

УДК 664.764:579

Идентификация аборигенной микрофлоры пшеничных отрубей: бактериальные изоляты – потенциальные промышленные продуценты

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН

О. П. Свердлова, Н. Ю. Шарова, А. О. Причепка, С. И. Лоскутов, А. А. Принцева

КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

191014, Литейный пр. 55,
г. Санкт-Петербург, Россия
Электронная почта: info@vniipd.ru

ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:

данные текущего исследования доступны по запросу у корреспондирующего автора.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Свердлова, О. П., Шарова, Н. Ю., Причепка, А. О., Лоскутов, С. И., & Принцева, А. А. (2022). Идентификация аборигенной микрофлоры пшеничных отрубей: бактериальные изоляты – потенциальные промышленные продуценты. *Хранение и переработка сельскохозяйственной продукции*, (3). <https://doi.org/10.36107/spfr.2022.294>

ПОСТУПИЛА: 15.03.2022

ПРИНЯТА: 20.06.2022

ОПУБЛИКОВАНА: 30.09.2022

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ:

Исследования проведены по теме FGUS-2022-0003 в рамках государственного задания № 075-01190-22-00 ВНИИ пищевых добавок – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН. Выражение признательности сотрудникам Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии (ВНИИСМ) за оказанную помощь в проведении идентификации микроорганизмов по гену 16S рРНК.



АННОТАЦИЯ

Введение. В настоящее время в силу условий дефицита ценных питательных нутриентов разработка технологий безотходного или малоотходного производства новых продуктов на основе побочных продуктов переработки зерна вызывают особый интерес. В результате переработки зерна пшеницы образуется значительное количество пшеничных отрубей, которые представляют интерес не только в качестве компонентов кормовых субстанций, пищевого сырья, но и вторичного сырья для получения ряда полезных для человека соединений различной химической природы и функционального назначения. Согласно литературным источникам, в отрубях содержатся белки, витамины и пищевые волокна, которые являются субстратами для аборигенной микрофлоры. В условиях влажности, отличной от нормируемой для хранения пшеничных отрубей, развиваются микроорганизмы, которые в основном изучались на предмет безопасности. Однако многие представители аборигенной микрофлоры пшеничных отрубей представляют интерес в качестве потенциальных промышленных продуцентов пищевых микроингредиентов и биологически активных веществ.

Цели. Исследовать аборигенную микрофлору пшеничных отрубей и выделить изоляты, представляющие интерес в качестве потенциальных промышленных продуцентов. По данному направлению информация в литературных источниках освещает в основном таксономическую принадлежность микробиома отрубей, поэтому исследование биосинтетической способности его представителей актуально.

Материалы и методы. Для идентифицированных микроорганизмов был проведен поиск данных из литературных источников о микроорганизмах, которые обладают биотехнологическим потенциалом. Для изучения микрофлоры пшеничных диетических отрубей повышенной влажности (более 7%) проводили 2, 5 и 7-суточные ферментации в шейкере-инкубаторе глубинным способом; для получения микробных изолятов применяли методы поверхностного и глубинного культивирования на плотной агаризованной среде.

Результаты. Полученные чистые культуры идентифицировали методом секвенирования по гену 16S рРНК. Названия микроорганизмов определяли с помощью сайта BLAST. Среди идентифицированных 16 культур преобладали 7 культур при 7-суточной ферментации, далее 6 культур при 5-суточной ферментации. Значительно меньше культур выявлено при 2-суточной ферментации (3 культуры). Данные результаты, предположительно, свидетельствуют о том, что выявленные в результате 2-суточной ферментации микроорганизмы выделяют метаболиты, которые являются субстратом для остальных микроорганизмов.

Выводы. В результате проведенных исследований идентифицированы бактериальные изоляты пшеничных отрубей *Arthrobacter agilis*, *Acinetobacter radioresistens*, *Rhizobium leguminosarum*, *Kocuria rhizophila*, в том числе, пробиотические – представители рода *Enterococcus*, перспективные для применения в качестве промышленных продуцентов полезных метаболитов, в частности, ферментов, красящих веществ, органических кислот для применения в пищевой отрасли, сельском хозяйстве, медицине.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

пшеничные диетические отруби, аборигенная микрофлора, повышенная влажность, продуцент, биотехнологический потенциал

Identification of native microflora of wheat bran: Bacterial isolates are potential industrial producers

All-Russian Research Institute for Food Additives – Branch of the V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS

Olga P. Sverdlova, Nataliya Yu. Sharova, Artem O. Prichepa, Svetosav I. Loskutov

CORRESPONDENCE:

191014, 55, Liteyny Prospekt,
St. Peterburg, Russia
E-mail: info@vniipd.ru

FOR CITATIONS:

Sverdlova, O. P., Sharova, N. Yu., Prichepa, A. O., Loskutov, S. I., & Printseva, A. A. (2022). Identification of native microflora of wheat bran: Bacterial isolates are potential industrial producers. *Storage and Processing of Farm Products*, (3).
<https://doi.org/10.36107/spfp.2022.294>

RECEIVED: 15.03.2022

ACCEPTED: 20.06.2022

PUBLISHED: 30.09.2022

DECLARATION OF COMPETING INTEREST: none declared.



ABSTRACT

Background. At present, due to the conditions of deficiency of valuable nutrients, the development of technologies for the waste-free or low-waste production of new products based on by-products of grain processing is of particular interest. As a result of wheat grain processing, a significant amount of wheat bran is formed, which are of interest not only as components of feed substances, food raw materials, but also secondary raw materials for obtaining a number of compounds of various chemical nature and functional purposes useful for humans. According to literary sources, bran contains proteins, vitamins and dietary fiber, which are substrates for native microflora. In conditions of humidity other than normalized for the storage of wheat bran, microorganisms develop, which were mainly studied for safety. However, many representatives of the native microflora of wheat bran are of interest as potential industrial producers of food micro-ingredients and biologically active substances.

Purpose. To study the native microflora of wheat bran and identify isolates that are of interest as potential industrial producers. In this area, information in the literature covers mainly the taxonomic affiliation of the bran microbiome, so the study of the biosynthetic ability of its representatives is relevant.

Materials and Methods. For the identified microorganisms, a search was made for data from the literature on microorganisms that have biotechnological potential. In the course of research, the moisture content of wheat dietary bran was determined according to GOST 9404-88. To study the microflora of wheat dietary bran with high humidity (more than 7%), 2, 5 and 7-day fermentations were carried out in a shaker-incubator using the deep method; to obtain microbial isolates, the methods of surface and deep cultivation on a dense agar medium were used.

Results. The resulting pure cultures were identified by sequencing for the 16srRNA gene. The names of microorganisms were determined using the BLAST site. Among the identified 16 cultures, 7 cultures with a 7-day fermentation prevailed, followed by 6 cultures with a 5-day fermentation. Significantly fewer cultures were detected during 2-day fermentation (3 cultures). These results presumably indicate that the microorganisms identified as a result of 2-day fermentation secrete metabolites, which are a substrate for other microorganisms.

Conclusions. As a result of the research, bacterial isolates of wheat bran *Arthrobacter agilis*, *Acinetobacter radioresistens*, *Rhizobium leguminosarum*, *Kocuria rhizophila*, including probiotic representatives of the genus *Enterococcus*, were identified, promising for use as industrial producers of useful metabolites, in particular, enzymes, dyes, organic acids for use in the food industry, agriculture, medicine.

KEYWORDS

dietary wheat bran, native microflora, high humidity, producer, biotechnological potential

ВВЕДЕНИЕ

Микроорганизмы, составляющие естественную микрофлору вторичного пищевого и сельскохозяйственного сырья (отруби, жмых, шрот, дробина и др.), которое в основном утилизируется в качестве компонентов кормовых добавок, представляют интерес в качестве потенциальных продуцентов промышленного значения. Адаптируясь к субстратному составу вторичного сырья для роста и развития, эти микроорганизмы, в зависимости от окружающих условий, могут синтезировать соединения со свойствами, которые позволят присвоить им статус пищевых и биологически активных добавок.

Доступная информация о микроорганизмах, развивающихся на отрубях, жмыхах и др., носит в основном общий характер и не несет прикладного значения. Известны данные об использовании указанного выше вторичного сырья для культивирования различных индивидуальных, искусственно «внесенных» микроорганизмов, которые являются штаммами-продуцентами, выделенными из других сред. Научный и практический интерес представляет изучение аборигенных микроорганизмов, составляющих естественную микрофлору вторичного сырья, и их консорциума с использованием генетических методов исследований. Подобного рода исследования известны по направлению создания комбикормов и биоудобрений (Ефимова & Удалова, 2011; Yan, 2020; Котляров & Сединина, 2014).

Из зернового сырья, распространенного на территории РФ и производимого в больших масштабах, к экономически важной сельскохозяйственной культуре относится пшеница. В настоящее время её доля составляет 27 % на мировом рынке зерна (Хромова, 2019).

Первое место среди побочных продуктов мукомольного производства занимают пшеничные отруби (Хромова, 2019). В состав пшеничных отрубей при переработке зерна в муку переходит 93,4 % клетчатки, 74,2 % минеральных веществ, 62,3 % липидов и 27,8 % белка (Конева, 2011). Химическим составом пшеничных отрубей обусловлено их применение в производстве хлебобулочных изделий с низким гликемическим индексом, пробиотических продуктов с высокой питательной ценностью

(Конева, 2011; Radenkova et al., 2013). Допустимая массовая доля влажности для диетических отрубей во избежание размножения болезнетворных бактерий и плесневых грибов по ГОСТ Р 53496–2009¹ составляет не более 7 %. При повышенной влажности наблюдается развитие аборигенной микрофлоры. Микрофлора пшеничных отрубей представлена в основном бактериальным консорциумом, где преобладает *Erwiniaher bicola* (Ильяшник, 2011). Встречаются спорообразующие бактерии *Bacillus mesentericus* и *Bacillus mycoides*, являющиеся активными продуцентами амилаз и целлюлаз. Идентифицированные и распространенные патогенные микроорганизмы, в частности *Xanthomonas campestris*, вызывающая бактериальную полосу на листьях. В то же время данная культура является промышленным продуцентом широко применяемого загустителя (пищевой добавки E415) — ксантановой камеди (Осовская и соавт., 2021). Выявленная культура *Pseudomonas syringae* вызывает бактериальный ожог листьев, а род *Corynebacterium* spp. — желтую гниль початков, морщинистость или скрученность листьев (Radenkova et al., 2013). В то же время, известен штамм *Corynebacterium glutamicum* В — 11167 — продуцент лизина (Роганина, 2017; Сиротин и соавт., 2012).

По сравнению с бактериальной микрофлорой среди мицелиальных грибов в пшеничных отрубях преобладают 4 рода: *Aspergillus* spp., *Alternaria* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp. (Ильяшник и соавт., 2011; Осовская и соавт., 2021). Следует отметить, что *Aspergillus avamori*, несмотря на принадлежность к умеренно опасным микроорганизмам, является продуцентом глюканаза (Espinheira et al., 2022).

Ранее нами по результатам микробиологических исследований было показано, что в диетических пшеничных отрубях присутствует более 40 видов бактериальных культур (Свердлова и соавт., 2021). Однако только по морфологическим признакам невозможно достоверно классифицировать микроорганизмы, поэтому необходимо применение генетических методов для идентификации выявленных бактерий.

Целью работы является идентификация выявленных микроорганизмов с использованием генетических приемов в совокупности с изучением

¹ ГОСТ Р 53496–2009. (2019). *Отруби пшеничные и ржаные диетические. Технические условия*. М.: Стандартинформ.

морфологических свойств бактериальных изолятов аборигенной микрофлоры пшеничных диетических отрубей повышенной влажности и поиск микроорганизмов – потенциальных продуцентов промышленно полезных веществ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы

Объектами исследования в ходе выполнения работы являлись диетические пшеничные отруби пищевого назначения рассыпные (партия отрубей АО «Петербургский мельничный комбинат», г. Санкт-Петербург) и колонии микроорганизмов, выделенные в результате ферментации пшеничных отрубей.

Оборудование

Шейкер-инкубатор Multitron PRO (Швейцария), спектрофотометр Shimadzu UV-1800 (Япония), термостат DaihanLabtech LIB-M (Южная Корея), сушильного шкафа DaihanLabtech LDO-E (Южная Корея), лабораторная центрифуга MPW-251 (США), ламинарный бокс биологической безопасности ESCO Streamline® II класса (Сингапур), лабораторные весы AND GR-200 (Япония), лабораторная центрифуга EppendorfCentrifuge 5418 (Германия), термошейкерEppendorfThermoMixer C (Германия), вортекс универсальный IKA Lab dancer (Германия).

Инструменты

Для выделения ДНК использовали набор реагентов «Сорб-ГМО-Б» (ЗАО «Синтол», Россия). После выделения ДНК проводили ПЦР и колонии микроорганизмов идентифицировали методом секвенирования по Сенглеру по гену 16s рРНК. Названия микроорганизмов определяли с помощью сайта BLAST².

Методы

Влажность пшеничных диетических отрубей определяли по ГОСТ 9404–88³ с использованием сушильного шкафа DaihanLabtech LDO-E (Южная Корея). Колонии микроорганизмов получали методом поверхностного культивирования разведенных суспензий на мясо-пептонном агаре (МПА) (Лабинская и соавт., 2004).

Процедура исследования

Для проведения ферментации в 3 стерильные начальные колбы вместимостью 750 см³ добавляли по 10 ± 1 г пшеничных отрубей и 200 см³ стерильной воды. Пшеничные отруби взвешивали на лабораторных весах ANDGR-200 (Япония). Колбы с содержимым помещали на 2, 5 и 7 сут для ферментации отрубей под действием аборигенной (собственной) микрофлоры в шейкере-инкубаторе Multitron PRO (Швейцария) при температуре 37 ± 1 °С и скорости вращения платформы шейкера 200 об/мин. С соответствующей периодичностью отбирали культуральную жидкость и центрифугировали (лабораторная центрифуга MPW-251 (США)) в течение 10 мин при скорости вращения ротора 6000 об/мин.

Колонии микроорганизмов получали методом поверхностного культивирования на МПА (ООО НИЦФ, Россия). Высев на чашки проводили в ламинарном боксе II класса биологической безопасности ESCO Streamline® (Сингапур). После центрифугирования супернатант разводили в 100, 1000 и 10 000 раз. Надосадочную жидкость соответствующего разведения в количестве 100 мкл добавляли в чашку Петри с МПА. Посев проводили в двух повторностях и в трёх распределениях. Разведенную надосадочную жидкость по среде распределяли шпателем Дригальского и тем же шпателем распределяли остатки смыва в остальные две чашки. Чашки Петри помещали в термостат DaihanLabtech LIB-M (Южная Корея) при температуре 37 ± 1 °С на 3 суток.

Также колонии микроорганизмов получали методом глубинного культивирования. Надосадочную жидкость соответствующего разведения в количестве 100 мкл помещали в чашку Петри и заливали

² BLAST. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

³ ГОСТ 9404–88. (2007). *Мука и отруби. Метод определения влажности*. М.: Стандартинформ.

МПА. Посев проводили в двух повторностях. Чашки помещали в термостат DaihanLabtech L1B-M (Южная Корея) при температуре 37 ± 1 °C на 3 суток.

После культивирования исследовали морфологию каждой культуры. Описание колоний представлено в таблице 1 (см. Результаты и их обсуждение).

Далее для выделения ДНК микроорганизма с последующей идентификации по гену 16s рРНК выявленную колонию пересевали в отдельную чашку с МПА. Чашки помещали в термостат DaihanLabtech L1B-M (Южная Корея) при температуре 28 ± 1 °C на 3 суток.

Если после культивирования выросло слишком мало колоний для выделения ДНК, то готовили 1 см³ смыва с колониями и добавляли в пробирку с 15 см³ LB-среды. LB-среда состоит из: 20 г триптона (VWR Chemicals, США), 10 г дрожжевого экстракта микрогранулированного (Bio Springer, Франция), 20 г NaCl (АО ЛенРеактив, Россия), 1 дм³ дистиллированной воды. Пробирки с культурами помещали в шейкер-инкубатор Multitron PRO (Швейцария) при температуре 37 ± 1 °C и скорости вращения платформы шейкера 200 об/мин на 16–17 часов. Далее измеряли оптическую плотность среды с культурами на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Япония) при длине волны 600 нм, чтобы удостовериться в нужном количестве клеток для последующей идентификации. Если оптическая плотность среды была меньше 0.6, то пробирки с культурами помещали в термостат DaihanLabtech L1B-M (Южная Корея) на 17 ч при температуре 19 ± 1 °C и повторно проверяли оптическую плотность.

Для выделения ДНК использовали набор реагентов из пищевых продуктов, растительного сырья и кормов «Сорб-ГМО-Б» (ЗАО «Синтол», Россия). Для проведения некоторых операций по протоколу набора использовали термошейкер Eppendorf ThermoMixer C (Германия), лабораторную центрифугу Eppendorf Centrifuge 5418 (Германия) и вортекс универсальный IKA Lab dancer (Германия). Колонии микроорганизмов идентифицировали методом секвенирования по Сенглеру по гену 16S. Выделение ДНК проводилось на базе Всероссийского научно-исследовательского инсти-

тута пищевых добавок (ВНИИПД), а постановка ПЦР и секвенирование по Сенглеру — на базе Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии (ВНИИСХМ). Название микроорганизмов определяли с помощью сайта BLAST⁴.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Целью данных исследований являлось выделение из пшеничных отрубей аборигенных бактериальных изолятов, представляющих интерес в качестве потенциальных промышленных продуцентов ингредиентов, полезных для человека и животных. Данные о видовой принадлежности и свойствах идентифицированных культур представлены в подсекциях «Литературные данные об отдельных представителях выявленных таксонов», «Особенности роста выявленных культур *Acinetobacter radioresistens* и *Arthrobacter agilis*».

Поскольку исследуемые пшеничные отруби имеют рассыпную форму, которая обладает способностью быстро впитывать влагу по сравнению с гранулированной формой, в условиях повышенной влажности окружающей среды в процессе хранения может изменяться такой нормируемый показатель качества данного вида сырья, как «массовая доля влаги». Числовое значение данного показателя позволяет оценить количественный состав микроорганизмов изучаемого сырья и предположить возможность его изменения наряду с качественным разнообразием аборигенной микрофлоры, поскольку влажная среда благоприятна для развития микробных таксонов, в том числе не культивируемых. В результате хранения отрубей при влажности в толще слоя выше 13 % более месяца рост численности микрофлоры с увеличением этого показателя может увеличиться в 10–300 раз, поэтому на первом этапе исследований определяли показатель влажности в исследуемой партии пшеничных отрубей. Полученное значение показателя превысило нормативные требования практически в 2 раза и составило 14 ± 2 % (не более 7 %, ГОСТ Р 53496–2009⁵). На основании результатов опыта сделано предположение, что спектр аборигенной микрофлоры изучаемого сырья более разнообразен по сравнению

4 BLAST. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

5 ГОСТ Р 53496–2009. (2019). *Отруби пшеничные и ржаные диетические. Технические условия*. М.: Стандартинформ.

с отрубями со стандартной влажностью. Высказанное предположение подтверждено на практике в результате ферментации партии отрубей в качалочных колбах и посева на плотную агаризованную среду МПА (см. Процедура исследования). Выявлен спектр бактериальных культур, преимущественно аэробов, проявляющих рост в различные периоды культивирования в глубинных условиях. Идентификация изолятов, полученных из культуральной жидкости, проведенная методом секвенирования

по Сенглеру по гену 16S (см. Процедура исследования), позволила отнести микроорганизмы к семействам *Micrococcaceae*, *Moraxellaceae*, *Rhizobiaceae*. Выявленная аборигенная микрофлора исследуемых отрубей характеризуется видовым разнообразием. Идентифицированные культуры различаются по морфологическим признакам (Таблица 1).

Для оценки возможности использования идентифицированных культур в качестве потенци-

Таблица 1

Морфология колоний идентифицированных микроорганизмов

Размер колонии, мм	Цвет	Профиль	Прозрачность	Край	Структура	Название культуры
<i>2 сутки ферментации</i>						
4,5	Светло-серый	Выпуклая	+/-	Ровный	Однородная блестящая	<i>Acinetobacter radioresistens</i>
2,5	Красная	Выпуклая	-	Ровный	Однородная блестящая	<i>Arthrobacter agilis</i>
3	Бесцветная	Вогнутая	+	Ровный	Однородная блестящая	<i>Enterococcus sp.</i>
<i>5 сутки ферментации</i>						
2	Серый	Вогнутая	+	Ровный	неоднородная блестящая	<i>Enterococcus faecium</i>
3	Желтый	Выпуклая	-	Неровный	Однородная блестящая	<i>Rhizobium leguminosarum</i>
5	Коричневый	Выпуклая	+	Неровный	Однородная блестящая	<i>Enterobacter cloacae</i>
2	Светло-серый	Вогнутая	+	Ровный	Однородная блестящая	<i>Kocuria rhizophila</i>
3	Желто-оранжевый	Выпуклая	+	Ровный	однородная блестящая	<i>Enterococcus mundtii</i>
<i>7 сутки ферментации</i>						
4	Белый	Выпуклая	-	Неровный	Однородная блестящая	<i>Staphylococcus warneri</i>
1	Белый	Выпуклая	-	Ровный	Однородная блестящая	<i>Kocuria rhizophila</i>
3	Молочный	Вогнутая	-	Ровный	Однородная блестящая	<i>Acinetobacter radioresistens</i>
7	Желтый	Выпуклая	+	Неровный	Однородная блестящая	<i>Enterobacter cloacae</i>
3	–	Выпуклая	+	Ровный	однородная блестящая	<i>Enterococcus sp.</i>
30	Бледно-Желтый	Ровная	+	Неровный	неоднородная блестящая	<i>Atlantibacter hermannii</i>
4	Бледно-пшеничный	Вогнутая	+	Неровный	неоднородная блестящая	<i>Enterococcus hirae</i>

альных промышленных продуцентов проведен информационный поиск, который выявил ряд интересных биосинтетических свойств различных штаммов.

Литературные данные об отдельных представителях выявленных таксонов

Ниже представлены фотографии, иллюстрирующие рост идентифицированных в ходе проведенного эксперимента бактериальных изолятов на среде МПА, и информация об известных штаммах-продуцентах с выявленной таксономической принадлежностью.

На Рисунке 1 представлены колонии *Rhizobium leguminosarum*.

Rhizobium leguminosarum — грамтрицательная подвижная палочковидная азотфиксирующая бактерия из семейства *Rhizobiaceae*. Не только обладает симбиотическими связями с бобовыми, но и стимулирует рост рапса, томатов и салата (Благова и др., 2015; Вершинина и др., 2013). *Rhizobium leguminosarum* интересна как продуцент экзополисахаридов (ЭПС) и в качестве сырья использует промышленные сточные воды (Sellami et al., 2015). Сами ЭПС применяют в случаях загрязнения почв тяжелыми металлами, используя микроорганизмы и растения для восстановления биологической активности экосистемы (Вершинина и др., 2020). В сфере экологии *Rhizobium leguminosarum* обладает потенциалом в удалении

трёхвалентного и шестивалентного хрома в промышленных сточных водах (Raaman et al., 2012).

На Рисунке 2 представлена *Kocuria rhizophila*.

Kocuria rhizophila — почвенная грамположительная палочка семейства *Micrococcaceae*. До реклассификации имела название *Micrococcus luteus* (Tang & Patrick, 2003). При росте на плотных средах формируются гладкие выпуклые колонии желтого цвета диаметром 3–5 мм. Обладает высокой протеолитической, кератинолитической активностями. Поэтому обладает высоким потенциалом в биодegradации куриных перьев с целью получения аминокислот (Wojciech et al., 2015; Wojciech et al., 2018). Так как является условно патогенным микроорганизмом, то используется как эталонный штамм в фармацевтике и пищевой отрасли на проверку качества сред и продуктов (Wojciech et al., 2018).

На Рисунке 3 представлены колонии *Acinetobacter radioresistens*.

Acinetobacter radioresistens — грамтрицательная строго аэробная не ферментирующая, каталазопозитивная бактерия-прототроф семейства *Moraxellaceae* (Чеботарь и др., 2014). Растет на простых средах, и при росте на плотных средах образуются выпуклые гладкие колонии диаметром 2–3 мм бледно-желтого цвета. Обладает высокой липазной активностью, что позволяет использовать синтезируемые ею липазы в качестве компонентов поверхностно-активных препаратов для моющих средств. Благодаря универсальной метаболической



Рисунок 1
Колонии *Rhizobium leguminosarum*, среда МПА

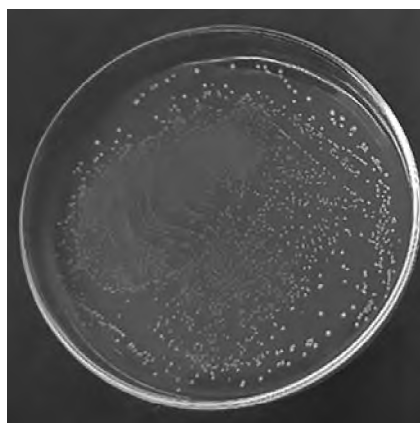


Рисунок 2
Колонии *Kocuria rhizophila*, среда МПА



Рисунок 3
Колонии *Acinetobacter radioresistens*, среда МПА

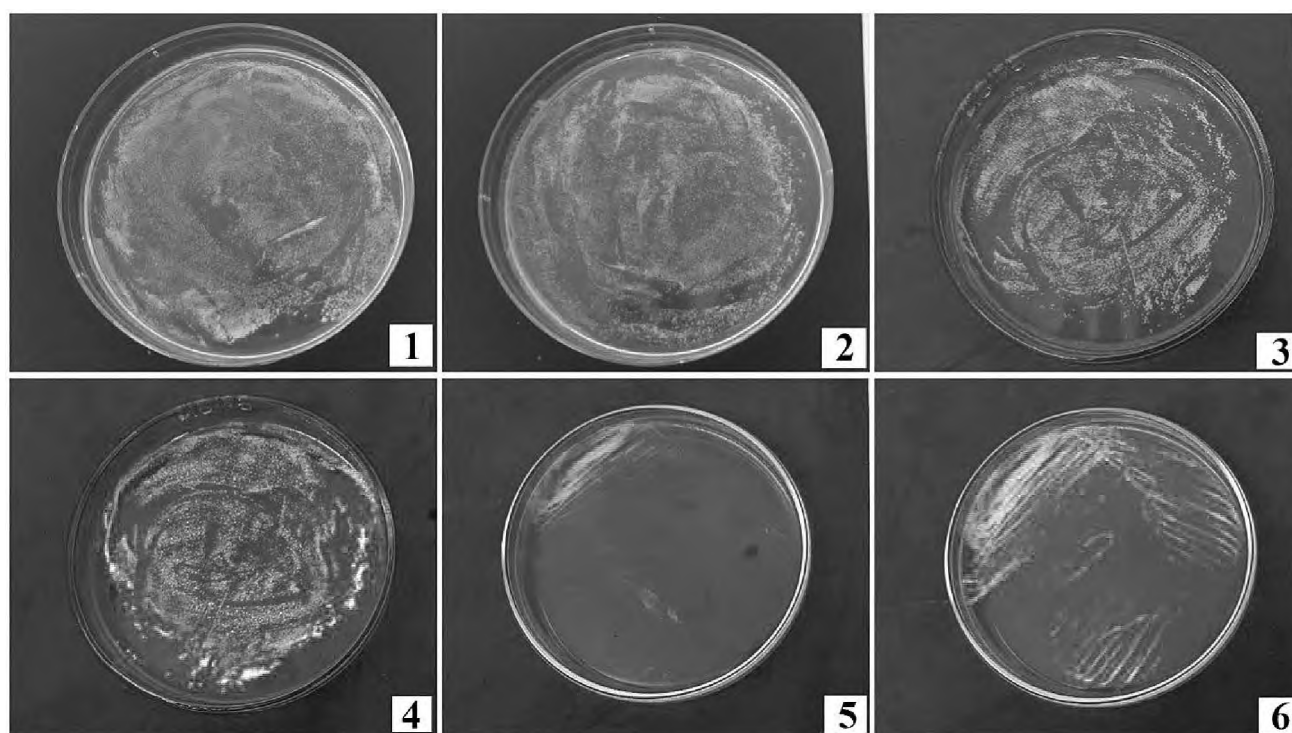


Рисунок 4

Колонии *Arthrobacter agilis*, растущие на МПА (1), LB среде (3), LB среде без NaCl (5) при температуре 28 °С, и пигментообразование на МПА (2), LB среде (4), LB среде без NaCl (6) при температуре 4 °С

активности, *Acinetobacter radioresistens* синтезирует полиуретаназу, расщепляющую полиуретан, и фенолгидроксилазу, используя фенол в качестве единственного источника углерода (Чеботарь и др., 2014). Штаммы *Acinetobacter radioresistens* ВКПМ-В-2838 и *Acinetobacter radioresistens* ВКПМ-В-5064 входят в состав биопрепарата по очистке почвы от нефти и нефтепродуктов⁶.

Особый интерес *Acinetobacter radioresistens* вызывает в сфере нанотехнологии. *Acinetobacter radioresistens* эффективно синтезирует в среде Мейнелла наночастицы серебра, обладающие бактерицидными и ранозаживляющими свойствами. Наночастицы серебра ингибируют рост таких болезнетворных бактерий как *Staphylococcus saprophyticus* (возбудитель инфекций мочевыводительных органов) и *Salmonella typhimurium* (возбудитель брюшного тифа). Способность к формированию наночастиц в супернатанте имеет защитный эффект, так как продуцент более устойчив к собственным наноча-

стицам, чем к ионам серебра (Лобанова, 2020; Нахаева, 2018).

На Рисунке 4 представлены колонии *Arthrobacter agilis*.

Arthrobacter agilis — грамположительная аэробная бактерия семейства *Micrococcaceae*. Относится к психротрофам и растет при низких температурах с образованием пигмента — каротиноидов. Может продуцировать холодоактивные ферменты, такие как липаза, амилаза, протеаза, хитиназа и β-галактозидаза (Ram et al., 2016). Дополнительно *Arthrobacter agilis* интересна как продуцент индол-3-уксусной кислоты, применяемый в сельском хозяйстве как гормон роста для растений (Ozidal et al., 2017a) и диметилгексадециламин, ингибирующий рост фитопатогенных грибов (Velázquez-Becerra et al., 2013). В пищевой промышленности интересен как продуцент натурального красителя — бета-каротина (Ozidal et al., 2017b).

⁶ Байсангуров, Э. К., Бекузарова, С. А., Салбиева, З. И., Хестанов, А. А., & Кайтмазова, Д. Б. (2005). РФ Патент № 2343667. Способ биологической защиты растений картофеля. Владикавказ: Владикавказский институт управления.

Особенности роста выявленных культур *Acinetobacter radioresistens* и *Arthrobacter agilis*

В ходе проведенных исследований было отмечено, что культура *Acinetobacter radioresistens* благотворно влияет на рост бактерии *Arthrobacter agilis* и ускоряет процесс накопления каротиноидов. Ниже, на Рисунке 5 представлены отдельно растущие колонии *Acinetobacter radioresistens* (1), *Arthrobacter agilis* (2) и продемонстрирован совместный их рост на агаризованной среде LB (3) с (см. Процедура исследования).

Следует отметить, что характер роста культуры *Arthrobacter agilis* без бактерии *Acinetobacter radioresistens* на плотных питательных средах с варьированием концентрации соли и температурного режима культивирования различается. Так, на агаризованной среде LB без NaCl (Рисунки 4(5) и 5(1)), при температуре 28°C рост культуры средний, пигментообразование четко выражено. На той же среде с NaCl (Рисунок 4(3)) при той же температуре рост средний, единичный, цвет колоний не насыщенный. При температуре культивирования 28 ± 1 °C на МПА (см. Рисунок 4(1)) рост слабый, колонии проявляются при длительном культивировании (более 10 суток), цвет при температуре 4°C практически не изменился (Рисунок 4(2)).

Можно предположить, что метаболиты, синтезируемые культурой *Acinetobacter radioresistens*, являются субстратами для развития *Arthrobacter agilis*. Для подтверждения высказанного предположения необходимо провести ряд экспериментов по культивированию *Acinetobacter radioresistens* и *Arthrobacter agilis* на жидких средах различного состава глубинным способом и изучить химический состав культуральной жидкости.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты, в отличие от известных данных о микробиологическом составе пшеничных отрубей, в основном обсуждаемом с точки зрения отрицательного воздействия на показатели качества сырья в процессе хранения, позволяют рассматривать аборигенные таксоны в качестве потенциальных продуцентов полезных ингредиентов. Многие идентифицированные в изучаемом образце пшеничных отрубей бактериальные культуры представляют практический интерес для разработки технологий пищевых и кормовых добавок при ферментации пшеничных отрубей под действием как одного собственного изолята, так и консорциума аборигенных микроорганизмов. Выявленное взаимовлияние продуктов обменных процессов культур *Acinetobacter radioresistens*

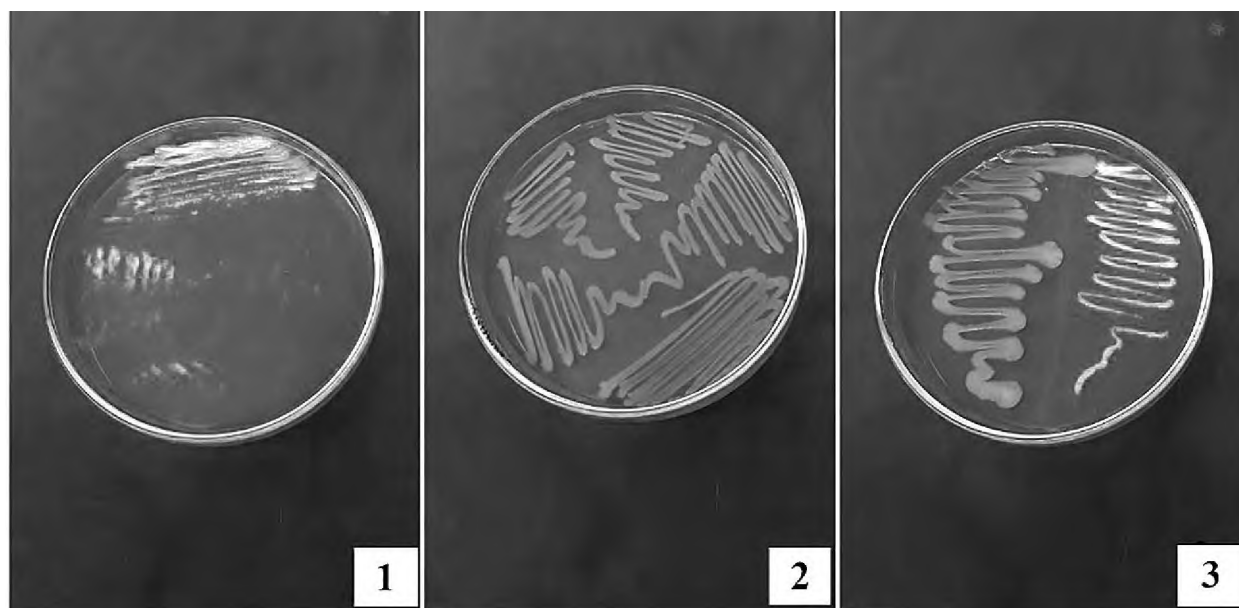


Рисунок 5

Отдельно растущие колонии *Arthrobacter agilis* (1), *Acinetobacter radioresistens* (2) и их совместный рост на чашке Петри (3) с агаризованной средой LB без NaCl при температуре 28°C

и *Arthrobacter agilis*, заключающееся в биосинтезе субстратов одним видом бактерии для роста и развития другого вида, можно рассматривать как результат цепного механизма инициации роста не культивируемых микроорганизмов.

Пшеничные отруби как источник потенциальных промышленных микробных продуцентов пищевых микроингредиентов и биологически активных веществ практически не изучен. Известная информация об их микробиологическом составе дает представление о возможных путях заражения сырья при хранении и механизмах развития патогенной микрофлоры, в основном грибного происхождения (Radenkovs et al., 2013; Чеботарь и соавт., 2014). Данные о бактериальной микрофлоре более доступны, но представляют в основном информационный характер, констатирующий факт присутствия той, или иной культуры в пшеничных отрубях (Radenkovs et al., 2013; Чеботарь и соавт., 2014; Ильяшник и соавт., 2011). Научный и практический интерес представляет изучение консорциума микроорганизмов, составляющих естественную микрофлору вторичного сырья, с использованием генетических методов исследований, направленных на изучение метагенома микробного консорциума и идентификацию его отдельных представителей. (Radenkovs et al., 2013). Применительно к пшеничным отрубям такого рода исследования единичны. Представленные в данной работе результаты по изучению микробиологического состава пшеничных отрубей пищевого назначения показали, что повышение влажности в толще слоя сырья индуцирует рост и развитие микроорганизмов, в частности бактериальных культур. Идентифицированный качественный состав, как показали полученные результаты, отличается от данных других авторов, упоминающих в своих работах такие таксоны, как *Erwiniaher bicola* (Ильяшник и соавт., 2011), *Bacillus mesentericus* и *Bacillus mycoides*, *Xanthomonas campestris* (Осовская и соавт., 2021), *Pseudomonas syringae*, *Corynebacterium* spp (Radenkovs et al., 2013; Роганина, 2017; Сиротин и соавт., 2012). В исследуемой нами партии пшеничных отрубей пищевого назначения выше представленные культуры не обнаружены. Идентифицированные нами изоляты являются представителями родов *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Rhizobium*, *Kocuria*, а *Enterococcus*. Выявленное различие обусловлено сортом пшеницы,

при переработке которой получены отруби, производственными режимами, технологией обработки, условиями перевозки и хранения и др. Превышение нормируемого показателя «массовая доля влаги»⁷ является одним из основных факторов, вызывающих развитие микрофлоры, в том числе посторонней, занесенной извне, при открытом доступе к партии отрубей после вскрытия упаковки и длительном хранении.

Выявленные в исследуемых диетических пшеничных отрубях бактериальные культуры не упоминаются в качестве микрофлоры, характерной для данного вида отхода мукомольных производств. По-видимому, известные данные, касающиеся микробиологического состава пшеничных отрубей, относятся к их кормовой форме. Однако идентифицированная микрофлора может относиться к некультивируемой микрофлоре, то есть не проявляющей рост в процессе хранения при соблюдении нормативной влажности, но быстро развивающейся при ее повышении. В результате проведенных нами исследований выявлено, что в зависимости от длительности культивирования изучаемых пшеничных отрубей глубинным способом качественный и количественный состав микробного консорциума изменяется. Так, качественный состав идентифицированной микрофлоры на 2, 5 и 7 сут. ферментации пшеничных отрубей варьирует (Таблица 1). Среди выявленных 15 культур меньше всего культур проявили рост при 2-суточной ферментации (3 культуры). При 5-суточной ферментации проявили рост 5 культур, при 7-суточной ферментации — 7 культур. Представленную выше тенденцию, предположительно, можно обосновать так, что выявленные в результате 2-суточной ферментации микроорганизмы выделяют метаболиты, которые являются субстратами для остальных микроорганизмов, проявляющих рост значительно позже, при увеличении времени ферментации. Следует отметить, что некоторые морфологические свойства одних и тех же бактерий, идентифицированных в исследуемые периоды ферментации, отличаются (см. Таблицу 1), например, цвет колоний культур *Acinetobacter radioresistens* (2 и 7 сут.), *Enterobacter cloacae* (5 и 7 сут.), *Kocuria rhizophila* (5 и 7 сут.), профиль и прозрачность колоний *Acinetobacter radioresistens* (2 и 7 сут) и *Kocuria rhizophila* (5 и 7 сут).

⁷ ГОСТ Р 53496–2009. (2019). *Отруби пшеничные и ржаные диетические. Технические условия*. М.: Стандартинформ.

Интересна выявленная зависимость роста культуры *Arthrobacter agilis* при совместном культивировании с изолятом *Acinetobacter radioresistens* на питательной среде LB без NaCl и при температуре 28°C (Рисунок 5). Используемая в экспериментах плотная питательная среда LB содержит существенно больше минеральной соли NaCl (Свердлова, 2021), чем МПА, и, возможно, при изменении температурного режима присутствие соли сохраняет бактериальную клетку от термошока и ответной реакции в виде пигментообразования не происходит. С практической точки зрения защитный эффект образования пигмента можно использовать для промышленного получения пищевого красящего вещества из группы каротиноидов. Из литературных источников известно, что культура *Arthrobacter agilis* холодоустойчива (Ram et al., 2016; Ozdal et al., 2017a) и характерна для регионов с низкотемпературными климатическими условиями. Возможно, что идентифицированная в исследуемой партии пшеничных отрубей бактерия *Arthrobacter agilis* изначально присутствовала в зерне обрабатываемой пшеницы не исключено, что она попала в пшеничные отруби в результате переработки зерна. Подобного рода информация известна из ряда работ, в которых упоминается возможность миграции микроорганизмов с поверхности зерна на продукты его переработки (Ильяшник и соавт., 2011). Такое предположение применительно и к идентифицированной культуре *Rhizobium leguminosarum*, которая, по литературным источникам, синтезирует ЭПС, применяемые для удаления тяжелых металлов и восстановления экосистемы (Sellami et al., 2015; Вершинина и соавт., 2020) и, возможно, использовалась для выращивания зерна пшеницы, при переработке которой получены исследуемые в данной работе отруби. Из бактерий, охарактеризованных выше (см. «Литературные данные об отдельных представителях выявленных таксонов»), выявленные культуры *Acinetobacter radioresistens*, по-видимому, обладают наиболее пластичной ферментной системой по сравнению с другими таксонами микробного консорциума изучаемых пшеничных отрубей, поскольку клетки этой бактерии встречаются на протяжении всего биотехнологического процесса и, по литературным данным, она является продуцентом гидролитических ферментов, в том числе и промышленного значения, например, липазы (Чеботарь и соавт., 2014). Другая культура, которая идентифицирована на 5–7 сут ферментации отрубей, *Kocuria rhizophila*, также является про-

дуцентом гидролаз, таких как протеазы, кератиназы (Wojciech et al., 2015; Wojciech et al., 2018).

Поскольку состав пшеничных отрубей включает углерод- и азотсодержащие вещества, являющиеся субстратами для развития микроорганизмов, и важные микроэлементы, то, очевидно, что они обладают значительным биотехнологическим потенциалом в качестве сырья для получения промышленно важных микроорганизмов. В свою очередь эти микроорганизмы при усвоении субстратов при глубокой ферментации в разные временные периоды выделяют во внешнюю среду метаболиты, которые являются также промышленно важными веществами (ферменты, аминокислоты, витамины, экзополисахариды, биоактивные пептиды, фенольные соединения, антиоксиданты). Они же в определенных условиях проявляют себя как биологически ценные компоненты питательной среды для роста микроорганизмов, не культивируемых в менее влажных условиях. В данных исследованиях это в основном представители *Enterococcus* (Таблица 1), которые потребляют субстраты, выделенные на 2 сут ферментации пшеничных отрубей другими бактериями и являющиеся пробиотическими культурами.

По информационным источникам, общее количество микроорганизмов в зерне составляет 2–3 млн на 1 г продукта, многие из которых встречаются в продуктах переработки зерна и, как показали представленные результаты, являются промышленно полезными. Несмотря на то, что некоторые из выявленных бактериальных культур являются условно патогенными, многие из них обладают биотехнологическим потенциалом и являются объектом исследований для разработки промышленных технологий получения различных пищевых продуктов, пищевых добавок, технологических вспомогательных средств, биологически активных веществ.

Полученные результаты являются начальным звеном для развития такого биотехнологического направления как реализация продуктов переработки пищевого и сельскохозяйственного сырья в качестве источника микробных продуцентов. Для получения более полного представления о качественном и количественном разнообразии аборигенной микрофлоры необходимо расширить объем выборки исследуемого вторичного сырья, провести

метагеномные исследования и идентифицировать таксоны, установить механизмы взаимодействия выявленных таксонов на обменном уровне и механизмы биосинтеза ими полезных метаболитов, создать базу данных аборигенных микроорганизмов вторичного сырья, базу данных синтезируемых ими метаболитов, позволяющие целенаправленно подобрать штамм-продуцент и прогнозировать его продуктивность по конкретному веществу.

ВЫВОДЫ

Полученные данные свидетельствуют о том, что бактериальный консорциум исследуемых диетических пшеничных отрубей обладает морфологическим разнообразием. Тот факт, что наибольшее количество микроорганизмов обнаружено при 7-суточной ферментации, позволяет предположить, что метаболиты, синтезируемые бактериальными представителями консорциума на начальных стадиях ферментации, являются субстратами для роста и развития других бактерий. В их отсутствии такие бактерии не имеют источников углерода, азота и других необходимых для жизнедеятельности элементов в культуральной среде. Возможно, что многокомпонентный сложный состав пшеничных отрубей не доступен для усвоения этими культурами, а выделяемые на более поздних временных этапах ферментации простые вещества способствуют накоплению их биомассы и формированию ферментной системы, индуцируя синтез ферментов, участвующих в обменных процессах, в том числе и гидролаз.

Исследованные диетические пшеничные отруби являются источником микроорганизмов – потенциальных продуцентов ферментов, гормонов, пигментов, антиоксидантов, биостимуляторов роста растений, экзополисахаридов. Являясь представителями микробного консорциума, они синтезируют широкий спектр ферментов, уча-

ствующих в клеточных обменных процессах как собственных, так и в биохимических реакциях, протекающих для других аборигенных таксонов. Таким примером является взаимовлияние развития выявленных в результате исследований культур *Acinetobacter radioresistens* и *Arthrobacter agilis*. Бактерия *Acinetobacter radioresistens* способствует росту бактерии *Arthrobacter agilis* и ускорению процесса накопления каротиноидов.

Диетические пшеничные отруби являются перспективным источником субстратов для микроорганизмов различных таксономических групп и могут найти широкое применение в различных отраслях промышленности, помимо пищевой. Поэтому актуальным является вопрос о получении полезных продуктов из пшеничных отрубей с помощью не только собственной (аборигенной) микрофлоры, но и индивидуальных микроорганизмов-продуцентов. Для решения таких задач необходимо в перспективе исследовать гидролитическую активность выделенных микробных изолятов, оценить биосинтетическую способность и определить направления использования синтезируемых ими метаболитов.

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Свердлова О. П.: проведение исследования; создание черновика рукописи.

Причеп А. О.: проведение исследования.

Шарова Н. Ю.: руководство исследованием; концептуализация; методология; создание рукописи и ее редактирование.

Лоскутов С. И.: программное обеспечение, валидация данных.

Принцева А. А.: проведение исследования.

ЛИТЕРАТУРА

- Благова, Д. К., Вершинина, З. Р., Нигматуллина, Л. Р., Лавина, А. М., Баймиев, Ан. Х., & Баймиев, Ал. Х. (2015). Искусственные ассоциативные симбиозы между томатом и ризобиями, обладающими фунгистатической активностью. *Сельскохозяйственная биология*, 50(1), 107–114. <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2015.1.107rus>
- Вершинина, З. Р., Благова, Д. К., Нигматуллина, Л. Р., Оркодашвили, А. М., & Баймиев, Ал. Х. (2013). Искусственная ассоциативная симбиотическая система рапса с ризобиями для защиты от фитопатогенов. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*, 3, 1579–1582.
- Вершинина, З. Р., Лавина, А. М., & Чубукова, О. В. (2020). Экзополисахариды *Rhizobium leguminosarum* — краткий обзор. *Биолика*, 12(1), 27–49. <https://dx.doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2020-3>
- Ефимова, Л. В., & Удалова, Т. А. (2011). Эффективные микроорганизмы в кормлении крупного рогатого скота и свиней: *Монография*. Красноярск: Красноярский НИИЖ Россельхозакадемии.
- Ильяшник, А. В., Ваницкая, Т. В., Соловьева, Е. В., & Козинец, А. В. (2011). Некоторые особенности развития микрофлоры в отрубях. *Известия вузов. Пищевая технология*, 4, 118–119.
- Конева, С. И., & Могучева, Э. П. (2011). Исследование влияния пшеничных отрубей на качество хлеба повышенной пищевой ценности. *Ползуновский вестник*, 2, 141–144.
- Котляров, В. В., & Сединина, Н. В. (2014). Особенности малотонажного производства микробиологических препаратов для защиты растений и его оптимизация. *Научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*, 100(6), 1–19.
- Лабинская, А. С., Блинкова, Л. П., & Ещина, А. С. (2004). Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований. В *Санитарно-микробиологические исследования почвы* (с. 432–445). М.: Медицина.
- Лобанова, И. В. (2020). Способность бактерий рода *Acinetobacter* синтезировать наночастицы серебра и их антибактериальная активность. *Universum: Химия и биология*, 9, 5–7.
- Нахаева, Н. В. (2018). Образование наночастиц серебра бактериями *Acinetobacter radioresistens*. В *75-я научная конференция студентов и аспирантов Белорусского государственного университета* (т. 3, с. 314–317). Минск: Белорусский государственный университет.
- Осовская, И. И., Бородин, А. М., Курзин, А. В., & Рошин, В. И. (2021). Синтез и свойства модифицированной ксантановой камеди. *Химия растительного сырья*, 4, 95–104. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021049525>
- Роганина, В. Ю. (2017). Влияние времени инкубации стартовой культуры сверхпродуцента лизина *Corynebacterium glutamicum* В-11167 на выход продукта в технологическом цикле. *Евразийский Союз Ученых*, 6, 9–11.
- Свердлова, О. П., Причеп, А. О., & Сычева, В. С. (2021). Микробиологическая структура пшеничных отрубей: Перспективность и технологические решения. *Пищевые системы*, 4, 248–251. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-3S-248-251>
- Сиротин, А. А., Глухарева, Н. А., & Оспишева, Н. В., Бондаренко, В. В., Резун, А. П. & Зенинская, Н. А. (2012). Процесс биосинтеза лизина штаммом *Corynebacterium glutamicum* В-11167 на основе сред, содержащих гидролизат пшеничного глютена. *Современные проблемы науки и образования*, 6, 1–8.
- Хромова, Н. Ю. (2019). *Биотехнологическая конверсия зернового сырья для получения пробиотических продуктов и кормовых белковых добавок* [Кандидатская диссертация, Российский химико-технологический университет имени Менделеева]. М., Россия.
- Чеботарь, И. В., Лазарева, А. В., Масалов, Я. К., Михайлович, В. М., & Маянский, Н. А. (2014). *Acinetobacter*: Микробиологические, патогенетические и резистентные свойства. *Вестник Российской академии медицинских наук*, 66(9–10), 39–50.
- Espinheira, R. P., Lima, V. A., Tiago, R., Guimarães, M., Oliveira, C. A., de Souza, M. V., Gilberto, B., Nogueira, F. C. S., Teixeira, R. S. S., da Silva Bon, E. P., da Silva, A. S. (2022). *Aspergillus awamori* endoglucanase-rich supernatant enhances lignocellulosic biomass liquefaction in high-solids enzymatic hydrolysis. *Biochemical Engineering Journal*, 183, Article 108448. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108448>
- Ozdam, M., Ozdam, O. G., & Gurkok, S. (2017a). Statistical optimization of beta-carotene production by *Arthrobacter agilis* A17 using response surface methodology and box-behnken design. *AIP Conference Proceedings*, 1833(1), Article 020101. <https://doi.org/10.1063/1.4981749>
- Ozdam, M., Ozlem, O. G., Sezen, A., Algur, O. F., & Kurbanoğlu, E. B. (2017b). Continuous production of indole-3-acetic acid by immobilized cells of *Arthrobacter agilis*. *Biotech*, 7, Article 23. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0605-0>
- Raaman, N., Mahendran, B., Jaganathan, C., Sukumar, S., & Chandrasekaran, V. (2012). Removal of chromium using *Rhizobium leguminosarum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 627–636. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0856-6>
- Radenkovs, V., Klava, D., & Juhnevica, K. (2013). Microbiology and safety of bran from Latvia. *International Conference on Nutrition and Food Sciences*, 53(17), 87–92. <https://doi.org/10.7763/IPCBEE.2013.V53.17>
- Ram, N. S., Sonam, G., Ajar, N. Y., Prakhar, G., Sneha, G., Rajeev, K., & Anil, K. S. (2016). First high quality draft genome sequence of a plant growth promoting and cold active enzyme producing psychrotrophic *Arthrobacter agilis* strain L77. *Standards in Genomic Sciences*, 1, Article 54. <https://doi.org/10.1186/s40793-016-0176-4>

- Sellami, M., Oszako, T., Miled, N., & Rebah, F. B. (2015). Industrial wastewater as raw material for exopolysaccharide production by *Rhizobium leguminosarum*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(2), 407–413. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-838246220140153>
- Tang, J. S., & Patrick, M. G. (2003). Reclassification of ATCC 9341 from *Micrococcus luteus* to *Kocuriarhizophila*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(4), 995–997. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02372-0>
- Velazquez-Becerra, C., Macias-Rodríguez, L. I., Lopez-Bucio, J., Flores-Cortez, I., Santoyo, G., Hernandez-Soberano, C., & Valencia-Cantero, E. (2013). The rhizobacterium *Arthrobacter agilis* produces dimethylhexadecylamine, a compound that inhibits growth of phytopathogenic fungi in vitro. *Protoplasma*, 1, 100–112. <https://doi.org/10.1007/s00709-013-0506-y>
- Wojciech, L., Choinska A., Rodziewicz, A., & Piegza, M. (2015). Keratinolytic abilities of *Micrococcus luteus* from poultry waste. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(3), 691–700. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-838246320140098>
- Wojciech, L., Zarowska, B., Chorązyk, D., Pudlo, A., Piegza, M., Kancelista, A., & Kopec, W. (2018). New keratinolytic bacteria in valorization of chicken feather waste. *AMB Expr.*, 8. Article 9. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0538-y>
- Yan, F., Lei, W., Ajab, K., Rui, Z., Siang, W., & Xiaoyuan, J. (2020). Fermented wheat bran by xylanase-producing *Bacillus cereus* boosts the intestinal microflora of broiler chickens. *Poultry Science*, 99(1), 263–271. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pez482>

REFERENCES

- Blagova, D. K., Vershinina, Z. R., Nigmatullina, L. R., Lavina, A. M., Baimiev, An. Kh., & Baimiev, Al. Kh. (2015). Искусственные ассоциативные симбиозы между томатом и ризобиями, обладающие фунгистатической активностью [Artificial associative symbioses between tomato and rhizobia with fungistatic activity]. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 50(1), 107–114. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2015.1.107rus>
- Chebotař, I. V., Lazareva, A. V., Masalov, Ya. K., Mikhailovich, V. M., & Mayanskii, N. A. (2014). Acinetobacter: Mikrobiologicheskie, patogenicheskie i rezistentnye svoystva [Acinetobacter: Microbiological, pathogenic and resistant properties]. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences]*, 66(9–10), 39–50.
- Efimova, L. V., & Udalova, T. A. (2011). *Effektivnye mikroorganizmy v kormlenii krupnogo rogatogo skota i svinei: Monografiya [Effective Microorganisms in Cattle and Pigs Feeding: Monograph]*. Krasnoyarsk: Krasnoyarskii NIIZh Rossel'khozakademii.
- Il'yashnik, A. V., Vanitskaya, T. V., Solov'eva, E. V., & Kozinets, A. V. (2011). Nekotorye osobennosti razvitiya mikroflory v otrubyakh [Some features of the development of microflora in bran]. *Izvestiya vuzov. Pishchevaya tekhnologiya [University News. Food Technology]*, 4, 118–119.
- Khromova, N. Yu. (2019). *Biotehnologicheskaya konversiya zernovogo syr'ya dlya polucheniya probioticheskikh produktov i kormovykh belkovykh dobavok [Biotechnological conversion of grain raw materials for the production of probiotic products and feed protein additives]* [Candidate Dissertation, Rossiiskii khimiko-tekhnologicheskii universitet imeni Mendeleeva]. Moscow, Russia.
- Koneva, S. I., & Mogucheva, E. P. (2011). Issledovanie vliyaniya pshenichnykh otrubei na kachestvo khleba povyshennoi pishchevoi tsnennosti [Study of the influence of wheat bran on the quality of bread with increased nutritional value]. *Polzunovskii vestnik [Polzunovsky Bulletin]*, 2, 141–144.
- Kotlyarov, V. V., & Sedinina, N. V. (2014). Osobennosti malotonazhnogo proizvodstva mikrobiologicheskikh preparatov dlya zashchity rastenii i ego optimizatsiya [Features of low-tonnage production of microbiological preparations for plant protection and its optimization]. *Nauchnyi zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta [Scientific Journal of the Kuban State Agrarian University]*, 100(6), 1–19.
- Labinskaya, A. S., Blinkova, L. P., & Eshchina, A. S. (2004). Obshchaya i sanitarnaya mikrobiologiya s tekhniki mikrobiologicheskikh issledovaniy [General and sanitary microbiology with microbiological research techniques]. In *Sanitarno-mikrobiologicheskie issledovaniya pochvy [Sanitary and microbiological studies of the soil]* (pp. 432–445). Moscow: Meditsina.
- Lobanova, I. V. (2020). Sposobnost' bakterii roda Acinetobacter sintetirovat' nanochastitsy serebra i ikh antibakterial'naya aktivnost' [The ability of bacteria of the genus Acinetobacter to synthesize silver nanoparticles and their antibacterial activity]. *Universum: Khimiya i biologiya [Universum: Chemistry and Biology]*, 9, 5–7.
- Nakhaeva, N. V. (2018). Obrazovanie nanochastits serebra bakteriyami Acinetobacter radioresistens [Formation of silver nanoparticles by Acinetobacter radioresistens bacteria]. In *75-ya nauchnaya konferentsiya studentov i aspirantov Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta [75th Scientific Conference of students and postgraduates of the Belarusian State University]* (vol. 3, pp. 314–317). Minsk: Belorusskii gosudarstvennyi universitet.
- Osovskaya, I. I., Borodina A. M., Kurzin A. V., & Roshchin V. I. (2021). Sintez i svoystva modifitsirovannoi ksantanovoi kamedy [Synthesis and properties of modified xanthan gum]. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya [Chemistry of Plant Raw Materials]*, 4, 95–104. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021049525>
- Roganina, V. Yu. (2017). Vliyanie vremeni inkubatsii startovoi kul'tury sverkhproduksenta lizina Corynebacterium glutamicum B-11167 na vykhod produkta v tekhnologicheskom tsikle [The effect of the incubation time of the starter culture of the overproducer lysine Corynebacterium glutamicum B-11167 on the yield of the product in

- the technological cycle]. *Evrasiiskii Soyuz Uchenykh [Eurasian Union of Scientists]*, 6, 9–11.
- Sirotnin, A. A., Glukhareva N. A., & Ospishcheva N. V., Bondarenko V. V., Rezun A. P. & Zeninskaya N. A. (2012). Protseess biosinteza lizina shtammom *Corynebacterium glutamicum* B – 11167 na osnove sred, sodержashchikh gidrolizat pshenichnogo glyutena [The process of lysine biosynthesis by *Corynebacterium glutamicum* B-11167 strain based on media containing wheat gluten hydrolysate]. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya [Modern problems of science and education]*, 6, 1–8.
- Sverdlova, O. P., Prichepa, A. O., & Sycheva, V. S. (2021). Mikrobiologicheskaya struktura pshenichnykh otrubei: Perspektivnost' i tekhnologicheskie resheniya [Microbiological structure of wheat bran: Prospects and technological solutions]. *Pishchevye sistemy [Food Systems]*, 4, 248–251. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-3S-248-251>
- Vershinina, Z. R., Blagova, D. K., Nigmatullina, L. R., Orkodashvili, A. M., & Baimiev, Al. Kh. (2013). Iskusstvennaya assotsiativnaya simbioticheskaya sistema rapsa s rizobiymi dlya zashchity ot fitopatogenov [Artificial associative symbiotic system of rapeseed with rhizobia for protection against phytopathogens]. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi akademii nauk [Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences]*, 3, 1579–1582.
- Vershinina, Z. R., Lavina, A. M., & Chubukova, O. B. (2020). Ekzopolisakharidy *Rhizobium leguminosarum* – kratkii obzor [Exopolysaccharides of *Rhizobium leguminosarum* – a brief overview]. *Biomika [Biomics]*, 12(1), 27–49. <https://dx.doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2020-3>
- Espinheira, R. P., Lima, V. A., Tiago, R., Guimarães, M., Oliveira, C. A., de Souza, M. V., Gilberto, B., Nogueira, F. C. S., Teixeira, R. S. S., da Silva Bon, E. P., da Silva, A. S. (2022). *Aspergillus awamori* endoglucanase-rich supernatant enhances lignocellulosic biomass liquefaction in high-solids enzymatic hydrolysis. *Biochemical Engineering Journal*, 183, Article 108448. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108448>
- Ozidal, M., Ozidal, O. G., & Gurkok, S. (2017a). Statistical optimization of beta-carotene production by *Arthrobacter agilis* A17 using response surface methodology and box-behnken design. *AIP Conference Proceedings*, 1833(1), Article 020101. <https://doi.org/10.1063/1.4981749>
- Ozidal, M., Ozlem, O. G., Sezen, A., Algur, O. F., & Kurbanoglu, E. B. (2017b). Continuous production of indole-3-acetic acid by immobilized cells of *Arthrobacter agilis*. *Biotech*, 7, Article 23. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0605-0>
- Raaman, N., Mahendran, B., Jaganathan, C., SukumarS, & Chandrasekaran, V. (2012). Removal of chromium using *Rhizobium leguminosarum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 627–636. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0856-6>
- Radenkovs, V., Klava, D., & Juhnevcica, K. (2013). Microbiology and safety of bran from Latvia. *International Conference on Nutrition and Food Sciences*, 53(17), 87–92. <https://doi.org/10.7763/IPCBE.2013.V53.17>
- Ram, N. S., Sonam, G., Ajar, N. Y., Prakhar, G., Sneha, G., Rajeev, K., & Anil, K. S. (2016). First high quality draft genome sequence of a plant growth promoting and cold active enzyme producing psychrotrophic *Arthrobacter agilis* strain L77. *Standards in Genomic Sciences*, 1, Article 54. <https://doi.org/10.1186/s40793-016-0176-4>
- Sellami, M., Oszako, T., Miled, N., & Rebah, F. B. (2015). Industrial wastewater as raw material for exopolysaccharide production by *Rhizobium leguminosarum*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(2), 407–413. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-838246220140153>
- Tang, J. S., & Patrick, M. G. (2003). Reclassification of ATCC 9341 from *Micrococcus luteus* to *Kocuriarhizophila*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(4), 995–997. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02372-0>
- Velazquez-Becerra, C., Macias-Rodríguez, L. I., Lopez-Bucio, J., Flores-Cortez, I., Santoyo, G., Hernandez-Soberano, C., & Valencia-Cantero, E. (2013). The rhizobacterium *Arthrobacter agilis* produces dimethylhexadecylamine, a compound that inhibits growth of phytopathogenic fungi in vitro. *Protoplasma*, 1, 100–112. <https://doi.org/10.1007/s00709-013-0506-y>
- Wojciech, L., Choinska A., Rodziewicz, A., & Piegza, M. (2015). Keratinolytic abilities of *Micrococcus luteus* from poultry waste. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46(3), 691–700. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-838246320140098>
- Wojciech, L., Zarowska, B., Chorązyk, D., Pudlo, A., Piegza, M., Kancelista, A., & Kopec, W. (2018). New keratinolytic bacteria in valorization of chicken feather waste. *AMB Expr.*, 8, Article 9. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0538-y>
- Yan, F., Lei, W., Ajab, K., Rui, Z., Siang, W., & Xiaoyuan, J. (2020). Fermented wheat bran by xylanase-producing *Bacillus cereus* boosts the intestinal microflora of broiler chickens. *Poultry Science*, 99(1), 263–271. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pez482>