

УДК 579.2

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ РОДА *CELLULOMONAS*

*Гурбанов А.Я., студент факультета ветеринарной
медицины и биотехнологии
Научный руководитель – Майоров П.С., ассистент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: микроорганизмы, целлюлозоразрушающие бактерии, *Cellulomonas*, биохимические свойства.

Целлюлозные материалы, полученные из древесины и сельскохозяйственных отходов, твердых бытовых отходов и энергетических культур, представляют собой наиболее распространенный глобальный источник биомассы. Эти факты побудили обширные исследования [6-10] к эффективному превращению лигноцеллюлозы в мономеры сахара для дальнейшей ферментации в этанол. В отличие от простых сахаров, которые могут быть непосредственно преобразованы в этанол, другие биомассы, такие как крахмалы, лигноцеллюлозы и цитрусовые отходы, должны быть предварительно обработаны, чтобы сделать сахар доступным для последующей стадии ферментации. В связи с вышеизложенным целью данной работы являлось выделение и изучение биологических свойств бактерий, способных переводить соединения целлюлоза в более доступный для производства этанола формы [1, 3].

Материалы и методы. Отбор образцов почвы производили в весеннее время из разных мест, где было отмечено разложение растительных остатков. Всего было собрано 75 образцов почвы для выделения микроорганизмов.

Образцы почвы (по 5 г каждый) взвешивали в конических колбах объемом 250 мл, содержащих 100 мл стерильной дистиллированной воды. Суспензию энергично перемешивали для получения однородной смеси. Затем суспензию последовательно разбавляли до 10^{-10} и заливали на питательный агар (NA) и картофельный декстрозный агар (PDA) для селективного выделения бактерий. Инокулированные среды инкубировали при температуре 25°C и 37°C в течение 24-48 ча-

сов. Отдельные наблюдаемые колонии (на основе морфологического внешнего вида) подвергались субкультуре до получения чистых культур. Изолированные чистые культуры хранили при температуре -4°C для идентификации и последующих исследований. Все эксперименты по изоляции проводились в шкафу с ламинарным потоком, чтобы обеспечить получение результатов в стерильных условиях. Изучение биологических свойств выделенных бактерий проводили по стандартным методикам [2,4,5].

Результаты собственных исследований и обсуждение. 5 штаммов бактерий рода *Cellulomonas* были получены путем обогащения и выделения из образцов почвы, отобранных из разных мест на территории Ульяновской области.

Обогащение культуры инициировали инокуляцией около 15 г образца в 250-мл культуральную колбу, которая содержала 100 мл базальной среды, дополненной 8% ячменной соломой, в анаэробных условиях. Мы установили, что выработка метана происходила в течение 5 недель инкубации.

Затем готовили последовательные разведения в 25 мм фосфатном буфере стерильных образцов этой культуры и использовали для инокуляции ролонных пробирок с целлюлозным агаром. Через 2 недели колонии, развивающие очищенные зоны переваривания целлюлозы, индивидуально переносили в жидкую базальную среду, дополненную 0,2% целлобиозой. Эта процедура была повторена еще несколько раз, чтобы убедиться в чистоте культуры путем однородности типа колонии и микроскопического исследования.

Колонии изолята на целлюлозном агаре измеряли около 1,5 мм после 7 дней инкубации при 30°C . Через 2 недели эти колонии были круглыми, примерно 2-3 мм в диаметре, белыми и имели волнистый край. Были отчетливо видны зоны от 1 до 2 мм переваривания целлюлозы, простирающиеся от периферии колонии.

Микроскопические исследования показали, что изолят представляет собой палочковидную, коринформную, немотивированную бактерию, встречающуюся в основном поодиночке и парами (V-формы) и проявляющую полиморфизм: палочки клубневидной формы и палочки различной длины. Клетки в фазе экспоненциального роста были грамтрицательными.

Изоляты проявляли активность в аэробных условиях на самых разнообразных субстратах, включая целлюлозу, целлобиозу, глюкозу

и рафинозу, но не на рибозе, и он использовал ацетат в аэробных условиях, но не лактат и глюконат.

Продуктами метаболизма, обнаруженными в культуре целлюлозы после 15 дней ферментации, были уксусная кислота, муравьиная кислота и этанол. Кроме того, в меньших количествах производились углекислый газ и янтарная кислота, а иногда и L-(+)-молочная кислота. Ацетилметилкарбинол не производился, и H₂ не выделялся. Штамм МТ продуцировал NH₃ из пептона, нитратредуктазы, цитохромоксидазы, желатиназы и Р-галактозидазы, но не продуцировал индол, каталазу или уреазу.

Штаммы бактерий, продуцирующей наибольшее количество целлюлазы, были идентифицированы с помощью биохимических и морфологических тестов (табл. 1). В ходе процедуры идентификации выделенные штаммы бактерий были идентифицированы как *Cellulomonas sp.*

Таблица 1 – Морфологические и физиологические особенности изолятов

	Характеристика	Полученный результат
Морфология	Наличие пигмента	белый
	Размер колоний	1 мм
	Форма колоний	Округлые
	Форма бактерий	Короткие палочки
	Образование спор	-
	Подвижность	+
Биохимические свойства	Окраска по Граму	-
	Тест на каталазу	+
	Редукция нитратов	+
	Тест на индол	-
	Тест на метиловый красный	-
	Тест Фогес-Проскауэра	-
Рост на средах	СМС	+
	Avicel	+
Ферментация	Глюкоза	+
	Сахароза	+
	Фруктоза	+
	Мальтоза	+

Выделено 5 штаммов бактерий рода *Cellulomonas*. Колонии изолятов на целлюлозном агаре были круглыми, белыми и имели волнистый край, представляли собой палочковидную, коринеформную, немотивированную бактерию, проявляли активность в аэробных условиях на самых разнообразных субстратах, включая целлюлозу, целлобиозу, глюкозу и рафинозу.

Библиографический список:

1. Балаклиец Н.И., Тагаев П.А. – Экология и микроорганизмы. Х.: ХООО НЭО «ЭкоПерспектива», 2015.
2. Васильев Д.А. Практическое руководство по биологической безопасности при работе в бактериологической лаборатории / Д.А. Васильев, А.В. Меркулов, А.А. Нафеев, С.Н. Золотухин // Ульяновск. – 2015, с. 52.
3. Ившина, И. Б. Большой практикум «Микробиология»/ И.Б. Ившина – СПб. Проспект Науки, 2014
4. Лабинская, А.С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологического исследования/ А.С. Лабинская, Л.П. Блинкова, Л.П. Ещина. // М.: «Медицина», 2004. – 261с.
5. Майоров, П.С. Выделение, идентификации и изучение биологических свойств бактерий *Xanthomonas campestris pv. campestris* / П.С. Майоров, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев // Естественные и технические науки. – 2019. – №4(130). – С. 25-30
6. Васильев Д.А. Выделение культуры *Aeromonas hydrophila* из объектов окружающей среды/ Д.А. Васильев, В.С. Маланина, К.В. Мартынова, Н.А. Феоктистова, Е.В. Сульдина, А.В. Мастиленко// Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы IX Международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию Ульяновского государственного аграрного университета имени П.А. Столыпина. – 2018. – С. 78-81.
7. Феоктистова Н.А. Выделение и идентификация бактерий *Bacillus cereus*/ Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев, К.В. Маслюкова, Е.А. Ляшенко, А.И. Калдыркаев, С.Н. Золотухин, Н.И. Молофеева, Е.В. Сульдина //Естественные и технические науки. – 2018. – № 7 (121). – С. 28-33.
8. Сульдина Е.В. Выделение бактерий и бактериофагов *Yersinia enterocolitica*/ Е.В. Сульдина, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. – № 3 (39). – С. 50.
9. Родионова А.В. Бактерии *Pseudomonas stutzeri* и их свойства/ А.В. Родионова, Е.В. Сульдина, И.И. Богданов, Н.А. Феоктистова// Аграрная наука и

образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы X Международной научно-практической конференции. В 2-х томах. – 2020. – С. 338-341.

10. Сульдина Е.В. Выделение новых штаммов бактерий *Bacillus megaterium* и изучение их биологических свойств/ Е.В. Сульдина, Н.А. Феоктистова, И.И. Богданов //Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2020. – № 3 (51). – С. 60-67.

ISOLATION AND STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF CELLULOSE-DESTROYING BACTERIA

Gurbanov A.Y.

Keywords: *microorganisms, cellulose-destroying bacteria, Cellulomonas, biochemical properties.*

Cellulosic materials derived from wood and agricultural waste, solid household waste and energy crops are the most common global source of biomass. These facts have prompted extensive research on the effective conversion of lignocellulose into sugar monomers for further fermentation into ethanol. Unlike simple sugars, which can be directly converted to ethanol, other biomasses, such as starches, lignocelluloses and citrus waste, must be pre-processed to make the sugar available for the subsequent fermentation stage. In connection with the above, the purpose of this work was to isolate and study the biological properties of bacteria capable of converting cellulose compounds into forms more accessible for the production of ethanol.