

УДК 579.2

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЦЕЛЛЮЛОЗОРАЗРУШАЮЩИХ БАКТЕРИЙ

*Гурбанов А.Я., студент факультета ветеринарной
медицины 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 [6-11] 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 часов. 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. По результатам проведенных исследований было выделено 34 изолята аэробных бактерий, разрушающих целлюлозу. Выделенные изоляты культивировались в агаровой среде, содержащей целлюлозу в качестве единственного источника углерода (Рис. 1).

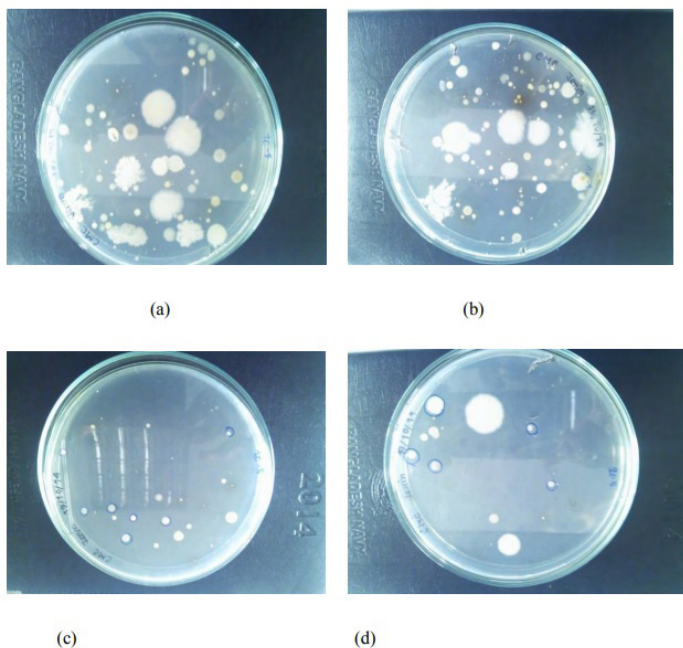


Рисунок 1 – Рост целлюлозоразрушающих бактерий на среде СМС, 48ч, 25°C
(а – образец почвы с остатками травы, б – перегонной, с – образец почвы с садового участка, d – образец почвы с древесной листвой)

Морфологические особенности выделенных изолятов определяли методом окрашивания по Граму. Часть изолятов сохранила фиолетовый цвет, что означает, что они были грамположительными палочками, другая часть изолятов окрашивались в розовый цвет, что относилло их к грамотрицательным бактериям (Рис. 2).

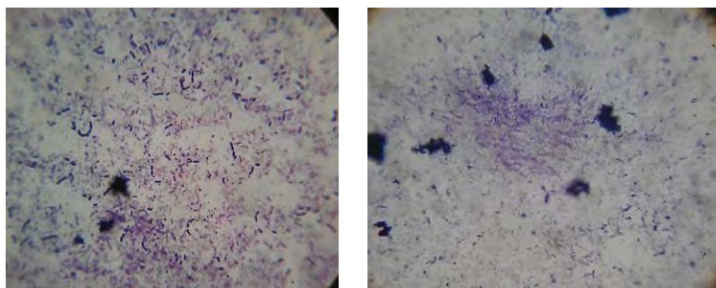


Рисунок 2 – Окраска выделенных изолятов по Граму

По результатам теста на оксидазу наблюдали отсутствие изменения цвета фильтровальной бумаги, что ясно указывает на то, что все изоляты были отрицательными по оксидазе.

Образование пузырьков газа свидетельствовало, что изоляты были положительными по каталазе.

Результаты теста на индол не показали видимых изменений в растворе, все исследованные изоляты оставались неизменными после инкубации, что указывает на то, что все изоляты были отрицательными по индолу.

В тесте MR-VP изоляты показали противоположный результат, произошло изменение цвета среды у некоторых исследуемых изолятов.

Часть выделенных изолятов производили кислоту и газ в растворе глюкозы, без образования кислоты в сахарозе и без видимых изменений в растворе лактозы. Для других не было никаких видимых изменений в растворе глюкозы, в растворе сахарозы он производит только кислоту без газа, а в растворе лактозы результат положительный. У части изолятов в растворе глюкозы образовывалась только кислота при изменении цвета, в то время как газ не образовывался,

в растворе сахарозы и кислота, и газ, образующиеся при изменении цвета, и лактоза оставались неизменными.

Тест на подвижность для всех исследуемых изолятов показал отрицательный результат.

Помимо описанных был проведен тест на определение вырабатки бактериями ферментов нитратредуктазы и нитритредуктазы. Не все изученные изоляты обладали способностью продуцировать ферменты нитратредуктазы и нитритредуктазы.

Культивирование на среде, содержащей обезжиренное молоко, использовали для определения продукции протеаз/казеаз, которые расщепляют казеин до растворимых пептидов. Прозрачная зона указывала на способность изолятов продуцировать протеазы/казеазы и растворимые пептиды, которые затем могли быть использованы бактериями.

Выделенные бактерии были способны продуцировать лецитиназы (ферменты, выделяемые бактериями, которые обладают способностью разрушать ткани животных). Колонии в агаре из яичного желтка показали, что все изоляты были положительными в этом тесте.

Всего по итогам проведенных исследований было выделено 34 штамма целлюлозоразрушающих бактерий и проведено изучение их свойств с использованием различных биохимических тестов. Выделенные изоляты являлись грамотрицательными и грамположительными бактериями.

Библиографический список:

1. Балаклиец Н.И., Тагаев П.А. Экология и микроорганизмы. Х.: ХООО НЭО «ЭкоПерспектива», 2015.
2. Васильев, Д.А. Методы общей бактериологии. – Ульяновск, 2016. – 152 с.
3. 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.
4. Ившина, И. Б. Большой практикум «Микробиология»/ И.Б. Ившина – СПб. Проспект Науки, 2014.
5. Лабинская, А.С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологического исследования/А.С. Лабинская, Л.П. Блинкова, Л.П. Ещина. // – М.: «Медицина», 2004. – 261с.
6. 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.
7. 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. Мاستиленко// 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.
 8. 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.
 9. 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.
 10. 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.
 11. 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.

УДК 579

АТИПИЧНЫЕ МИКОБАКТЕРИОЗЫ

**Егорова А.А., студентка 1 курса факультета ветеринарной
медицины и биотехнологии, alina.egorova.2019@mail.ru
Научный руководитель – Пульчеровская Л.П., кандидат
биологических наук, доцент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ**

Ключевые слова: микобактерии, микобактериозы.

В статье представлен обзор по общей характеристике возбудителей атипичных микобактериозов. Приведены примеры исследования данных возбудителей.

Бактерии так же, как растения и животные, делятся на различные группы. Эти группы в медицине называют «семейства» [1]. Одним из таких семейств представлены микобактерии – болезнетворные микроорганизмы, вызывающие ряд заболеваний, в том числе и туберкулез. Другие виды микобактерий вызывают проказу (лепру) и атипичные микобактериальные инфекции. Наименование «атипичные» употребляется потому, что наиболее распространенным видом микобактерий являются их туберкулезные образцы [4,5]. Атипичные инфекции так же представляют опасность для здоровья человека, особенно для тех людей, иммунитет которых ослаблен (больные СПИД, ВИЧ-инфицированные). Кроме того, микобактерии разделяются на патогенные, представляющие опасность для человека, и сапрофиты – не угрожающие человеку.

Микобактерии – кислотоустойчивые неподвижные грамположительные палочковидные (прямые или изогнутые) бактерии, способные образовывать нитевидные и мицелиальные структуры [6]. Для них свойственно высокое содержание липидов и восков в клеточных стенках, что гарантирует устойчивость к спиртам, кислотам, щелочам, дезинфицирующим средствам, высушиванию и действию солнечных лучей, плохую окрашиваемость красителями, высокую гидрофобность, патогенность. Вместе с кислотоустойчивостью, важной чертой микобактерий является медленный рост на питательных средах, особенно микобактерий туберкулеза [7]. Еще одна особенность микобактерий – образование пигментов, часть видов образует пигмент в темноте.

Классификация микобактерий. При классификации микобактерий учитывают патогенность для человека, способность к пигментообразованию, скорость роста и способность синтезировать никотиновую кислоту (ниацин).

- По патогенности выделяют собственно патогенные (вызывающие конкретные заболевания), потенциально патогенные и сапрофитические микобактерии [2]. Патогенными для человека свойствами обладают *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *M. bovis*. Прочие виды, вызывающие поражения у человека, известны как атипичные микобактерии.

- По скорости роста выделяют быстрорастущие (дают видимый рост на 4-7-е сутки) [8], медленнорастущие (рост наблюдают через 7-10 и более дней) и не растущие на искусственных средах (*M. leprae*) виды микобактерий.

- По способности образовывать пигменты выделяют фотохромогенные (образуют пигмент на свету), скотохромогенные (образуют пигмент в темноте) и нефотохромогенные (не образуют пигмента) виды микобактерий.

Как происходит передача микобактерий? В каждом отдельном случае установить режим передачи микобактерий довольно тяжело. Атипичные микобактерии, вероятно, передаются человеку при вдыхании зараженной пыли, каплей воды или частиц почвы (например, при земляных работах) [3]. Передача микобактерий от человека к человеку происходит крайне редко. Исключения составляют люди с ослабленным иммунитетом, риск инфицирования которых в несколько раз выше, нежели у здорового человека [9]. Собственно поэтому ограничивать контакты с больным, являющимся носителем микобактериальной инфекции, нет необходимости, если состояние здоровья контактирующего в норме. Локализованные очаги микобактерий дают медикам и ветеринарным специалистам основание предполагать, что некоторые источники могут представлять опасность заражения на протяжении многих лет [10]. За исключением инфекции, вызываемой бактерией *M. Marinum*, атипичные микобактериальные инфекции (в частности, MAC) чаще встречаются у пациентов с хроническими легочными (эмфизема, бронхоэктазы, перенесенный ранее туберкулез) или респираторными заболеваниями или ослабленным иммунитетом.

Библиографический список:

1. Ефрейторова Е.О. индикация и идентификация бактерий вида *Serratia marcescens*, в водопроводной воде хозяйственно-питьевого водоснабжения/ Е.О.Ефрейторова, Л.П. Пульчеровская, Д.А. Васильев, С.Н.Золотухин //Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы VI Международной научно-практической конференции. – Ульяновск. – 2015. – С. 68-70.
2. Пульчеровская Л.П. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *Citrobacter* и их применение в диагностике: 03.02.03 – Микробиология: автореф. дисс. ... канд. биолог. наук. / Л.П. Пульчеровская. – Саратов, 2004 – 20 с.
3. Efreitorova E.O. INDICATION OF CITROBACTER BACTERIAS IN THE ENVIRONMENT USING BACTERIOPHAGES IN THE PHAGE TITER INCREASE REACTION/ E.O. Efreitorova, L.P. Pulcherovskaya //Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences. – 2016. – № 10 (58). – С. 190-193.
4. Пульчеровская Л.П. Выделение бактерий рода *Citrobacter*/ Л.П. Пульчеровская, Д.А.Васильев, С.Н. Золотухин// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. – № 3 (39). – С. 83.
5. Шапирова Д.Р. Микробиологическое исследование орхидей с признаками бактериальной гнили/ Д.Р.Шапирова, А.Р. Зиятдинова, Е.Д. Ценева, Е.О. Ефрейторова, Г.Р. Садртдинова, Л.П. Пульчеровская, Н.Н. Карамышева, Д.Г. Сверкалова //Студенческий научный форум – 2016: материалы VIII Международной студенческой электронной научной конференции. электронное издание. – 2016.
6. Ахметова В.В. Показатели тканевого метаболизма организма животных на фоне цитратцеолитовой добавки/ В.В.Ахметова, А.З. Мухитов, Л.П. Пульчеровская// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – № 4 (44). – С. 118-122.
7. Цапалина Е.В. антибиотикорезистентность бактерий рода *Citrobacter*/ Е.В. Цапалина, Л.П.Пульчеровская, С.Н. Золотухин //СТУДЕНЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ – 2014: материалы VI Международной студенческой электронной научной конференции: Электронное издание. – 2014.
8. Пульчеровская Л.П. Методы индикации и идентификации бактерий рода *Citrobacter* в воде открытых водоемов//Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: Материалы Международной научно-практической конференции. – Ульяновск. – 2009. – С. 87-90.
9. Садртдинова Г.Р. Оценка качества внешней среды методом выделения из неё фагов/ Г.Р. Садртдинова, Л.П. Пульчеровская, Д.А. Васильев,

- С.Н.Золотухин //Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем.: материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Киров. – 2016. – С. 221-225.
10. Бактериофаги рода *Citrobacter*/ Д.А. Васильев, Л.П. Пульчеровская, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2017. – № 3 (39). – С. 40.

ATYPICAL MYCOBACTERIOSIS

Egorova A. A.

Key words: *mycobacteria, mycobacteriosis.*

The article presents an overview of the general characteristics of pathogens of atypical mycobacteriosis. Examples of the study of these pathogens are given.