

43. Композиція штамів з високою целюлозолітичною активністю

Лілія Авдєєва

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Микита Разгородін

Національний університет харчових технологій

Вступ: На сьогодні актуальною проблемою сільського господарства є утилізація целюлозовмісних рослинних залишків [2]. Один із способів вирішення цієї проблеми – використання біопрепаратів для деструкції целюлози. З цією метою використовують препарати переважно на основі мікроскопічних грибів. Однак перспективними для створення препаратів-деструкторів вважаються бактерії роду *Bacillus*, які в більшості своїй непатогенні для теплокровних тварин, технологічні у виробництві, стабільні при зберіганні, характеризуються високою антагоністичною активністю щодо умовно патогенних і патогенних мікроорганізмів, а також проявляють целюлозолітичну, ксиланолітичну та пектинолітичну активності [3]. Поєднання всіх цих активностей в одному препараті дасть змогу більш активно розкладати рослинні рештки, що буде сприяти покращенню родючості ґрунтів.

Метою нашої роботи був підбір штамів бацил перспективних для створення на їх основі композиційного препарату для утилізації поживних залишків.

Матеріали і методи: Об'єктом дослідження слугувало 18 штамів бактерій роду *Bacillus*, відібраних в результаті первинного скринінгу у відділі антибіотиків Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України, як найбільш активні за целюлозолітичною активністю. Бактерії роду *Bacillus* культивували на середовищі наступного складу (г/л): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 1,4; K_2HPO_4 – 6,0; KH_2PO_4 – 2,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; целюлоза – 5,0; pH – $7,0 \pm 0,2$. Штами культивували при 37°C упродовж 72 год на качалці при 200 об/хв. При дослідженні гідролітичної активності штамів використовували вище наведене середовище з додаванням 1 г рослинних решток (соломи, кукурудзи, соняшнику). Кількість редуруючих речовин, що утворилися, визначали методом Шомоді-Нельсона [1]. Білок визначали методом

Бредфорда [1]. Антагоністичну активність – методом перпендикулярних штрихів. Безпеку штамів бацил для теплокровних досліджували на білих мишах лінії Balb/c загальноприйнятими методами.

Результати: Нами було показано, що найбільшу питому целюлозолітичну активність мали штами *B. licheniformis* A 6/2 і *B. licheniformis* B-5510. Слід зазначити, що штам *B. licheniformis* A 6/2 мав високу ксиланолітичну активність, яка становила 0,87 мг глюкози/мг білку. Відсутність взаємного антагонізму у досліджуваних штамів бацил дозволило припустити можливість створення на їх основі біопрепарат для утилізації поживних решток, у якому поєднуються ксиланолітична та целюлозолітична активності, що дозволить більш повно здійснити розкладання рослинних залишків, в яких, в більшості випадків, целюлоза тісно зв'язана з ксиланом.

При відборі мікроорганізмів, на основі яких надалі буде створений біопрепарат, особлива увага приділяється їх безпеці для теплокровних тварин. Нами не встановлено летальні дози досліджуваних штамів бацил, оскільки LD для мишей при пероральному і внутрішньочеревинному введенні суспензій штамів *B. licheniformis* A

6/2 і *B. licheniformis* В-5510 перевищували 15 і 2,5 млрд. клітин/миш відповідно. Тобто не було відмічено випадків захворювання або загибелі мишей.

Дослідження ефективності композиції штамів *B. licheniformis* А 6/2 і *B. licheniformis* В-5510 у співвідношенні 1:1 при розкладанні целюлозовмісних матеріалів показало, що розкладання пшеничної соломи, кукурудзи і соняшнику відбувається на 38-45 % упродовж 10 днів, що свідчить про високу ефективність даної композиції.

Висновки: Таким чином, нами були відібрані штами *B. licheniformis* А 6/2 і *B. licheniformis* В-5510, перспективні для створення композиції для утилізації поживних залишків на їх основі. Досліджувані штами характеризувалися високою целюлозолітичною активністю і є непатогенними для теплокровних тварин.

Література

1. Варбанець Л. Д., Борзова Н. В. Глікозидази мікроорганізмів і методи їх дослідження. – Київ: Наук. Думка. – 2010. – 439 с.
2. Li X., Yang H., Roy B., Wang D., Yue W., Jiang L., Park E.Y., Miao Y. The most stirring technology in future: cellulase enzyme and biomass utilization // Afr. J. Biotechnol. – 2009. – V. 8, № 11. – P. 2418–2422.
3. Xiao Z.R., Lin H.H., Yin L.J. Purification and characterization of a cellulase from *Bacillus subtilis* YJ1 // J. Marine. Sci. Technol. – 2010. – V. 18, №3. – P. 466–471.