

УДК 579.64

Морфологические, культуральные и физиолого-биохимические свойства микроорганизмов — потенциальных продуцентов ксиланаз

Д-р техн. наук Л. С. ДЫШЛЮК, канд. биол. наук О. В. КАЗИМИРЧЕНКО,

д-р техн. наук Е. В. УЛЬРИХ¹, канд. техн. наук С. В. АГАФОНОВА

Калининградский государственный технический университет

¹E-mail: elen.ulrich@mail.ru

В последнее десятилетие активно изучаются свойства ксиланолитических ферментов, которые используются в производстве целлюлозы и бумаги, кормов для сельскохозяйственных животных, а также продуктов питания и напитков (в частности, пребиотических компонентов). Целью данной работы являлась идентификация по морфологическим, культуральным, тинкториальным и физиолого-биохимическим свойствам микроорганизмов, выделенных из растительного сырья и представляющих интерес с точки зрения возможности продуцировать ксиланазы. Из микрофлоры лигноцеллюлозного сырья, собранного в Калининградской области, выделены изоляты бактерий и плесневых грибов, которые можно рассматривать как перспективные продуценты ферментов ксиланолитического действия. Из микрофлоры семян люпина белого выделены четыре бактериальных изолята *Bacillus megaterium*, *B.adius*, *B. mesentericus*, *B. lentus*; из оболочек семян люпина белого — пять бактериальных изолятов *B. brevis*, *B. firmus*, *B. megaterium*, *B. sp.*, *B. mycoides* и один изолят плесневого гриба *Penicillium glaucum*; из семян конского каштана — два изолята бактерий *B. pumilus*, *B. mycoides* и один изолят микромицета *Penicillium glaucum*; из соевой оболочки — четыре бактериальных изолята *B. mesentericus*, *B. sphaericus*, *B. stearothermophilus* и *Staphylococcus saprophyticus*. Сравнение полученных результатов с литературными данными позволяет предположить наличие у выделенных бактерий и микроскопических грибов способности продуцировать ферменты ксиланолитического действия, которая будет оцениваться в дальнейших исследованиях.

Ключевые слова: ксилан, ксиланолитические ферменты, микроорганизмы — продуценты, микрофлора лигноцеллюлозного сырья, бактерии, плесневые грибы.

Информация о статье:

Поступила в редакцию 03.08.2023, одобрена после рецензирования 25.08.2023, принята к печати 15.09.2023

DOI: 10.17586/1606-4313-2023-22-4-79-90

Язык статьи — русский

Для цитирования:

Дышлюк Л. С., Казимирченко О. В., Ульрих Е. В., Агафонова С. В. Морфологические, культуральные и физиолого-биохимические свойства микроорганизмов — потенциальных продуцентов ксиланаз. // Вестник Международной академии холода. 2023. № 4. С. 79–90. DOI: 10.17586/1606-4313-2023-22-4-79-90

Morphological, cultural, and biophysiochemical characteristics of microorganisms — potential producers of xylanase

D. Sc. L. S. DYSHLYUK, Ph. D. O. V. KAZIMIRCHENKO, D. Sc. E. V. ULRICH¹, Ph. D. S. V. AGAFONOVA

Kaliningrad State Technical University

¹E-mail: elen.ulrich@mail.ru

In the last decade, the properties of xylanolytic enzymes, which are used in the production of cellulose and paper, feed for farm animals, as well as food and beverages (in particular, prebiotic components), have been actively studied. The purpose of this work was to identify microorganisms isolated from plant materials and of interest in terms of the ability to produce xylanases by their morphological, cultural, tinctorial, and biophysiochemical properties. From the microflora of lignocellulosic raw materials collected in the Kaliningrad region, isolates of bacteria and mold fungi were isolated, which can be considered as promising producers of xylanolytic enzymes. Four bacterial isolates of *Bacillus megaterium*, *B.adius*, *B. mesentericus*, and *B. lentus* were isolated from the microflora of white lupine seeds; five bacterial isolates of *B. brevis*, *B. firmus*, *B. megaterium*, *B. sp.*, *B. mycoides* and one isolate of the fungus *Penicillium glaucum* — from seed hulls of white lupine; two isolates of bacteria *B. pumilus*, *B. mycoides* and one isolate of micromycete *Penicillium glaucum* — from horse chestnut seeds; four bacterial isolates of *B. mesentericus*, *B. sphaericus*, *B. stearothermophilus* and *Staphylococcus saprophyticus* — from soybean hulls. Comparison of the results obtained with the literature data suggests that the isolated bacteria and microscopic fungi have the ability to produce xylanolytic enzymes, which will be evaluated in further studies.

Keywords: xylan, xylanolytic enzymes, microorganism-producers, microflora of lignocellulosic raw materials, bacteria, mold fungi.

Article info:

Received 03/08/2023, approved after reviewing 25/08/2023, accepted 15/09/2023

DOI: 10.17586/1606-4313-2023-22-4-79-90

Article in Russian

For citation:

Dyshlyuk L. S., Kazimirchenko O. V., Ulrikh E. V., Agafonova S. V. Morphological, cultural, and biophysicochemical characteristics of microorganisms — potential producers of xylanase. *Journal of International Academy of Refrigeration*. 2023. No 4. p. 79–90. DOI: 10.17586/1606-4313-2023-22-4-79-90

Введение

Ксилан представляет собой сложный гетерополимер с гомополимерной основной цепью 1,4-связанных звеньев β -D-ксилопиранозы и O-ацетил, α -L-арабинофуранозил, α -1,2-связанными глюкуроновыми или 4-о-метилглюкуроновыми заместителями [1]. Необходимо несколько гидролитических ферментов, чтобы разрушить сложную структуру ксилана. Среди наиболее важных ферментов следует отметить эндо-1,4- α -D-ксилазазу (ЕС 3.2.1.8), β -D-ксилозидазу (ЕС 3.2.1.37), α -L-арабинофуранозидазу (ЕС 3.2.1.55), α -D-глюкуронидазу и ацетилксилазазу (ЕС 3.1.1.6). Ферментативный гидролиз ксилана сопровождается образованием ксилоолигосахаридов, ксилобиозы и ксилозы [2].

В последнее десятилетие активно изучаются свойства ксиланолитических ферментов, которые используются в производстве целлюлозы и бумаги, кормов для сельскохозяйственных животных, а также продуктов питания и напитков (в частности, пребиотических компонентов). В целлюлозно-бумажной промышленности ксиланазы используются для предварительной обработки перед отбеливанием целлюлозы и бумаги как альтернатива применению хлора. В производстве продуктов питания и напитков промышленные ксиланолитические ферменты используются для улучшения качества хлеба, осветления фруктовых соков, вин и пива [3], а также для получения ксилоолигосахаридов, обладающих пребиотическим действием [4].

Поиск продуцентов ксиланаз представляет собой перспективную задачу. В ряде источников сообщалось, что источники ферментов ксиланолитического действия обнаружены среди грибов, бактерий, дрожжей, морских водорослей, семян растений, ракообразных, улиток. Наибольший интерес в этом отношении представляют бактерии (термофильные, мезофильные и психрофильные) и микромицеты [5].

На данный момент интерес многих научных групп сосредоточен на выделении новых микробных продуцентов ксиланолитических ферментов из природных источников. Потенциальным сырьем для выделения таких микроорганизмов являются лигноцеллюлозные субстраты: пшеничная солома, жмых сахарного тростника, рисовая солома, рисовые и пшеничные отруби, кукурузные початки, оболочки орехов, льняная стружка и другие [6].

Учитывая вышеизложенное, скрининг бактерий и микроскопических грибов, выделенных их лигноцеллюлозного сырья, в частности агропромышленных отходов, и продуцирующих ферменты ксиланолитического действия, представляет научный и практический интерес.

Целью данной работы является выделение микроорганизмов (бактерий и плесневых грибов) из лигноцел-

люлозного сырья Калининградской обл., их идентификация по совокупности морфологических, культуральных, тинкториальных, физиолого-биохимических свойств и оценка потенциальной возможности продуцировать ксиланазы.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили образцы семян люпина белого (*Lupinus albus*, сорт «Дега»), оболочек семян люпина белого, семян каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum*), соевых оболочек не тостированных (ГК «Содружество», Калининградская обл.). Семена люпина белого и каштана конского собраны в Калининградской обл. в сентябре 2022 г.

Для выделения микроорганизмов из растительных образцов использовали метод 10-кратных разведений в стерильном физиологическом растворе, исходная навеска пробы составила 10 г. Для изучения бактериофлоры высев суспензии из соответствующих разведений пробы в объеме 1 мл осуществляли в стерильные чашки Петри с последующей их заливкой расплавленным рыбобептонным агаром. Определение микрофлоры вели по агару Сабуро с предварительным высевом суспензии из соответствующих разведений пробы в стерильные чашки Петри и последующей их заливкой питательной средой. Чашки с рыбобептонным агаром термостатировали при температуре 30 °С в течение 72 ч, чашки с агаром Сабуро — при температуре 22 °С в течение 5 сут.

Идентификацию бактерий вели по совокупности культуральных, морфологических, тинкториальных и физиолого-биохимических признаков [7].

При описании культуральных признаков бактерий на рыбобептонном агаре отмечали форму колоний, поверхность, оптические свойства, цвет, профиль, край. Для накопления биомассы бактерий с целью их дальнейшего изучения колонии пересевали на поверхность скошенного рыбобептонного агара с последующим термостатированием при температуре 37 °С в течение 24 ч.

Морфологические (форма клеток, их взаимное расположение, наличие споры) и тинкториальные (тип клеточной стенки) признаки бактерий изучали при микроскопии препаратов, окрашенных по методу Грама. Окрашенные мазки микроскопировали с использованием иммерсионного объектива микроскопа ($\times 100$).

Физиологические признаки бактерий (тип дыхания, подвижность) устанавливали по росту культур в полужидком агаре, биохимическую активность — по росту на дифференциально-диагностических питательных средах.

Каталазную активность бактерий изучали экспресс-методом с внесением культуры бактерий в 3 %-ный раствор перекиси водорода. Углеводную активность

бактерий определяли на средах Гисса с глюкозой, арабинозой, ксилозой, лактозой, маннитом, среде Хью — Лейфсона. Для определения способности бактерий *дезаминировать фенилаланин* использовали скошенный агар с добавлением фенилаланина. Бактерии, обладающие ферментом фенилаланиндеаминазой, меняли цвет культуры на зеленый после внесения 10 %-ного раствора хлорида железа по скошенной части питательной среды.

Для определения способности бактерий *образовать ацетилметилкарбинол* (тест Фогеса — Проскауэра) использовали среду Кларка, после термостирования посевов в среду с культурой добавляли 1 мл 16 %-ного раствора едкого калия и 0,5 мл 6 %-ного спиртового раствора α -нафтола. Появление вишневого цвета кольца в верхней части среды указывало на положительную реакцию.

Образование индола учитывали по розовому окрашиванию фильтровальной бумаги, пропитанной 12 %-ным раствором щавелевой кислоты. Фильтровальную бумагу подвешивали под пробку пробирки с рыбопептонным бульоном и внесенной культурой бактерий.

Дегидролазную активность по аргинину учитывали на жидкой среде с аргинином под слоем вазелинового масла по изменению цвета среды после термостатирования посевов.

Денитрифицирующую способность бактерий определяли по питательному бульону с нитратом калия. После термостатирования посевов проводили качественную реакцию: в питательную среду добавляли 0,5 мл 10 %-ной серной кислоты и смешанный раствор крахмала с йодистым калием. Коричнево-черная окраска среды свидетельствовала о наличии у бактерий фермента нитратредуктазы.

Утилизацию бактериями цитрата натрия как единственного источника углерода устанавливали по цитратному агару. Цитратположительные бактерии окрашивались в синий цвет. *Протеолитическую активность* бактерий изучали на рыбопептонном желатине. После термостатирования пробирки с посевами на 20 минут помещали в холодильник на температуру 4 °С, после чего учитывали степень разжижения желатина.

Для определения способности бактерий расти при температуре 45 °С культуры высевали на скошенный рыбопептонный агар. Рост бактерий в солевом бульоне с добавлением 7,5% хлорида натрия учитывали по наличию пленки на поверхности среды, помутнению среды и образованию осадка.

Идентификацию выделенных бактерий проводили по определителям [8].

Определение плесневых грибов проводили по культуральным и морфологическим признакам. При изучении культуральных признаков учитывали характер мицелия, его цвет, при изучении морфологических признаков — характер гиф мицелия (наличие или отсутствие септ), спороношение. Идентификацию плесневых грибов вели по определителям [9, 10].

Результаты и их обсуждение

Результаты выделения изолятов бактерий и микроскопических грибов из лигноцеллюлозного сырья, собранного в Калининградской обл., приведены в табл. 1.

Из микрофлоры семян люпина белого выделены 4 бактериальных изолята, идентификацию которых про-

водили на основе результатов изучения совокупности свойств: культуральных, морфологических, тинкториальных, физиолого-биохимических. Плесневые грибы не обнаружены. Результаты изучения культуральных, морфологических и тинкториальных признаков выделенных бактериальных культур отражены в табл. 2.

Согласно данным табл. 2, все выделенные бактерии представляют собой грамположительные палочки различной длины и толщины. В зависимости от взаимного расположения клеток выявлены моно- и диплобактерии (изоляты 2 и 3), а также стрептобактерии (изоляты 1 и 4). Все изолированные бактерии относятся к спорообразующим. Изоляты 1, 3 и 4 при росте на рыбопептонном агаре формируют плоские колонии круглой формы диаметром от 8 до 20 мм, изолят 2 — плоские колонии овальной формы диаметром 10 мм. Цвет колоний — грязно-белый, бежевый, бледно-желтый и молочный, соответственно, для изолятов 1, 2, 3 и 4.

Простота внешней формы бактерий и строения их клетки делает классификацию по морфологическим признакам затруднительной. Поэтому физиолого-биохимические признаки занимают важное место при классификации микроорганизмов. Физиолого-биохимические свойства микроорганизмов свидетельствуют об их приспособленности к различным факторам среды. Свойство сбраживать различные углеводы, включая сахара, спирты и органические кислоты лежит в основе отличительных признаков при идентификации бактерий. Физиолого-биохимические признаки бактерий, выделенных из семян люпина белого, приведены в табл. 3–5.

Анализируя данные табл. 3, сделан вывод о том, что все изучаемые бактериальные изоляты являются подвижными, проявляют каталазную активность, по типу дыхания — факультативные анаэробы. Протеолитическая активность всех изолированных бактерий проявляется в способности разжижать желатин. Способность к образованию индола не продемонстрировал ни один из тестируемых изолятов. К образованию сероводорода способен только изолят 3.

В соответствии с табл. 4, все изоляты, за исключением изолята 2, ферментируют глюкозу. Все четыре изолята не сбраживают арабинозу и маннит, а также не способны образовывать ацетилметилкарбинол. Для изолятов 1 и 3 показана способность метаболизировать ксилозу

Таблица 1
Количество изолятов микроорганизмов, выделенных из растительного сырья

Table 1
The number of microbial isolates isolated from plant material

Объект исследования	Количество изолятов бактерий	Количество изолятов микроскопических грибов
Семена люпина белого	4	0
Оболочка семян люпина белого	5	1
Семена каштана конского	2	1
Соевая оболочка	4	0

Таблица 2

Культуральные, морфологические и тинкториальные признаки изолятов бактерий, выделенных из семян люпина белого

Table 2

Cultural, morphological, and tinctorial characteristics of bacterial isolates isolated from white lupin seeds

Изолят	Культуральные признаки		Тинкториальные и морфологические признаки
	на рыбобептонном агаре	на скошенном рыбобептонном агаре	
Изолят 1	Колония круглой формы (диаметром 8 мм) с ровными краями, грязно-белого цвета, плоская	Сплошной рост культуры по всему скосу среды, не прозрачный, слизистый, блестящий, бело-бежевого цвета	Грам (+) палочки, моно- и диплобактерии, некоторые в цепочках по 4–8 клеток, спора субтерминальная; зрелые споры округлые
Изолят 2	Колония овальной формы (диаметром 10 мм) с ровными краями, бежевого цвета, плоская	Сплошной рост культуры по всему скосу среды, не прозрачный, слизистый, блестящий, светло-желтого цвета	Грам (+) тонкие палочки, моно- и диплобактерии, спора центральная
Изолят 3	Колония круглой формы (диаметром 20 мм) с волнистыми краями, бледно-желтого цвета, плоская	Сплошной рост культуры по всему скосу среды, по краю волнистый, не прозрачный, слизистый, блестящий, бежевого цвета	Грам (+) короткие палочки, моно- и диплобактерии, спора центральная или субтерминальная
Изолят 4	Колония круглой формы (диаметром 20 мм) с волнистыми краями, молочного цвета, плоская	Сплошной рост культуры по всему скосу среды, не прозрачный, слизистый, грязно-белого цвета	Грам (+) короткие толстые палочки, моно-, дипло- или стрептобактерии, спора субтерминальная; зрелые споры округлые

Таблица 3

Подвижность, тип дыхания, каталазная, протеолитическая активность изолятов бактерий, выделенных из семян люпина белого

Table 3

Motility, respiratory pattern, catalase, and proteolytic activity of bacterial isolates isolated from white lupin seeds

Изолят	Подвижность	Тип дыхания	Наличие фермента каталазы	Протеолитическая активность		
				Разжижение желатина	Образование индола	Образование сероводорода
Изолят 1	+	факультативные анаэробы	+	+	–	–
Изолят 2	+	факультативные анаэробы	+	+	–	–
Изолят 3	+	факультативные анаэробы	+	+	–	+
Изолят 4	+	факультативные анаэробы	+	+	–	–

Таблица 4

Активность по углеводам и манниту изолятов бактерий, выделенных из семян люпина белого

Table 4

Carbohydrate and mannitol activity of bacterial isolates isolated from white lupin seeds

Изолят	Глюкоза	Способность к образованию ацетилметилкарбинола (реакция Фогеса — Проскауэра)	Арабиноза	Ксилоза	Маннит
Изолят 1	+	–	–	+	–
Изолят 2	–	–	–	–	–
Изолят 3	+	–	–	+	–
Изолят 4	+	–	–	–	–

Таблица 5

Денитрифицирующая активность изолятов бактерий, выделенных из семян люпина белого, использование фенилаланина и цитрата натрия, способность к росту в солевом бульоне

Table 5

Denitrifying activity of bacterial isolates isolated from white lupin seeds, the use of phenylalanine and sodium citrate, and growth ability in salt broth

Изолят	Ферментативная активность			Характер роста культуры в солевом бульоне		
	Нитратредуктаза	Фенилаланин-дезаминаза	Использование цитрата натрия	Пленка	Помутнение среды	Осадок
Изолят 1	–	+	+	–	–	–
Изолят 2	–	–	–	–	–	–
Изолят 3	–	+	–	–	–	–
Изолят 4	–	+	–	–	–	–

Таблица 6

Культуральные, морфологические и тинкториальные признаки изолятов бактерий, выделенных из оболочек семян люпина белого

Table 6

Cultural, morphological, and tinctorial characteristics of bacterial isolates isolated from the hulls of white lupin seeds

Изолят	Культуральные признаки		Тинкториальные и морфологические признаки
	на рыбобептонном агаре	на скошенном рыбобептонном агаре	
Изолят 1	Колония круглой формы (диаметром 8 мм) с ровными краями, желтого цвета, плоская	Сплошной рост культуры по всему скосу среды, полупрозрачный, слизистый, с голубым оттенком, блестящий, бежевого цвета	Грам (+) или грам (—) тонкие палочки, моно- и диплобактерии, спора центральная в раздутом спорангии
Изолят 2	Колония круглой формы (диаметром 16 мм) с волнистыми краями, грязно-белого цвета, радиально исчерченная, центр морщинистый	Сплошной рост культуры по всему скосу среды, не прозрачный, слизистый, грязно-белого цвета	Грам (+) короткие палочки с закругленными концами, монобактерии, спора центральная или терминальная
Изолят 3	Колония круглой формы (диаметром 20 мм) с волнистыми краями, молочного цвета, плоская	Сплошной рост культуры по всему скосу среды, не прозрачный, слизистый, блестящий, грязно-белого цвета	Грам (+) короткие утолщенные палочки, моно- и стрептобактерии, спора центральная или субтерминальная; зрелые споры округлые
Изолят 4	Колония круглой формы (диаметром 2 мм) с волнистыми краями, серо-белого цвета, морщинистая	Сплошной рост культуры по всему скосу среды, не прозрачный, слизистый, серо-белого цвета	Грам (+) короткие палочки, монобактерии, спора центральная
Изолят 5	Колония ризонидная, распространяющаяся по среде в виде нитей, с шероховатой поверхностью, грязно-белого цвета	Сплошной рост культуры по всему скосу среды, не прозрачный, слизистый, бело-серого цвета	Грам (+) палочки с закругленными концами, моно- и диплобактерии, спора центральная; зрелые споры овальной формы

Таблица 7

Подвижность, тип дыхания, каталазная, протеолитическая активность изолятов бактерий, выделенных из оболочек семян люпина белого

Table 7

Motility, respiratory pattern, catalase, and proteolytic activity of bacterial isolates isolated from the hulls of white lupin seeds

Изолят	Подвижность	Тип дыхания	Наличие фермента каталазы	Протеолитическая активность		
				Разжижение желатина	Образование индола	Образование сероводорода
Изолят 1	+	факультативные анаэробы	+	—	—	—
Изолят 2	+	факультативные анаэробы	+	+	—	—
Изолят 3	+	факультативные анаэробы	+	+	—	—
Изолят 4	+	факультативные анаэробы	—	+	—	—
Изолят 5	+	факультативные анаэробы	—	+	—	—

Таблица 8

Активность по углеводам и манниту изолятов бактерий, выделенных из оболочек семян люпина белого

Table 8

Carbohydrate and mannitol activity of bacterial isolates isolated from the hulls of white lupin seeds

Изолят	Глюкоза	Способность к образованию ацетилметилкарбинола (реакция Фогеса — Проскауэра)	Арабиноза	Ксилоза	Маннит
Изолят 1	+	—	—	+	—
Изолят 2	+	—	—	—	—
Изолят 3	+	—	—	—	—
Изолят 4	—	—	—	—	—
Изолят 5	+	+	—	—	—

в процессе жизнедеятельности, в то время как изоляты 2 и 4 такой способностью не обладают.

Как показывают результаты, представленные в табл. 5, все бактериальные изоляты, выделенные из семян белого люпина, не способны расти в солевом бульоне (7,5% хлористого натрия) и не обладают денитрифи-

цирующей способностью. Цитрат натрия как единственный источник углерода может использовать только изолят 1. Наконец, способность дезаминировать фенилаланин проявляют изоляты 1, 3 и 4.

Совокупный анализ культуральных, морфологических, тинкториальных, физиолого-биохимических при-

знаков бактериальных изолятов, выделенных из семян белого люпина, дает основания идентифицировать их как бактерии рода *Bacillus* семейства *Bacillaceae* (*Firmicutes*), относящиеся к видам *B. megaterium* (изолят 1), *B.adius* (изолят 2), *B. mesentericus* (изолят 3), *B. lentus* (изолят 4).

Из микрофлоры оболочек семян люпина белого удалось выделить 5 бактериальных изолятов и 1 изолят микроскопических грибов. Экспериментальные результаты изучения свойств изолятов бактерий приведены в табл. 6–9.

Как следует из табл. 6, изоляты 1–4 при росте на рыбобептонном агаре образуют круглые колонии диаметром от 2 до 20 мм с волнистыми или ровными краями, желтого, грязно-белого, молочного или серо-белого цвета. Бактериальный изолят 5 формирует ризоидные колонии с шероховатой поверхностью, грязно-белого цвета. Все выделенные изоляты по строению клеточной стенки относятся к грамположительным (в случае изолята 1 представлены как грамположительные, так и грамотрицательные формы) палочкам. Изоляты 1 и 5 представлены моно- и диплобактериями, изоляты 2 и 4 — одиночными клетками, изолят 3 — моно- и стрептобактериями. Все изучаемые изоляты являются спорообразующими.

Анализируя данные табл. 7, пришли к выводу, что по типу катаболизма все тестируемые изоляты принадлежат к группе факультативных анаэробов и являются подвижными. Фермент каталазу продуцируют только изоляты 1–3, для изолятов 4 и 5 каталазная активность не выявлена. Все изоляты, кроме изолята 1, проявляют протеолитическую активность в части способности к разжижению желатина. Свойство образовывать индол и сероводород не продемонстрировано ни для одного из выделенных изолятов.

Что касается способности ферментировать углеводы, бактериальные изоляты 1, 2, 3 и 5 способны усваивать глюкозу, изолят 4 такой способности не проявляет. Изолят 5 в процессе метаболизма продуцирует ацетилметилкарбинол, для изолятов 1–4 такое свойство не установлено. Арабинозу и маннит не сбраживает ни один из пяти изолятов. Способностью метаболизировать ксилузу характеризуется только изолят 1 (см. табл. 8).

Согласно данным табл. 9, ни один из изучаемых изолятов бактерий не способен расти в солевом бульоне. Денитрифицирующая способность отмечена для изолятов 2 и 5, способность дезаминировать фенилаланин — для изолята 3, способность использовать цитрат натрия в качестве единственного источника углерода — для изолятов 1 и 5.

Совокупный анализ культуральных, морфологических, тинкториальных, физиолого-биохимических признаков бактериальных изолятов, выделенных из оболочек семян белого люпина, позволил идентифицировать их как бактерии рода *Bacillus* семейства *Bacillaceae* (*Firmicutes*), а именно *B. brevis* (изолят 1), *B. firmus* (изолят 2), *B. megaterium* (изолят 3), *B. sp.* (изолят 4), *B. mycoides* (изолят 5).

Кроме бактериальных изолятов, из данного растительного сырья также выделен изолят микроскопического гриба, по характерным культуральным и морфологическим признакам (табл. 10) отнесенный к виду *Penicillium glaucum*.

Эксперименты по выделению микроорганизмов из семян каштана конского позволили получить 2 изолята бактерий и 1 изолят плесневого гриба.

В табл. 11 описаны культуральные, морфологические и тинкториальные признаки бактериальных изолятов.

Данные табл. 11 свидетельствуют о том, что морфологически оба выделенных изолята представляют собой

Таблица 9

Денитрифицирующая активность изолятов бактерий, выделенных из оболочек семян люпина белого, использование фенилаланина и цитрата натрия, способность к росту в солевом бульоне

Table 9

Denitrifying activity of bacterial isolates isolated from the hulls of white lupin seeds, the use of phenylalanine and sodium citrate, and growth ability in salt broth

Изолят	Ферментативная активность			Характер роста культуры в солевом бульоне		
	Нитрат редуктаза	Фенилаланин дезаминаза	Использование цитрата натрия	Пленка	Помутнение среды	Осадок
Изолят 1	–	–	+	–	–	–
Изолят 2	+	–	–	–	–	–
Изолят 3	–	+	–	–	–	–
Изолят 4	–	–	–	–	–	–
Изолят 5	+	–	+	–	–	–

Таблица 10

Культуральные и морфологические признаки изолята микроскопического гриба, выделенного из оболочек семян люпина белого

Table 10

Cultural, morphological, and tinctorial characteristics of microscopic fungal isolate isolated from the hulls of white lupin seeds

Культуральные признаки колоний на агаре Сабуро	Морфологические признаки (прямая микроскопия колоний, увеличение объектива × 10)
Мицелий бархатистый, серо-зеленого цвета с желтыми крупинками, края колонии белого цвета	Гифы септированные, конидии круглой формы, располагаются цепочками в виде кисточек на конидиеносцах

палочковидные бактерии, по строению клеточной стенки — грамположительные (изолят 2) либо грамположительные совместно с грамотрицательными (изолят 1). При культивировании на рыбобептонном агаре формируются колонии круглой (изолят 1) или ризоидной формы (изолят 2), бежевого или грязно-белого цвета. По взаимному расположению клеток оба изолята представлены моно- и диплобактериями, являются спорообразующими.

Табл. 12–14 содержат описание физиолого-биохимических признаков выделенных бактериальных изолятов.

Анализ физиолого-биохимических свойств бактериальных изолятов (табл. 12–14) показал, что все изоляты реализуют свой метаболизм как по анаэробному (брожение), так и по аэробному (дыхание) пути, т. е. являются факультативными анаэробами. Оба изолята подвижны и разжижают желатин. Других видов протеолитической активности изоляты не демонстрируют. Каталазной активностью характеризуется только изолят 1. Способность образовывать ферменты фенилаланиндезаминазу и нитратредуктазу не установлена для изолятов 1 и 2 так же, как способность использовать цитрат натрия в качестве

Таблица 11

Культуральные, морфологические и тинкториальные признаки изолятов бактерий, выделенных из семян каштана конского

Table 11

Cultural, morphological, and tinctorial characteristics of bacterial isolates isolated from horse chestnut seeds

Изолят	Культуральные признаки		Тинкториальные и морфологические признаки
	на рыбобептонном агаре	на скошенном рыбобептонном агаре	
Изолят 1	Колония круглой формы (диаметром 2 мм) с волнистыми краями, бежевого цвета, плоская	Сплошной рост культуры по всему сколу среды, не прозрачный, слизистый, грязно-белого цвета	Грам (+) или грам (—) тонкие палочки, моно- и диплобактерии, спора центральная в раздутым спорангии
Изолят 2	Колония ризоидная, распространяющаяся по среде в виде нитей, с шероховатой поверхностью, грязно-белого цвета	Сплошной рост культуры по всему сколу среды, не прозрачный, слизистый, бело-серого цвета	Грам (+) палочки с закругленными концами, моно- и диплобактерии, спора центральная; зрелые споры овальной формы

Таблица 12

Подвижность, тип дыхания, каталазная, протеолитическая активность изолятов бактерий, выделенных из семян каштана конского

Table 12

Motility, respiratory pattern, catalase, and proteolytic activity of bacterial isolates isolated from horse chestnut seeds

Изолят	Подвижность	Тип дыхания	Наличие фермента каталазы	Протеолитическая активность		
				Разжижение желатина	Образование индола	Образование сероводорода
Изолят 1	+	факультативные анаэробы	+	+	—	—
Изолят 2	+	факультативные анаэробы	—	+	—	—

Таблица 13

Активность по углеводам и манниту изолятов бактерий, выделенных из семян каштана конского

Table 13

Carbohydrate and mannitol activity of bacterial isolates isolated from horse chestnut seeds

Изолят	Глюкоза	Способность к образованию ацетилметилкарбинола (реакция Фогеса-Проскауэра)	Арабиноза	Ксилоза	Маннит
Изолят 1	+	+	—	—	+
Изолят 2	+	+	—	—	—

Таблица 14

Денитрифицирующая активность изолятов бактерий, выделенных из семян каштана конского, использование фенилаланина и цитрата натрия, способность к росту в солевом бульоне

Table 14

Denitrifying activity of bacterial isolates isolated from horse chestnut seeds, the use of phenylalanine and sodium citrate, and growth ability in salt broth

Изолят	Ферментативная активность			Характер роста культуры в солевом бульоне		
	Нитрат редуктаза	Фенилаланин дезаминаза	Использование цитрата натрия	Пленка	Помутнение среды	Осадок
Изолят 1	—	—	—	—	—	+
Изолят 2	—	—	—	—	—	+

единственного источника углерода. Оба выделенных изолята способны расти в солевом бульоне (7,5% хлористого натрия), что проявилось образованием осадка (табл. 14).

По полученным результатам установлена видовая принадлежность бактерий, выделенных из семян каштана конского: изолят 1 — *Bacillus pumilus*, изолят 2 — *B. mycooides*. Бактерии относятся к семейству Bacillaceae (Firmicutes).

Также из семян каштана конского выделен и идентифицирован (табл. 15) изолят плесневого гриба — *Penicillium glaucum*.

Из соевой оболочки выделены 4 изолята бактерий, культуральные, морфологические и тинкториальные признаки которых описаны в табл. 16, физиолого-биохимические признаки — в табл. 17–21. Микроскопические грибы не обнаружены.

Согласно данным табл. 16, из соевой оболочки выделены как грамположительные палочковидные бактерии (изоляты 1–3), так и грамположительные кокки, расположенные в виде грозди винограда (изолят 4). Для изолятов 3 и 4 на рыбопептонном агаре зафиксирован сплошной рост, в то время как изоляты 1 и 2 растут отдельными колониями. Все палочковидные бактерии (изоляты 1–3) образуют споры. Изоляты 1, 3 и 4 формируют колонии круглой формы диаметром от 1 до 6 мм, изолят 2 —

колонии неправильной формы диаметром 5 мм. Цвет колоний изолятов 1–3 от серо-белого до бежевого, изолята 4 — ярко-желтый.

Из табл. 17 следует, что все изучаемые бактериальные изоляты являются факультативными анаэробами. Изоляты 1–3 подвижны, в отличие от изолята 4. Каталазная активность зафиксирована для изолятов 1 и 4. Способностью к разжижению желатина обладают изоляты 1–3.

Поскольку на основании морфологических свойств установлено присутствие среди выделенных бактерий как палочек, так и кокков (предположительно стафилококков), дальнейшие исследования их физиолого-биохимических свойств вели отдельно. Для палочковидных бактерий устанавливали активность по глюкозе, арабинозе, ксилозе, манниту, способность к образованию ацетилметилкарбинола, способность продуцировать нитратредуктазу, фенилаланиндеаминазу, использование цитрата натрия, а также характер роста в солевом бульоне (табл. 18, 19). Для шаровидных бактерий классическими тестами являются установление способности сбраживать глюкозу, маннит, лактозу, образовывать ацетилметилкарбинол, определение углеводной активности на среде Хью — Лейфсона, изучение протеолитической, денитрифицирующей активности, способности использовать аргинин, расти при температуре 45 °С и в солевом бульоне (табл. 20, 21).

Таблица 15

Культуральные и морфологические признаки изолята микроскопического гриба, выделенного из семян каштана конского

Table 15

Cultural, morphological, and tinctorial characteristics of microscopic fungal isolate isolated from horse chestnut seeds

Культуральные признаки колоний на агаре Сабуро	Морфологические признаки (прямая микроскопия колоний, увеличение объектива × 10)
Мицелий бархатистый, серо-зеленого цвета, края колонии белого цвета, нижняя часть колонии желтого цвета	Гифы септированные, конидии круглой формы, располагаются цепочками в виде кисточек на конидиеносцах

Таблица 16

Культуральные, морфологические и тинкториальные признаки изолятов бактерий, выделенных из соевой оболочки

Table 16

Cultural, morphological, and tinctorial characteristics of microscopic fungal isolate isolated from soybean hulls

Изолят	Культуральные признаки		Тинкториальные и морфологические признаки
	на рыбопептонном агаре	на скошенном рыбопептонном агаре	
Изолят 1	Колония круглой формы (диаметром 1 мм) с ровными краями, прозрачная, слизистая	Рост отдельными мелкими слизистыми колониями бежевого цвета	Грам (+) короткие палочки, монобактерии, спора центральная
Изолят 2	Колония неправильной формы (диаметром 5 мм) с волнистыми краями, бежевого цвета, слизистая	Рост отдельными колониями не правильной формы с волнистыми краями, бежевого цвета слизистые	Грам (+) короткие утолщенные палочки или коккобациллы, монобактерии, конец клетки раздувшийся; зрелые споры округлой формы
Изолят 3	Колония круглой формы (диаметром 6 мм) с ровными краями, серо-белого цвета, с матовой поверхностью	Сплошной рост культуры по всему скосу среды, не прозрачный, слизистый, серо-белого цвета	Грам (+) утолщенные короткие палочки, монобактерии или в коротких цепочках; зрелые споры овальные
Изолят 4	Колония круглой формы (диаметром 3 мм) с ровными краями, выпуклым центром, с матовой поверхностью, ярко-желтого цвета	Сплошной рост культуры по всему скосу среды, не прозрачный, слизистый, желтого цвета	Грам (+) кокки, диплококки или в виде грозди винограда (стафилококки)

Таблица 17

Подвижность, тип дыхания, каталазная, протеолитическая активность изолятов бактерий, выделенных из соевой оболочки

Table 17

Motility, respiratory pattern, catalase, and proteolytic activity of bacterial isolates isolated from soybean hulls

Изолят	Подвижность	Тип дыхания	Наличие фермента каталазы	Протеолитическая активность		
				Разжижение желатина	Образование индола	Образование сероводорода
Изолят 1	+	факультативные анаэробы	+	+	—	+
Изолят 2	+	факультативные анаэробы	—	+	—	—
Изолят 3	+	факультативные анаэробы	—	+	—	—
Изолят 4	—	факультативные анаэробы	+	—	—	—

Таблица 18

Активность по углеводам и манниту изолятов бактерий (палочки), выделенных из соевой оболочки

Table 18

Carbohydrate and mannitol activity of bacterial isolates (bacillus) isolated from soybean hulls

Изолят	Глюкоза	Способность к образованию ацетилметилкарбинола (реакция Фогеса—Проскауэра)	Арабиноза	Ксилоза	Маннит
Изолят 1	+	—	—	+	+
Изолят 2	—	—	—	—	—
Изолят 3	+	+	+	+	+

Таблица 19

Денитрифицирующая активность изолятов бактерий (палочки), выделенных из соевой оболочки, использование фенилаланина и цитрата натрия, способность к росту в солевом бульоне

Table 19

Denitrifying activity of bacterial isolates (bacillus) isolated from soybean hulls, the use of phenylalanine and sodium citrate, and growth ability in salt broth

Изолят	Ферментативная активность			Характер роста культуры в соевом бульоне		
	Нитрат редуктаза	Фенилаланин дезаминаза	Использование цитрата натрия	Пленка	Помутнение среды	Осадок
Изолят 1	+	—	—	—	+	—
Изолят 2	—	—	+	—	+	—
Изолят 3	+	—	+	+	—	—

Таблица 20

Активность по углеводам и манниту изолятов бактерий (кокки), выделенных из соевой оболочки

Table 20

Carbohydrate and mannitol activity of bacterial isolates (cocci) isolated from soybean hulls

Среда Хью — Лейфсона		Глюкоза	Способность к образованию ацетилметилкарбинола (реакция Фогеса — Проскауэра)	Маннит	Лактоза
окисление	ферментация				
+	+	+	+	—	—

Таблица 21

Протеолитическая, денитрифицирующая активность изолятов бактерий (кокки), выделенных из соевой оболочки, использование аргинина, способность к росту при температуре 45 °С и в соевом бульоне

Table 21

Proteolytic and denitrifying activity of bacterial isolates (cocci) isolated from soybean hulls, the use of arginine, growth ability at 45° C and in salt broth

Разжижение желатина	Нитрат редуктаза	Аргинин легидролза	Рост при 45 °С	Характер роста культуры в соевом бульоне		
				Пленка	Помутнение среды	Осадок
+	—	—	+	—	—	—

Бактерии и плесневые грибы, выделенные из лигноцеллюлозного сырья

Table 22

Bacteria and mold fungi isolated from lignocellulosic raw materials

Объект исследования	Виды бактерий	Виды плесневых грибов
Семена люпина белого	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus badius</i> <i>Bacillus mesentericus</i> , <i>Bacillus lentus</i>	не выделено
Оболочка семян люпина белого	<i>Bacillus brevis</i> , <i>Bacillus firmus</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>Bacillus mycoides</i>	<i>Penicillium glaucum</i>
Семена каштана конского	<i>Bacillus pumilus</i> , <i>Bacillus mycoides</i>	<i>Penicillium glaucum</i>
Соевая оболочка	<i>Bacillus mesentericus</i> , <i>Bacillus sphaericus</i> , <i>Bacillus stearothermophilus</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	не выделено

Как показывают данные табл. 18, 19, изоляты 1 и 3 ферментируют глюкозу, ксилозу и маннит. Способностью усваивать арабинозу и продуцировать ацетилметилкарбинол характеризуется только изолят 3. Фермент фенилаланиндезаминазу не образует ни один из рассматриваемых изолятов. Денитрифицирующая способность отмечена для изолятов 1 и 3. Изоляты 2 и 3 продемонстрировали способность использовать цитрат натрия в качестве единственного источника углерода. Все изоляты показали способность расти в солевом бульоне: изоляты 1 и 2 — в виде помутнения среды, изолят 3 — в виде пленки.

Согласно данным табл. 20, 21, изолят 4 ферментирует глюкозу, образует ацетилметилкарбинол, не усваивает маннит и лактозу, проявляет углеводную активность на среде Хью — Лейфсона (окисление и ферментация). Изолят 4 способен расти при температуре 45 °С, разжижать желатин (протеолитическая активность). Денитрифицирующей способностью изолят 4 не обладает, в солевом бульоне не растет.

По совокупности культуральных, морфологических, тинкториальных и физиолого-биохимических характеристик изолятов бактерий, выделенных из соевой оболочки, провели идентификацию до вида: *Bacillus mesentericus* (изолят 1), *B. sphaericus* (изолят 2), *B. stearothermophilus* (изолят 3), семейство *Bacillaceae* (Firmicutes); *Staphylococcus saprophyticus* (изолят 4), семейство *Staphylococcaceae* (Firmicutes).

Таким образом, из лигноцеллюлозного сырья, собранного в Калининградской области, выделены бактерии родов *Bacillus* и *Staphylococcus*, а также плесневые грибы рода *Penicillium* (табл. 22).

Анализ литературных данных свидетельствует о том, что изолированные из растительного сырья штаммы можно рассматривать как перспективные продуценты ферментов ксиланолитического действия. Так, продуценты ксиланаз среди микроскопических грибов рода *Penicillium*, выделенных из различных видов лигноцеллюлозного сырья, описаны в [11]. Хотя следует отметить, что грибы рода *Penicillium* являются менее изученными продуцентами ксиланаз по сравнению, например, с микросциетами *Aspergillus* и *Trichoderma*.

Что касается бактериальных продуцентов ксиланаз, для бактерий рода *Bacillus*, изолированных из различных источников, широко описана способность продуцировать ксиланолитические ферменты в процессе метаболизма [2]. В том числе, в литературе имеются сведения о таких

бактериальных продуцентах целых ферментов рода *Bacillus*, как *Bacillus sp.* [12], *Bacillus pumilus* [13], *Bacillus stearothermophilus* [14], *Bacillus firmus* [2]. В литературных источниках описаны бактерии рода *Staphylococcus*, проявившие способность продуцировать ксиланазы [15].

Немаловажным фактором при выборе продуцента ксиланолитических ферментов являются свойства получаемых ферментов. Широкое применение в промышленности получили бактериальные ксиланазы, благодаря термостабильности и устойчивости в щелочной среде. Для грибных ксиланаз, напротив, отмечен узкий диапазон pH и невысокая термостабильность, несмотря на имеющееся преимущество — высокий выход, внеклеточное продуцирование и высокая активность [6].

В настоящем исследовании показана возможность выделения из растительного сырья микроорганизмов, перспективных в качестве продуцентов ксиланаз. Последующие исследования в рамках данного направления будут сфокусированы на изучении способности бактерий и микроскопических грибов, выделенных из лигноцеллюлозного сырья Калининградской обл., продуцировать ферменты ксиланолитического действия.

Выводы

Из микрофлоры лигноцеллюлозного сырья, собранного в Калининградской области, выделены изоляты бактерий и плесневых грибов, для которых проведена видовая идентификация по совокупности морфологических, культуральных, тинкториальных и физиолого-биохимических признаков. Из семян люпина белого выделены четыре бактериальных изолята, принадлежащих роду *Bacillus* (*B. megaterium*, *B. badius*, *B. mesentericus*, *B. lentus*), из оболочек семян люпина белого — пять бактериальных изолятов рода *Bacillus* (*B. brevis*, *B. firmus*, *B. megaterium*, *B. sp.*, *B. mycoides*) и один изолят плесневого гриба (*Penicillium glaucum*). Семена конского каштана стали источником двух изолятов бактерий (*B. pumilus*, *B. mycoides*) и одного изолята микросциета (*Penicillium glaucum*). Из микрофлоры соевой оболочки изолированы три бактериальных изолята рода *Bacillus* (*B. mesentericus*, *B. sphaericus*, *B. stearothermophilus*) и один бактериальный изолят рода *Staphylococcus* (*St. saprophyticus*). Сопоставление полученных результатов с литературными данными позволяет предположить наличие у выделенных бактерий и микроскопических грибов способности продуцировать

ферменты ксиланолитического действия, которая будет оцениваться в дальнейших исследованиях. Перспективы последующих исследований в данном направлении — использование выделенных ксиланаз для получения

ксилоолигосахаридов, обладающих пребиотическими свойствами, из лигноцеллюлозного сырья.

Статья выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ, соглашение № 23-26-00091.

Литература

1. Bakry M. M., Salem S. S., Atta H. M., et al. Xylanase from thermotolerant *Bacillus haynesii* strain, synthesis, characterization, optimization using Box-Behnken Design, and biobleaching activity // *Biomass Conv. Bioref.* 2022. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03043-6>.
2. Bhardwaj N., Kumar B., Verma P. A detailed overview of xylanases: an emerging biomolecule for current and future prospective // *Bioresour. Bioprocess.* 2019. V. 6, 40. <https://doi.org/10.1186/s40643-019-0276-2>.
3. De Buck V., Polanska M., Van Impe J. Modeling biowaste biorefineries: a review // *Front. Sustain. Food Syst.* 2020. V. 4. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00011>.
4. Mano M. C. R., Neri-Numa I. A., Silva J. B., et al. Oligosaccharide biotechnology: an approach of prebiotic revolution on the industry // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2018. V. 102. P. 17–37. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8564-2>.
5. Gomes A. F. S., dos Santos B. S. L., Ransciscan E. G., Baffi M. A. Substrate and temperature effect on xylanase production by *Aspergillus fumigatus* using low-cost agricultural wastes // *Biosci J.* 2016. V. 32 (4). P. 915–921.
6. Den W., Sharma V. K., Lee M., et al. Lignocellulosic biomass transformations via greener oxidative pretreatment processes: access to energy and value-added chemicals // *Front. Chem.* 2018. V. 6. P. 1–23. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00141>.
7. Определитель бактерий Берджи. В 2 т.: Пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита. М.: Мир, 1997.
8. Пивоваров Ю. П., Королик В. В. Санитарно-значимые микроорганизмы (таксономическая характеристика и дифференциация). М.: Изд-во ИКАР, 2000. 268 с.
9. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов. М.: Мир, 2001. 467 с.
10. Кузьмина С. А. Учебный определитель по Джилмену. Калининград: КГТУ, 1985. 20 с.
11. Dhaver P., Pletschke B., Sithole B., Govinden R. Isolation, screening, preliminary optimisation and characterisation of thermostable xylanase production under submerged fermentation by fungi in Durban, South Africa // *Mycology.* 2022. V. 13 (4). P. 271–292. <https://doi.org/10.1080/21501203.2022.2079745>.
12. Gupta V., Garg S., Capalash N., et al. Production of thermo-alkali-stable laccase and xylanase by co-culturing of *Bacillus sp.* and *B. halodurans* for biobleaching of kraft pulp and deinking of waste paper // *Bioprocess Biosyst Eng.* 2015. V. 38. P. 947–956. <https://doi.org/10.1007/s00449-014-1340-0>.
13. Thomas L., Ushasree M. V., Pandey A. An alkali-thermostable xylanase from *Bacillus pumilus* functionally expressed in *Kluyveromyces lactis* and evaluation of its deinking efficiency // *Bioresour Technol.* 2014. V. 165. P. 309–313. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.037>.
14. Chakdar H., Kumar M., Pandiyan K., et al. Bacterial xylanases: biology to biotechnology. 3 *Biotech.* 2016. V. 6. Article number 150. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0457-z>.
15. Iloduba M. I., Milala M. A., Ali A. Isolation and partial characterization of crude cellulase-free xylanase from *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* for possible use in paper industry // *Int J Microbiol.* 2016. V. 3, 8.

Reference

1. Bakry M. M., Salem S. S., Atta H. M., et al. Xylanase from thermotolerant *Bacillus haynesii* strain, synthesis, characterization, optimization using Box-Behnken Design, and biobleaching activity. *Biomass Conv. Bioref.* 2022. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03043-6>.
2. Bhardwaj N., Kumar B., Verma P. A detailed overview of xylanases: an emerging biomolecule for current and future prospective. *Bioresour. Bioprocess.* 2019. V. 6, 40. <https://doi.org/10.1186/s40643-019-0276-2>.
3. De Buck V., Polanska M., Van Impe J. Modeling biowaste biorefineries: a review. *Front. Sustain. Food System.* 2020. V. 4. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00011>.
4. Mano M. C. R., Neri-Numa I. A., Silva J. B., et al. Oligosaccharide biotechnology: an approach of prebiotic revolution on the industry. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2018. V. 102. p. 17–37. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8564-2>.
5. Gomes A. F. S., dos Santos B. S. L., Ransciscan E. G., Baffi M. A. Substrate and temperature effect on xylanase production by *Aspergillus fumigatus* using low-cost agricultural wastes. *Biosci J.* 2016. V. 32 (4). p. 915–921.
6. Den W., Sharma V. K., Lee M., et al. Lignocellulosic biomass transformations via greener oxidative pretreatment processes: access to energy and value-added chemicals. *Front. Chem.* 2018. V. 6. p. 1–23. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00141>.
7. Burgey's Bacteria Determinant. In 2 volumes: Per. from English. / Ed. J. Holt, N. Krieg, P. Sneath. M.: Mir, 1997. (in Russian)
8. Pivovarov Yu. P., Korolik V. V. Sanitary-significant microorganisms (taxonomic characteristics and differentiation). M.: Publishing house IKAR, 2000. 268 p. (in Russian)
9. Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. Key to pathogenic and opportunistic fungi. M.: Mir, 2001. 467 p. (in Russian)
10. Kuzmina S. A. Educational determinant according to Gilman. Kaliningrad: KSTU, 1985. 20 p. (in Russian)
11. Dhaver P., Pletschke B., Sithole B., Govinden R. Isolation, screening, preliminary optimisation and characterization of thermostable xylanase production under submerged fermentation by fungi in Durban, South Africa. *Mycology.* 2022. V. 13 (4). p. 271–292. <https://doi.org/10.1080/21501203.2022.2079745>.
12. Gupta V., Garg S., Capalash N., et al. Production of thermo-alkali-stable laccase and xylanase by co-culturing of *Bacillus sp.* and *B. halodurans* for biobleaching of kraft pulp and deinking of waste paper. *Bioprocess Biosyst Eng.* 2015. V. 38. P. 947–956. <https://doi.org/10.1007/s00449-014-1340-0>.
13. Thomas L., Ushasree M. V., Pandey A. An alkali-thermostable xylanase from *Bacillus pumilus* functionally expressed in *Kluyveromyces lactis* and evaluation of its deinking efficiency. *Bioresour Technol.* 2014. V. 165. p. 309–313. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.037>.
14. Chakdar H., Kumar M., Pandiyan K., et al. Bacterial xylanases: biology to biotechnology. 3 *Biotech.* 2016. V. 6. Article number 150. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0457-z>.
15. Iloduba M. I., Milala M. A., Ali A. Isolation and partial characterization of crude cellulase-free xylanase from *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* for possible use in paper industry. *Int J Microbiol.* 2016. V. 3, 8.

Сведения об авторах**Дышлюк Любовь Сергеевна**

Д. т. н., доцент, профессор кафедры биотехнологии,
Калининградский государственный технический университет,
236022, пр. Советский, 1, lyubov.dyshlyuk@klgtu.ru,
ORCID 0000-0002-7333-8411

Казимирченко Оксана Владимировна

К. б. н., доцент, доцент кафедры водных биоресурсов
и аквакультуры Института рыболовства и аквакультуры,
зав. научно-исследовательской ихтиопатологической
лабораторией, Калининградский государственный
технический университет, 236022, пр. Советский, 1,
oksana.kazimirchenko@klgtu.ru,
ORCID 0009-0005-7197-0287

Ульрих Елена Викторовна

Д. т. н., доцент, профессор кафедры производства
и экспертизы качества сельскохозяйственной продукции,
Калининградский государственный технический университет,
236022, пр. Советский, 1, elen.ulrich@mail.ru,
ORCID 0000-0003-4107-7277

Агафонова Светлана Викторовна

К. т. н., доцент, доцент кафедры пищевой биотехнологии,
Калининградский государственный технический
университет, 236022, Россия, Калининград, Советский пр., 1,
svetlana.agafonova@klgtu.ru,
ORCID 0000-0002-5992-414X

Information about authors**Dyshlyuk Lyubov S.**

D. Sc., Associate Professor, Professor of the Department of
Biotechnology, Kaliningrad State Technical University, Russia
236022, Sovetsky Ave., 1, lyubov.dyshlyuk@klgtu.ru,
ORCID 0000-0002-7333-8411

Kazimirchenko Oksana V.

Ph. D., Associate Professor, Associate Professor
of the Department of Aquatic Bioresources and Aquaculture
of the Institute of Fisheries and Aquaculture, Head.
Research Ichthyopathological Laboratory, Kaliningrad State
Technical University, Russia 236022, Sovetsky Ave., 1,
oksana.kazimirchenko@klgtu.ru,
ORCID 0009-0005-7197-0287

Ulrikh Elena V.

D. Sc., Associate Professor, Professor of the Department of
Production and Quality Assurance of Agricultural Products,
Kaliningrad State Technical University, Russia 236022,
Sovetsky Ave., 1, elen.ulrich@mail.ru,
ORCID 0000-0003-4107-7277

Agafonova Svetlana V.

Ph. D., Associate Professor Associate Professor of the Food
Biotechnology Department of Kaliningrad State Technical
University, Russia 236022, Kaliningrad, Soviet Avenue, 1,
svetlana.agafonova@klgtu.ru,
ORCID 0000-0002-5992-414X



Статья доступна по лицензии
Creative Commons «Attribution-NonCommercial»



28 февраля – 01 марта 2024 года

«Интерагромаш» & «Агротехнологии» – это выставка, направленная на демонстрацию сельскохозяйственной техники, оборудования и материалов для производства и переработки сельхозпродукции.

РАЗДЕЛЫ ВЫСТАВКИ «ИНТЕРАГРОМАШ»:

- Сельскохозяйственная техника и запчасти
- Автоматизация

РАЗДЕЛЫ ВЫСТАВКИ «АГРОТЕХНОЛОГИИ»:

- Растениеводство
- Оборудование для хранения и переработки сельхозпродукции
- Животноводство
- Оборудование для животноводства
- Услуги для АПК

Организатор:

КВЦ «ДонЭкспоцентр»
тел.: (863) 268-77-68

Место проведения:

КВЦ «ДонЭкспоцентр»
г. Ростов-на-Дону, пр. М. Нагибина, 30

Руководитель проекта – Жадан Ольга

тел.: 8-863-268-77-86
моб: 8-918-544-41-20
e-mail: master@donexpocentre.ru

<http://www.interagromash.net/index.html>