

УДК / UDC 579

**ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ УСКОРЕНИЯ ПЕРЕРАБОТКИ
ОТХОДОВ РАСТЕНИЕВОДСТВА**

**SEARCH FOR POTENTIAL MICROORGANISMS TO SPEED UP THE PROCESSING
OF CROP WASTE**

Валиуллин Л.Р.*, кандидат биологических наук

Valiullin L.R., Candidate of Biological Sciences

**Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической
безопасности, Казань, Россия**

Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological security, Kazan, Russia

Рудь В.Ю., доктор физико-математических наук

Rud' V.Y., Doctor of Physical and Mathematical Sciences

Вечеров А.В., младший научный сотрудник

Vecherov A.V., Junior Researcher

Айсывакова Т.П., младший научный сотрудник

Aysuvakova T.P., Junior Researcher

**Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии,
Большие Вяземы, Московская область, Россия**

All-Russian Research Institute of Phytopathology, Bolshiye Vyazyomy, Moscow Region,
Russia

*E-mail: valiullin27@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Проведена оценка токсичности выделенных штаммов микроорганизмов на простейших. Установлено, что выделенные штаммы микроорганизмов не обладают токсичностью. Помимо этого, проведены испытания безвредности микроорганизмов *Actinomyces spp.*, *Candida spp.*, *Bacillus spp.*, *Lactobacillus spp.*, используемых для деструкции органического сырья. В результате исследований установлено, что однократное внутривентральное и многократное пероральное введение инактивированной микробной суспензии исследуемых штаммов не приводило к гибели подопытных животных и видимым изменениям клинического состояния, что свидетельствует об отсутствии токсичных свойств.

ABSTRACT

The evaluation of the toxicity of obtained strains of microorganisms on the simplest was carried out. It is established that the obtained strains of microorganisms are non-toxic. In addition, tests of the safety of microorganisms *Actinomyces spp.*, *Candida spp.*, *Bacillus spp.*, *Lactobacillus spp.* used for the destruction of organic raw materials. As a result of research, it was established that a single intraperitoneal and repeated oral administration of an inactivated microbial suspension of the strains under study did not lead to the death of experimental animals and visible changes in the clinical state, which indicates the absence of toxic properties.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Микроорганизмы, отходы производства, органическое сырье, токсичность, биохимические свойства, штаммы.

KEY WORDS

Microorganisms, waste production, organic raw materials, toxicity, biochemical properties, strains.

Ускорения переработки отходов растениеводства является актуальной темой в условиях современной интенсификации производства сельскохозяйственной продукции. При получении продуктов растениеводства основной проблемой представляется развитие в отходах растений патогенной и условно патогенной микрофлоры. Развитие патогенной микрофлоры приводит к ухудшению фитосанитарного состояния регионов.

В качестве объекта исследования использовалось различное органическое сырье (отходы животноводства, птицеводства, растениеводства, нефтеперерабатывающей промышленности и т.д.), разнообразные штаммы микроорганизмов и грибов, обладающие выраженными свойствами биodeградации органических соединений.

Цель исследования – изучить биохимические свойства выделенных штаммов микроорганизмов и грибов, дать оценку токсичности, найти потенциальных биодеструкторов органических отходов.

Материалы и методы. Исследования проводились с использованием комплекса токсикологических, биохимических, микробиологических методов.

Выделение штаммов микроорганизмов и грибов проводилось на плотных питательных средах (МПА, сусло-агар, среда MRS, среда M8) с последующим изучением их морфологических, тинкториальных, биологических свойств (Курасова В.В., 1971; Сидоров М.А., 1995).

Целлюлозолитические свойства штаммов определяли по их способности использовать нерастворимую целлюлозу в качестве единственного источника углерода. Амилитические свойства определяли путем посева штаммов в крахмальный гель. Каталазу определяли газометрическим методом (Звягинцев Д.Г., 1991).

Проводили исследования каждого отобранного штамма на антагонистическую активность методом агаровых блоков (Montealegre J.R., Reyes R., Perez L.M. et al 2003; Нетрусов А. И., 2005) по отношению к патогенным грибам рода фузариум и штаммам микроорганизмов – *E. coli*, *Salmonella enteritidis*, *St. aureus* и по отношению друг к другу.

Оценку токсичности выделенных штаммов микроорганизмов проводили на простейших (*Paramecium caudatum*) по Спесивцевой.

Испытание безвредности микроорганизмов *Actinomyces spp.*, *Candida spp.*, *Bacillus spp.*, *Lactobacillus spp.* используемых для деструкции органического сырья проводили в опытах на белых беспородных мышах живой массой 18-20 г в условиях вивария сектора ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Для определения наличия токсичности у исследованных микроорганизмов использовали инактивированную микробную суспензию суточной культуры (прогревание в течение 1 ч при 100⁰С), смывой с питательной среды 0,9 %-ным раствором натрия хлорида. Полученную взвесь микроорганизмов вводили белым мышам (n=10) в дозе от 10⁵ до 10¹⁰ КОЕ/жив однократно внутрибрюшинно и пятикратно перорально (по одной дозе ежедневно в течение 5 дней).

Токсигенность штаммов изучали при внутрибрюшинном введении центрифугата белым мышам (n=10), который получали центрифугированием культуральной жидкости в течение 15 мин при 3000 г. Контролем служила группа мышей, получавших стерильную питательную среду.

Результаты исследований. На начальном этапе из навоза крупного рогатого скота, свежего куриного помета, почвы из-под навоза, нефтезагрязненных почв, сточных вод выделены 10 штаммов микроорганизмов, потенциальных биодеструкторов органических отходов.

Выделение штаммов микроорганизмов и грибов проводилось на плотных питательных средах (МПА, сусло-агар, среда MRS, среда M8) с последующим изучением их морфологических, тинкториальных, биологических свойств.

В связи с этим на начальном этапе скрининга качественными реакциями оценивали ферментативную активность изолятов. Выявляли также наличие патогенных и токсигенных свойств (таблица 1).

Таблица 1 – Ферментативная активность и патогенность / токсигенность изолятов

Изолят	Ферментативная активность				Патоген./ токсиген.	Источник
	Протеолит.	Амилолит.	Целлюлоз.	Липолит.		
<i>Clostridium spp.</i>	-	+	+	-	+	Навоз крупного рогатого скота
<i>Bac. stearothermophilus</i>	±	+	+	±	-	Нефтезагрязненная почва
<i>Lactobacillus spp</i>	-	-	-	-	-	Овес
<i>Ascomycetes spp.</i>	-	+	+	-	-	Гнилая древесина
<i>Pichia kudriavzevii-12</i>	-	+	-	+	+	Опавшие листья
<i>Micrococcus nishomyaensis</i>	-	+	+	+	-	Сточные воды Казаньоргсинтез

На основе данных, полученных в исследованиях биохимических свойств (целлюлозолитическая, сахаролитическая активность, гидролизация крахмала) отобраны 6 новых штамма родов: *Lactobacillus spp.*, термофильных бактерий (*Bac. stearothermophilus*), *Clostridium spp.*, *Ascomycetes spp.*, *Pichia kudriavzevii-12*, *Micrococcus nishomyaensis*).

Проведена оценка токсичности выделенных штаммов микроорганизмов на простейших. При этом установлено, что выделенные штаммы микроорганизмов токсичностью не обладают.

Кроме того, проведены испытания безвредности микроорганизмов *Actinomyces spp.*, *Candida spp.*, *Bacillus spp.*, *Lactobacillus spp.* используемых для деструкции органического сырья.

При этом установлено, что однократное внутрибрюшинное и многократное пероральное введение инактивированной микробной суспензии исследуемых штаммов не приводило к гибели подопытных животных и видимым изменениям клинического состояния, что свидетельствует об отсутствии токсичных свойств. В течение всего периода наблюдения животные оставались активными, хорошо поедали пищевые рационы, не теряли в весе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследований изучены биохимические свойства (целлюлозолитическая, сахаролитическая активность, гидролизация крахмала) отобраны 6 новых штамма родов: *Lactobacillus spp.*, термофильных бактерий (*Bac. stearothermophilus*), *Clostridium spp.*, *Ascomycetes spp.*, *Pichia kudriavzevii-12*, *Micrococcus nishomyaensis*). Штаммы не проявляют токсигенных свойств, введение центрифугата не приводило к гибели животных и видимым отклонениям в клиническом состоянии. Изучена токсичность выделенных штаммов микроорганизмов на простейших. При этом установлено, что выделенные штаммы микроорганизмов токсичностью не обладают. Кроме того, проведены испытания безвредности микроорганизмов *Actinomyces spp.*, *Candida spp.*, *Bacillus spp.*, *Lactobacillus spp.* используемых для деструкции органического сырья.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Хусид С. Б. и др. Использование отходов переработки растительного сырья для получения функциональных кормовых добавок // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2014. – №. 98.
2. Ржечицкий Э. П., Кондратьев В. В. Экологическая и экономическая эффективность переработки растворов газоочистки и фторуглеродсодержащих отходов производства алюминия // Экология и промышленность России. – 2011. – №. 8. – С. 28-31.

3. Лобачева Г. К. и др. Состояние вопроса об отходах и современных способах их переработки //Волгоград: Изд-во ВолГУ. – 2005. – С. 176.
4. Будаева В. В., Якимов Д. Й. Биологически активные комплексы из отходов растениеводства и диких растений //Ползуновский вестник. – 2007. – №. 3. – С. 15-24.
5. Кутровский В. Н., Сидоренко О. Д. Биоконверсия отходов агропромышленного комплекса //М., НИИСХ ЦРНЗ. – 2009.
6. Gerba C. P., Smith J. E. Sources of pathogenic microorganisms and their fate during land application of wastes //Journal of Environmental Quality. – 2005. – Т. 34. – №. 1. – С. 42-48.
7. Jusoh M. L. C., Manaf L. A., Latiff P. A. Composting of rice straw with effective microorganisms (EM) and its influence on compost quality //Iranian journal of environmental health science & engineering. – 2013. – Т. 10. – №. 1. – С. 17.
8. Davydov, R., Sokolov, M., Hogland, W., Glinushkin, A., Markaryan, A. The application of pesticides and mineral fertilizers in agriculture. MATEC Web of Conferences. 2018.
9. Grebenikova, N., Korshunov, A., Rud, V., Savchenko, I., Marques, M. Root rot grain crops on Cereals caused by the phytopathogenic fungi. MATEC Web of Conference. 2018.
10. Sakr, N. Interaction between triticum aestivum plants and four fusarium head blight species on the level of pathogenicity: Detected in an in vitro petri-dish assay. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica. 2018.
11. Sakr, N. Aggressiveness variation among and within fusarium head blight species on barley in vitro. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica. 2018.
12. Sakr, N. Evaluation of two storage methods for fungal isolates of Fusarium sp. and cochliobolus sativus. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica. 2018.