

СКРИНИНГ МИКРООРГАНИЗМОВ – ПРОДУЦЕНТОВ КОМПЛЕКСА ЭКЗОГИДРОЛАЗ, КАТАЛИЗИРУЮЩИХ РАСЩЕПЛЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ БИОПОЛИМЕРОВ

САПУНОВА Леонида Ивановна, к.б.н., доцент, главный научный сотрудник

ТАМКОВИЧ Ирина Олеговна, к.б.н., старший научный сотрудник

ЛОБАНЮК Анатолий Георгиевич, академик, заведующий лабораторией

КУЛИШ Светлана Анатольевна, старший научный сотрудник

Институт микробиологии НАН Беларуси

Устойчивая мировая тенденция к увеличению объемов потребления продукции животноводства при сокращении производства кормов и роста цен на них неизбежно ведет к увеличению затрат в комбикормовой и, как следствие, в пищевой промышленности, а также обуславливает возрастание роли кормовых добавок, в т.ч. ферментов, в животноводстве и птицеводстве.

Известно, что комбикорма растительного происхождения содержат так называемые антипитательные вещества – целлюлозы, гемицеллюлозы, в т.ч. бета-глюканы и пентозаны, лигнины, фитат, пектины и др., которые плохо усваиваются организмом животных и птицы. Как следствие, снижается их продуктивность, повышается расход кормов, в рационах возрастает удельный вес зернофуража, что влечет за собой, удорожание животноводческой продукции, снижение ее количества, качества и конкурентоспособности.

Введение в рационы животных экзогенных деполимераз позволяет в качестве ингредиентов комбикормов использовать разнообразное растительное сырье, включая дешевые отходы его переработки – жмыхи и шроты подсолнечника, рапса, сои, гороха, нута, отруби, свекловичный жом, спиртовую барду, пивную дробину и т.п. Это повышает питательную ценность и усвояемость кормов, снижает их расход, нормализует микробиоценоз кишечника, что уменьшает количество помета и обедняет его состав, улучшает эпидемиологическую и экологическую обстановку в районах ведения животноводства [1–3].

В рационы животных включают, как правило, мультиэнзимные комплексы микробного происхождения с различным, в зависимости от компонентного состава растительных кормов, соотношением ферментных составляющих [1]. Микроорганизмы, за редким исключением, продуцируют одновременно ограниченное количество ферментов, участвующих в гидролизе полимеров растительного сырья. Поэтому полиферментные комплексы получают, как правило, смешиванием отдельных компонентов, продуцируемых различными микроорганизмами, в исключительных случаях – путем синтеза комплекса ферментов одним штаммом-продуцентом в рамках одного технологического процесса, что экономически наиболее предпочтительно.

Известен, например, штамм бактерий *Bacillus subtilis* 1.1111, который синтезирует комплекс ферментов, включающих преимущественно протеазу, манна(на)зу, амилазу и глюкоамилазу и, в меньшей мере, ксиланазу, целлюлазу, фитазу, пектиназу и липазу [4]. Однако невысокое содержание именно последних из перечисленных ферментов при отсутствии бета-глюканазы ограничивает применение ферментного комплекса в животноводстве, особенно в качестве добавки к комбикормам с высоким содержанием липидов, фитата, некрахмалистых полисахаридов – пектинов, целлюлоз, гемицеллюлоз.

Цель настоящей работы – скрининг штамма-продуцента комплекса ферментов, гидролизующих широкий спектр растительных полимеров.

Объекты исследования – культуры микроорганизмов, которые выделяли с поверхности контаминированного посторонней микрофлорой сквашенного молока, из почвы, разлагающихся растительных остатков методом накопительных культур. Всего изолировано 75 различных по морфологии культур, из которых 52 (69,3 %) отнесены к бактериям, 23 (30,7 %) – к грибам.

Изучение ферментативной активности изолированных культур проводили на агаризованных средах, содержащих субстраты соответствующих ферментов. Бактерии выращивали на агаризованной среде Луриа-Бертани (28-30 °С, 48 ч), грибы – на сусло-агаре (24-26 °С, 96 ч). По окончании роста анализировали способность культур синтезировать протеазу, альфа-амилазу, глюкоамилазу, ксиланазу, бета-глюкканазу, целлюлазу, фитазу, пектаглиязу, альфа- и бета-галактозидазу, липазу по наличию и размеру (мм) зон просветления или зон специфического окрашивания конечных продуктов ферментативных реакций вокруг их колоний, образующихся в результате гидролиза соответствующих субстратов. Об активности альфа- и бета-галактозидазы судили соответственно по желтой или синей окраске колоний, выросших на средах с р-нитрофенил- α -D-галактозидом или 5-бром-4-хлор-3-индолил- β -D-галактозидом в качестве хромогенных субстратов. Повторность опытов трехкратная.

Анализ полученных данных показал, у наибольшего числа отобранных культур обнаруживалась активность протеолитических (71), амилолитических (альфа-амилазы – 69, глюкоамилазы – 60), целлюлолитических (ксиланазы – 67, целлюлазы – 65, бета-глюкканазы – 63) и пектолитических (64) ферментов (рисунок). В меньшей мере исследуемые культуры проявляли свойство синтезировать фитазу (47) и липазу (41). При этом доля культур с относительно высоким уровнем продукции альфа-амилазы и протеазы составляла 25,3–28,0 %, пектиназы – 20,0 %, глюкоамилазы, липазы и бета-глюкканазы – 12,0–13,3 %, тогда как фитазы, целлюлазы и ксиланазы – всего 2,7–5,3 %. Активность альфа- и бета-галактозидазы была обнаружена соответственно у 4 (5,3 %) и 7 (9,3 %) из 75 изученных культур.

Среди дрожжевых грибов активное образование протеазы, пектиназы, целлюлазы, липазы при-суще изоляту ФПСК-17, который в условиях опыта синтезирует также внеклеточные полисахариды и каротиноиды.

Высоким уровнем продукции одновременно всех исследуемых ферментов характеризовалась только одна культура, МФ-1, которая на основании культурально-морфологических, физиолого-биохимических и молекулярно-генетических особенностей идентифицирована как *Bacillus amyloliquefaciens*.

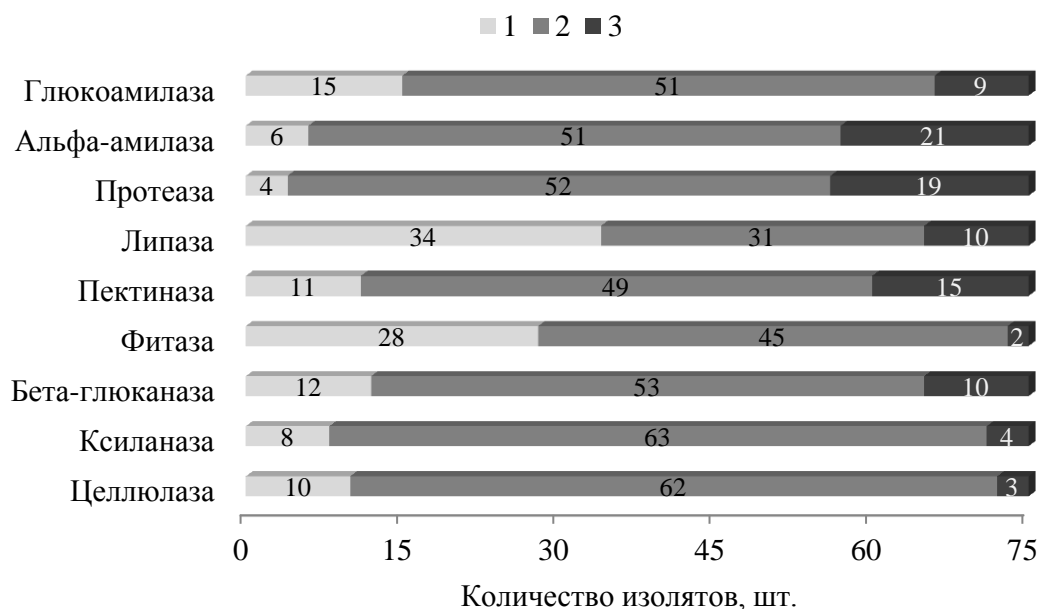


Рисунок – Ферментативная активность изолированных культур, определяемая по зонам гидролиза субстратов: 1 – 0 мм, 2 – 0,1-20,0 мм, 3 – > 20,0 мм

Таким образом, из числа выделенных из природных источников микробных культур отобран новый бактериальный штамм *Bacillus amyloliquefaciens* МФ-1 – продуцент мультиферментного комплекса, катализирующего гидролиз полимеров растительного происхождения. Кроме того, об-

наружен дрожжевой гриб ФПСК-17 – продуцент комплекса биологически активных веществ, представленных протеазой, пектиназой, целлюлазой, липазой, внеклеточными полисахаридами и каротиноидами. Отобранные микроорганизмы найдут применение при разработке технологий получения новых кормовых добавок.

Список использованных источников

1. Ravindran, V. Feed enzymes: The science, practice, and metabolic realities / V. Ravindran // J. Appl. Poult. Res. – 2013. – Vol. 22, No. 3. – P. 628-636.
2. Kiarie, E. The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry / E. Kiarie, L. F. Romero, C. M. Nyachoti // Nutr. Res. Rev. – 2013. – Vol. 26, No. 1. – P. 71-88.
3. Sujani S. Exogenous enzymes in ruminant nutrition: a review / S. Sujani, R. T. Seresinhe // Asian J. Anim. Sci. – 2015. – Vol. 9, No. 3. – P. 85-99.
4. One-bacterium multiple-enzyme bacterial strain as well as screening method and application thereof : pat. No. 102864091 (B) (CN), IC A23K1/165; C12N1/20; C12N9/56; C12Q1/04; C12R1/1252013 / Liu Y.; Zhang Q.; Li H.; Zhang C.; Wang Y.; Guan S.; Gong T.; Ding K.; Li X.; Wu T.; Li Y.; Wang C. ; applicant: UNIV HENAN SCIENCE & TECH. – Appl. No. CN 2012110890 ; prior. date 15.01.2012 ; publ. date 09.01.2013.