi</i> , <i>C. flavigena</i> , <i>C. uda</i> | Вырабатывается внутриклеточно и внеклеточно |
| Эндо-1,4-β-d-глюканаза | <i>C. biazotea</i> , <i>C. cellasea</i> , <i>C. fimi</i> , <i>C. flavigena</i> , <i>C. uda</i> | Вырабатывается внеклеточно |
| 1,4-β-глюкозидаза | <i>C. biazotea</i> , <i>C. fimi</i> , <i>C. cellasea</i> , <i>C. flavigena</i> , <i>C. uda</i> , | Вырабатывается внутриклеточно |
| Эндо-1,4-β-ксиланаза | <i>C. biazotea</i> , <i>C. cellasea</i> , <i>C. flavigena</i> , <i>C. fimi</i> , <i>C. uda</i> | Вырабатывается внеклеточно |
| 1,4-β-ксилозидаза | <i>C. biazotea</i> , <i>C. cellasea</i> , <i>C. fimi</i> , <i>C. favigena</i> , <i>C. uda</i> | Вырабатывается внутриклеточно |

Имеется предположение, что целлюлазы *Cellulomonas spp.* действуют по механизму реакции лизоцимного типа. Эндоглюканаза и экзоглюканаза *C. fimi*, как и целлюлазы других бактерий и грибов, состоят из каталитического и связывающего целлюлозу домена. Каждый из этих ферментных компонентов может быть усечен сериновой протеазой для разделения каталитического и целлюлозосвязывающего доменов. Целлюлазы *C. fimi*, *C. uda*, *C. flavigena* и *C. biazotea* были очищены до уровня однородности. Ферменты были тщательно изучены на предмет их биохимических и кинетических параметров, и были идентифицированы остатки активных центров, участвующих в катализе. Эти остатки активных центров могут быть химически модифицированы в соответствии с промышленным применением [6,7].

Некоторые виды продуцируют активность целлюлазы для получения глюкозы из целлюлозы, но те, у которых отсутствует этот фермент, обладают целлюлозной фосфорилазой для потребления целлюлозы. Целлюлозодегидрогеназа, глицеролдегидрогеназа и L-аминоксидаза также продуцируются некоторыми видами целлюломонад [7].

Поскольку штаммы целлюломонад являются обитателями почвы и разлагающихся целлюлозных субстратов, они могут легко передаваться в пищевые продукты. Они были найдены в различных продуктах, включая мясо, оливки, крахмалистые продукты и сырое коровье молоко. Производство токсинов *Cellulomonas spp.* до сих пор не является хорошо охарактеризованным явлением. Поэтому токсичность, обусловленная продуктами их брожения, не ясна. Некоторые виды целлюломонад производят амилазы и могут загрязнять крахмалистые продукты, такие как вареный рис, при хранении при комнатной температуре. Они могут высвобождать полисахариды и глюкозу, которые могут использоваться патогенными организмами для роста.

Библиографический список:

1. Fedorak P.M. Microbial processes in the degradation of fibers. *Biodegradable and Sustainable Fibres*. 2005. pp. 1-35.
2. Gilkes N.R., Claeyssens M., Aebersold R., Henrissat B., Meinke A., Morrison H.D., Kilburn D.G., Warren R.A.J., Miller R.C. Jr. Structural and functional relationships in two families of β -1,4-glycanases. *Eur J Biochem*. 1991;202(2):367-77.
3. Hanus J., Mazeau K. The xyloglucan-cellulose assembly at the atomic scale. *Biopolymers*. 2006;82(1):59-73.

4. Hegnar O.A., Petrovic D.M., Bissaro B., Alfredsen G., Várnai A., Eijsink V.G.H. pH-Dependent relationship between catalytic activity and hydrogen peroxide production shown via characterization of a lytic polysaccharide monooxygenase from *Gloeophyllum trabeum*. *Appl Environ Microbiol.* 2018;85(5):e02612-02618.

5. Kubicek C.P., Kubicek E.M. Enzymatic deconstruction of plant biomass by fungal enzymes. *Curr Opin Chem Biol.* 2016;35:51–7.

6. Obeng E.M., Adam S.N.N., Budiman C., Ongkudon C.M., Maas R., Jose J. Lignocellulases: a review of emerging and developing enzymes, systems, and practices. *Bioresour Bioprocessing.* 2017.

7. Zhang Y.H.P., Cui J., Lynd L.R., Kuang L.R. A transition from cellulose swelling to cellulose dissolution by o-phosphoric acid: evidence from enzymatic hydrolysis and supramolecular structure. *Biomacromol.* 2006;7(2):644–8.

8. Brenner, D.J. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol .2, Part B: The Gammaproteobacteria. 2nd ed. / D.J. Brenner, N.R. Krieg, J.T. Staley // Berlin.: Springer-Verlag. 2005. 1136 p.

APPLICATION OF CELLULOMONAS BACTERIA FOR THE CELLULOSE DECOMPOSITION IN SOIL

Maivorov P.S.

Key words: cellulose, Cellulomonas, bacteria, enzymes

The conversion of cellulose into useful C3 chemicals holds great promise for the sustainable production of various molecules of interest to the pharmaceutical and chemical industries. A significant role in this process is played by various microorganisms that have the ability to break down cellulose in plant residues. One of the groups of such microorganisms is the bacteria of the genus Cellulomonas.