

А.С. Машжан^{1,2,3}, **Р. Хавьер-Лопес²**, **А.О. Бисенбай^{1,3}**,
А.Б. Талипова¹, **А.С. Кистаубаева^{1*}**

¹Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы қ., Қазақстан

²Берген университеті, Норвегия

³«Национальный центр биотехнологии», ЖШС Алматы қаласындағы филиалы, Қазақстан

*e-mail: kistaubayeva.kaznu@gmail.com

КЕРАТИН ҚҰРАМДЫ ҚАЛДЫҚТАРДЫ КЕРАТИНАЗАЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІ БАР ТЕРМОФИЛЬДІ БАКТЕРИЯМЕН ҮДЫРАТУ

Кератиназалық белсенділігі бар *Caldanaerobacter subterraneus* KAK штаммы Жаркент геотермалдық су көздерінен анаэробты қоректік ортада бөлініп алынды. KAK штаммы 55-85°C температура (оптимум 65-70°C) аралығында және pH көрсеткіші 4,5-9,0 (оптимум 6,8) дейінгі аралықта өседі. Глюкозасы бар қоректік ортаның оңтайлы жағдайларында жасушалар негізінен жеке, жұппен немесе сирек тізбектелетіні байқалса эндоспора түзу қабілеті байқалмады, алайда қоректік ортаға глюкозаның орнына негізгі энергия көзі ретінде қой жүні, тауық қауырсынымен инкубациялағанда немесе оңтайлы емес жағдайларда KAK штаммының жасушалары айтарлықтай ұзарып (5-8 мкм), жіңішкеріп, морфологиясы өзгерді. Сонымен қатар, жасушаларда спора түзілгені байқалды. KAK штаммы 65-70°C аралығындағы тауық қауырсын кератинінің және қой жүнінің тиімді ыдырата алу қабілетін көрсетті. KAK штаммының 16S рРНҚ (1452 ж.н) ген тізбегін BLASTn бағдарламасы көмегімен GenBank дерекқорларында белгілі реттіліктерге сәйкестендірілген кезде, KAK штаммының нуклеотид тізбегіне *C. subterraneus* типтік штамдарына жақындығы анықталды. KAK штаммы мен *C. subterraneus* subsp. *tengcongensis* DSM 15242^T штаммы арасындағы 16S рРНҚ ген тізбегінің ұқсастығы 98,5% құраса, басқа осы түр іші штамдарымен алшақтығы 1-1,5% аралығында болды. Бұл зерттеу KAK штаммының физиологиялық ерекшеліктерін және оның кератинолитикалық белсенділігі мен *Caldanaerobacter* туысының басқа өкілдерімен салыстырғандағы айырмашылықтарын көрсетеді.

Түйін сөздер: анаэробтар, Қазақстандағы геотермалдық су көздері, термофилді, қауырсынды ыдыратушы.

A. Mashzhan^{1,2,3}, R. Javier-López², A.O. Bisenbay^{1,3},
A.B. Talipova¹, A.S. Kistaubayeva^{1*}

¹Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan

²University of Bergen, Norway

³Almaty Branch of the National Center for Biotechnology, Kazakhstan

*e-mail: kistaubayeva.kaznu@gmail.com

Degradation of keratin compound residues by thermophilic bacteria with keratinase activity

The strain *Caldanaerobacter subterraneus* KAK with keratinase activity was isolated from the Zarkent geothermal springs. The KAK1 strain grows under anaerobic conditions at temperatures ranging from 55 to 85°C (optimum 65-70°C) and pH 4.5-9.0 (optimum 6.8). Under optimal conditions with glucose, the cells are observed mainly as single cells, in pairs, or in rare chains, and do not form endospores. However, when grown on merino wool, feathers, or under suboptimal conditions, the KAK strain cells show significant elongation and altered morphology: the cell length increases to 5-8 μm, and spore formation is observed. The KAK strain demonstrates the ability to effectively degrade feather keratin and merino wool at 65-70°C. The 16S rRNA gene sequence (1452 bp) of the KAK strain, analyzed using the BLASTn program against the GenBank database, showed a high degree of similarity with other strains of *C. subterraneus*. The similarity of the 16S rRNA gene sequence between strain KAK and *C. subterraneus* subsp. *tengcongensis* DSM 15242^T is 98.5%, while the difference from other strains of this species is 1-1.5%. This study describes the physiological characteristics of the KAK strain and its keratinolytic activity in comparison with other representatives of the genus *Caldanaerobacter*.

Key words: anaerobe, geothermal spring in Kazakhstan, thermophile, feather degrading.

А.С. Машжан^{1,2,3}, Р. Хавьер-Лопес², А.О. Бисенбай^{1,3},
А.Б. Талипова¹, А.С. Кистаубаева^{1*}

¹Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан

²Университет Бергена, г. Берген, Норвегия

³Алматинский Филиал ТОО «Национальный центр биотехнологии», г. Алматы, Казахстан

*e-mail: kistaubayeva.kaznu@gmail.com

Разрушение остатков кератиновых соединений с использованием термофильной бактерии, обладающей кератиназной активностью

Штамм *Caldanaerobacter subterraneus* КАк с кератиназной активностью был выделен из Жаркентских геотермальных источников. Штамм КАк растет в анаэробных условиях при температуре 55-85 °С (оптимум 65-70 °С) и рН 4,5-9,0 (оптимум 6,8). В оптимальных условиях с глюкозой клетки наблюдаются преимущественно одиночно, парами или в редких цепочках и не образуют эндоспор. Однако при росте на меринсовой шерсти, перьях или в субоптимальных условиях клетки штамма КАк значительно удлиняются и изменяют морфологию: длина клеток увеличивается до 5-8 мкм и наблюдается образование спор. Штамм КАк демонстрирует способность эффективно разрушать кератин перьев и меринсовую шерсть при температуре 65-70 °С. Анализ последовательности гена 16S рРНК (1452 п.н.) штамма КАк, выполненный с помощью программы BLASTn по базам данных GenBank, показал высокую степень сходства с другими штаммами *C. subterraneus*. Сходство последовательности гена 16S рРНК штамма КАк с *C. subterraneus* subsp. *tengcongensis* DSM 15242^T составляет 98,5%, тогда как различие с другими штаммами этого вида составляет 1-1,5%. Настоящее исследование описывает физиологические особенности штамма КАк и его кератинолитическую активность в сравнении с другими представителями рода *Caldanaerobacter*.

Ключевые слова: анаэробы, геотермальные источники Казахстана, термофилы, разрушители перьев.

Кіріспе

Caldanaerobacter тұқымдасы *Thermoanaerobacteraceae* отбасысының ресми түрде жарияланған 18 тұқымдасының қатарына кіреді [1]. Бүгінгі күнге дейін бұл тұқымдас екі түрден тұрған: *Caldanaerobacter uzonensis* K67^T [2] және *C. subterraneus*, соның ішінде келесі түрішілері (subspecies): *C. subterraneus* DSM 13054^T [3, 4], *C. subterraneus* subsp. *pacificus* JMT [5], *C. subterraneus* subsp. *tengcongensis* MB4^T [6], *C. subterraneus* subsp. *younseiensis* KB-1^T [7, 8]. *Caldanaerobacter* тұқымдасының түрлері қатаң анаэробты термофилдер, олардың Грам реакциясы оң немесе теріс және эндоспоралар түзуге қабілетті [4]. Бұл бактериялар ферментативті метаболизмге ие, олар мұнай кен орындары және құрлықтағы ыстық су көздері сияқты әртүрлі геотермалдық орталарда табылған [2, 4]. *Caldanaerobacter* тұқымдасының өкілдері ксилан, крахмал және қант құрамы бар қосылыстар тектес түрлі күрделі субстраттарды пайдалана алау ерекшеліктерімен белгілі. Алайда, бүгінгі күнге дейін осы тұқымдас мүшелерінің ешқайсысы кератинді ыдырату қабілеті сипатталмаған.

Кератиндер негізінен омыртқалы жануарлардың эпителий жасушаларында кездесетін, құрамында күкірт бар, ерімейтін талшықты ақуыздар, олар тері мен оның қосалқылары-

ның (шаш, қауырсын, мүйіз, тырнақ, жүн) негізгі компоненттері болып табылады. Ішкі молекулалық цистеин дисульфиді және сутектік байланыстардың жоғары мөлшері сияқты құрылымдық сипаттамаларына байланысты кератиндер биологиялық және химиялық ыдырауға жоғары төзімді келеді [9]. Кератиндер α және β кератиндер болып екіге бөлінеді [10]. α кератиндер сүтқоректілердің эпидермисінде (мысалы, жүн, шаш және т.б.) кездеседі, олар α -спиральді екінші реттік құрылымдарына бай және олардың молекулалық массасы 40-тан 70 қДа-ға дейін [11]. Құстар мен бауырымен жорғалаушылардың терісінде кездесетін β -кератиндердің мөлшері әдетте α -кератиндерден кішірек (10-нан 20 қДа-ға дейін) [11]. Статистика бойынша жыл сайын әлемде шамамен 10 миллион тонна кератин қалдықтары түзіледі, оның ішінде қауырсын қалдықтары шамамен 8,5 миллион тоннаны құрайды. Қауырсындар құрамында маңызды аминқышқылдар (70%), витаминдер, өсу факторлары және кейбір құнды элементтер көп болғандықтан, олар ерекше құнды ақуыздық азық көзі ретінде қарастырылады [12]. Қауырсындарды тыңайтқыштар, шикізат немесе желім алу үшін механикалық немесе химиялық әдістермен гидролиздеуге болады, бірақ кератин бұл процестер кезінде тек жартылай ыдырайды, сонымен қатар бұл қымбат және қоршаған орта-

ны ластануына әкеледі [13, 14]. Қазіргі уақытта кератин бар биологиялық қалдықтардың көпшілігі полигондарда көму, жағу немесе жоғары температурада өңделіп, төмен сапалы жануарлар ұнына айналдырылады және үй жануарлары мен балықтарға арналған азық қоспасы ретінде пайдаланылады. Алайда, бұл үн құтырған сиыр ауруы және Крейцфельдт-Якоб аурулары секілді белгілі аурулармен, сондай-ақ сиырлардың губка тәрізді энцефалопатиясымен байланысты приондардың тасымалдаушысы бола алатыны дәлелденген [10]. Қауырсын биомассасының химиялық немесе гидротермиялық ыдырауы кезінде серин, метионин, лизин, цистеин және пролин сияқты маңызды аминқышқылдары да ыдырайды [15]. Сондықтан, кератинді ыдырататын микроорганизмдермен биологиялық ыдырату, қалдықтарды тиімді басқарудың ыңғайлы және арзан әдісі болып табылады, сонымен қатар қоршаған орта мен адам қауіпсіздігін қамтамасыз етеді [16]. Бұған қоса, тауық қауырсындарын арзан және қолжетімді диеталық ақуыз көзіне айналдыру, биоэкономикалық тәсілді қолдайды [17, 18]. Осыған байланысты, бұл зерттеу Жаркент ыстық су көздерінен оқшауланған, анаэробты жағдайда 70°C-қа дейінгі температурада тауық қауырсынын тиімді ыдырататын *Caldanaerobacter subterraneus* КАк штаммын сипаттауға бағытталған.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Сынама алу және өсіру

Үлгілер Қазақстанның Алматы облысындағы Жаркент геотермалды суларынан алынды. Үлгілерді жинау кезінде су температурасы 76°C және рН 6,8 тең болды [19]. Су мен шөгінділер аралас үлгілері 100 мл нықталып жабылған анаэробты колбаларына алынып, 4°C температурада зертханаға тасымалданды.

Анаэробты қоректік ортаны дайындау үшін модификацияланған Хюнгеит әдісі қолданылды [20]. Алынған үлгілерді дақылдау үшін оңтайландырылған ММФ қоректік ортасы қолданылды (литрге шаққанда): NaCl – 1,0 г; KCl – 0,3 г; MgSO₄•7H₂O – 0,3 г; NH₄Cl – 0,5 г; KH₂PO₄ – 0,3 г; және CaCl₂•2H₂O – 0,1 г; L-цистеин-HCl•H₂O – 0,25 г; және H₃BO₃ – 6 мг. Соңында, редокс индикаторы ретінде 0,2% резазуриннің 0,5 мл мөлшері қоректік ортаға қосылды. Қоректік ортаны 121°C температурада 20 минут автоклавтанғаннан кейін, үздіксіз азот газы ағымы астында шамамен 50°C дейін салқындатылып, ортаның

рН деңгейі 2 М HCl пайдалану арқылы 6,5-ке дейін реттелді. Орта асептикалық жағдайда 100 мл колбаларына Хюнгеит әдісін қолданып, резеңке тығындарымен нығыздалып метал қысқыштарымен жабылды [20].

Дақылдау ашытқы экстракты қосылған 30 мл ММФ бар 50 мл колбаларында жүргізілді. Ортаға 1 мл су және шөгінді үлгілері енгізіліп, 70°C температурада төрт күн бойы инкубацияланды. Дақылдар шектік сұйылту әдісі арқылы тазартылып, нәтижесінде таза штамм бөлініп оған КАк атауы берілді.

Микроскопия

КАк штаммының морфологиясы, спора түзу қасиеті, жасуша шығымы, қозғалғыштығы және физиологиялық жағдайы секілді сипаттамалар фаза контрасты құрылғысы бар Nikon, Eclipse E400 (1000X) (Жапония) микроскопы көмегімен бағаланды. Дайын препараттарды RA-7U 4.2 объектив жүйесі бар Nikon D7000 SLR камерасы арқылы суретке түсіріліп өңделді.

Jeol JSM-7400F сканерлеуші электронды микроскоп көмегімен жасушалардың құрылымы 2000X және 8500X үлкейту өлшем аралығында зерттелді. Үлгілер алдын ала сипатталған хаттамаға сәйкес дайындалды [21].

Физиологиялық сипаттамасы

Өсу температурасы, рН және NaCl концентрациясы КАк штаммын ММФ ортасында инкубациялау арқылы анықталды. Штамның өсу температурасының диапазоны сұйық қоректік ортада 40-90°C аралығында 5°C қосу арқылы инкубациялау нәтижесінде анықталды. Өсудің рН диапазоны штамның оптималды өсу температурасында бағаланды. Қоректік ортаның рН деңгейін (3,0-тен 10,0 аралығында) 2М HCl немесе 5% NaOH (салмақ/көлем) стерильді анаэробты түрде дайындалған ерітінділерін қосып өзгерту арқылы жасалды. рН деңгейі бөлме температурасында рН өлшегіші (VWR, АҚШ) арқылы өлшенді. Осматикалық стресс диапазонын анықтау NaCl тұзының түрлі концентрацияларында (1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6% және 7%) бағаланды. API 20 А жолақтарында тестілеу (SKU:20300; BioMérieux, Inc., Marcy-l'Etoile, Франция) өндірушінің нұсқауларына сәйкес өткізілді. Крахмал, сахароза, галактоза, ксилан, пируват, арабиноза, ксилоза, глюкоза, пептон, СМ-целлюлоза және меринос жүні сияқты әртүрлі субстраттардың гидролизі қатаң анаэробты жағдайларда ММФ ортасында анықталды. Өсу қарқындылығы 70°C температурада 24 және 48 сағаттық инкубациядан кейін фазалық-контрасты микроскопия арқылы бағаланды. Егер жасуша тығыздығы 24 сағат ішінде

екі еселенсе, өсу оң деп есептелді, ал баяу өсуі 48 сағат ішінде жасуша тығыздығының екі еселенуімен көрсетілді. Барлық эксперименттер үш рет қайталанып, сәйкес теріс және оң бақылаулармен жүргізілді.

16S рРНҚ гендерін секвенирлеу

Бактериялар ММФ ортасында 24 сағат бойы өсіріліп, 4°C температурада 15 минут бойы 6000 x g (8000 айн/мин) центрифугалау арқылы жиналды. Геномдық ДНҚ экстракциясы мен тазартылуы GenElute бактериялық геномдық ДНҚ экстракция жиынтығымен (NA2100; Sigma-Aldrich, Сент-Луис, МО, АҚШ) және GenElute ПТР тазарту жиынтығымен (NA1020; Sigma-Aldrich) орындалды. 16S рРНҚ гендерінің нуклеотидтер тізбегін секвенирлеу UiB Sequencing facility (Берген университеті, Норвегия) орталығында алдыңғы жұмыста көрсетілген тура және кері әмбебап праймерлерді пайдалана отырып Сенгер әдісімен орындалды [21]. ПТР амплификация нәтижесінің өнімдерін өндірушінің нұсқауларына сәйкес 3500 Генетикалық анализаторында (Applied Biosystems, АҚШ) коммерциялық Big Dye Terminator v. 3.1 жинтығы арқылы секвенирленді. Секвенирлеу реакциясының жалпы көлемі 10 мкл және келесі бөліктерден тұрды: Big Dye v. 3.1 реакцияға 1 мкл, секвенирлеу буфері 1 мкл, праймер 1,5 мкл (2 М), ПТР өнімі 200 нг, және стерильді су 10 мкл көлеміне жеткенше қосылды. Пайда болған амплификация өнімдерін BigDye X Terminator Purification жиынтығы (Applied Biosystems, АҚШ) көмегімен өндірушінің нұсқауларына сәйкес байланыспаған реакция өнімдерінен тазартылды. Секвенирлеу нәтижесінде алынған нуклеотидтер тізбегін MEGA X бағдарламасы [22] көмегімен талданды және EMBOSS [23] бағдарламасы арқылы талданған праймерлер бір біріне біріктірілді. Алынған 16S рРНҚ генінің тізбектері BLASTN (әдепкі параметрлермен) бағдарламасын пайдалана отырып, жалпыға қолжетімді дерекқорлардағы нуклеотидтік тізбектермен салыстырылды (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Тізбектерді теңестіру CLUSTAL X бағдарламасы арқылы орындалды [24]. Филогенетикалық талдау MEGA v11 бағдарламалық жиынтығында максималды ықтималдық әдісін қолдану арқылы жүргізілді [22]. Эволюциялық қашықтықтар Тамура-Ней моделін пайдаланып есептелді [25]. Максималды ықтималдық деректерінің bootstrap талдауы тармақталу нүктелерінің сенімділігін бағалау үшін 1000 рет қайта үлгілеу итерациялары қамтылды [26]. Сонымен қатар,

жетіспейтін деректері бар позициялар талдаудан шығарылды. *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* 16S рРНҚ генінің тізбегі сыртқы топ ретінде пайдаланылды.

Кератиназдық белсенділігін анықтау.

Штамның кератинді ыдырату белсенділігін анықтау үшін субстрат ретінде тауықтың кеуде қауырсындары қолданылды. Қауырсындар шаң мен тері бөлшектерін жою үшін деионизацияланған сумен бірнеше рет мұқият шайылып 50°C температурада термостатта 24 сағат бойы кептірілді. Кептірілгеннен кейін 25 ± 5 мг тауық қауырсынына 25 мл анаэробты қоректік орта қосылды. Қоректік орта құрамына келесі ингредиенттер (1 литрге) кірді: NaCl – 1,0 г; ашытқы экстракты – 0,01 г; L-цистеин-HCl•H₂O – 0,25 г; және резазурин (0,2%) – 0,5 мЛ. Сондай-ақ, ортаға 1 мл КАк1 штамының инокулюмі қосылды. Тек қауырсындары бар, бірақ инокуляциясыз ортасы бар колба теріс бақылау ретінде қолданылды.

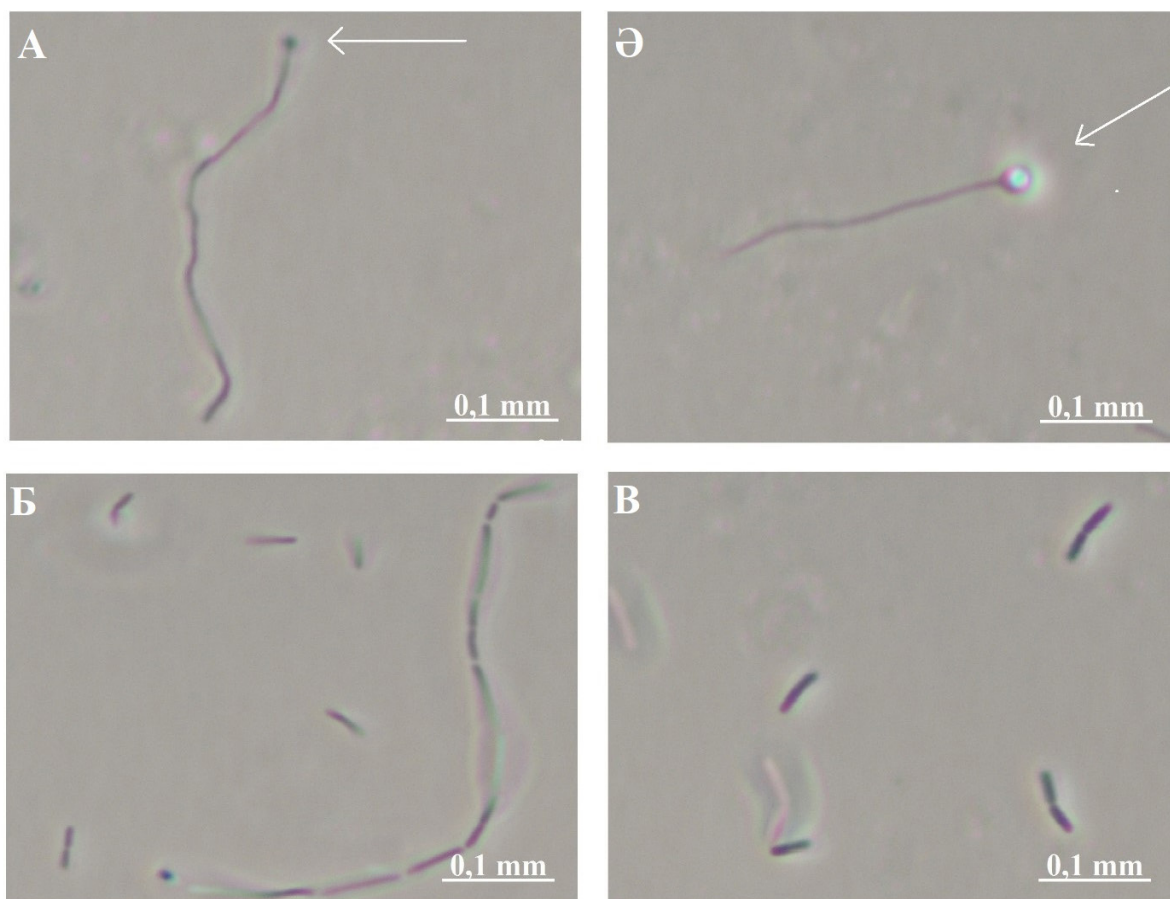
Дақылдар 70°C температурада анаэробты жағдайда инкубацияланды. Әр 24 сағат сайын қауырсындардың тұтастығындағы өзгерістерді бақылау үшін колбалар көзбен тексерілді.

Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

КАк штамы анаэробты жағдайда жасалған тығыз қоректік ортада колония түзуге қабілетсіз, ол тек Грам оң және тек оттексіз ортада ғана көбеюге қабілетті. Осы ортада штамм жасушалары дара, жұп, сирек тізбектеліп орналасқан (0.1-0.9 мм) болып келеді және көмірсу қосылған ММФ қоректік ортада өсіргенде спора түзілуі байқалмады (сурет 23, Б, В), егер қоректік ортаға көмірсу орнына негізгі субстрат ретінде тауық қауырсынын қосатын болсақ, онда жасушаларының пішіні өзгереді, олар жіп тәріздес болып (0,3-0,7 мм) споралары байқалды (сурет 1, А, Ә).

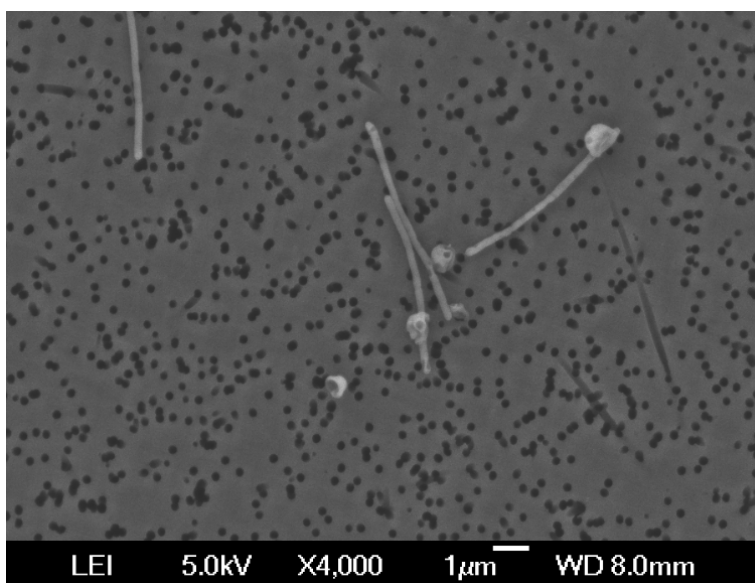
Споралар штамм жасушасының бір шетінен орналасып пішіні домалақ терминалды болып келеді. Фазалық-контрасты микроскоппен қарағанда кейбір спораларға жарық сынса (сурет 1, Ә) кейбіреулерінде ондай қасиет байқалмады (сурет 1, А). Электронды микроскопия кесікіндерінде, КАк штамның Bacillaceae тұқымдасына тән морфологияға сәйкес ұзындығы 6-15 микрон аралығында келген жұп немесе дара жасушалары байқалды (сурет 2).

КАк анаэробты жағдайда 55-85°C температура (оптимум 65-70°C) аралығында және рН көрсеткіші 4,5-9,0 дейінгі аралықта өседі (1-кесте).



А, Ә тауық қауырсыны қосылған MMF қоректік ортада өсірілген жасушалар, және Б, В глюкоза қосылған MMF ортасында өсірілген жасушалар (инкубация температурасы 70°C). Тауық қауырсыны қосылған қоректік ортада өскен жасушалардың жарық сынбайтын (А) және сынғыш (Ә) споралары ақ жебемен көрсетілген. Глюкоза қосылған қоректік ортада өскен жасушалар көбіне бір-бірден, жұппен (Б) немесе сирек тізбектеліп (В) орналасқан. Масштаб: 1 мкм

1-сурет – КАк1 штамының фазалық-контрасты микроскопия кескіндері



2-сурет – Сканерлеуші электронды микроскопта КАк1 штамының кескіні

1-кесте – КАк штамының және басқа белгілі *Caldanaerobacter* түрлерінің дифференциалды фенотиптік сипаттамалары

Ерекшелік	*1	2	4	5	6	7
Жасуша морфологиясы	Таяқшалар дара, жұп, сирек тізбек/жіп тәріздес	Таяқшалар, жалғыз немесе жұптастырылған	Таяқшалар	Таяқшалар, жалғыз, жұп немесе шынжырлаған	Таяқшалар	Бұтақталған таяқшалар
Спора түзуге қабілеттілік	+	+	-	-	+	-
Грам реакциясы	+	+	+	-	+	+
Қозғалғыштық	-	-	-	-	+	-
Өсу температурасы (°C)						
Аралығы	55-85	50-75	40-80	50-80	50-85	50-80
Оптимум	65-70	68-70	65-75	75	75	70
Өсу рН көрсеткіші						
Аралығы	4,5-9,0	4,8-8,0	5,7-9,2	5,5-9,0	4,5-9,0	5,8-7,6
Оптимум	7,0	6,8	7,0-7,5	7,0-7,5	6,5	6,8-7,2
Ашытқы экстрактін өсу факторы ретінде	+	+	+	+	+	v
пептон	v	+	+	±	+	+
триптон	+	±	±	±	+	±
D-рибоза	±	-	-	-	±	±
D-фруктоза	-	+	+	+	+	+
D-галактоза	+	+	+	+	+	+
мелибиоза	+		+	±	±	±
целлюлоза	±	±	±	-	-	±
ксилан	+	±	+	-	-	±
пируват	±	+	+	-	±	+
API 20A:						
L-триптофан	-	v	±	±	±	±
Несепнәр	-	±	±	±	±	±
D-глюкоза	+	+	+	+	+	+
D-маннитол	+	-	+	+		
D-лактоза	+	+	+		+	+
D-сахароза	+	+	-	-	+	-
D-мальтоза	+	+	+	+	+	+
салицин	+	±	±	±	±	±
D-ксилоза	+	+	+	-	+	
L-арабиноза	+	+	-	-	-	
желатин	+	±	±	±	-	±
эскулин темір цитраты	+	±	±	±	±	±

Ерекшелік	*1	2	4	5	6	7
Жасуша морфологиясы	Таяқшалар дара, жұп, сирек тізбек/жіп тәріздес	Таяқшалар, жалғыз немесе жұптас-тырылған	Таяқшалар	Таяқшалар, жалғыз, жұп немесе шынжырлаған	Таяқшалар	Бұтақталған таяқшалар
глицерин	+	±	+	-	±	±
D-целлобиоза	+	+	+	+	+	+
D-манноза	+	+	+	+	+	
D-мелезитоза	+	±	±	±	±	±
D-раффиноза	+	-	±	±	±	±
D-сорбитол	+	+	±	±	-	±
L-рамноза	+	-	-	±	±	±
D-трегалоза	+	+	±	±	±	±
Глюкозаның ашыту өнімдері:						
этанол	+	+	-	-	+	-
ацетат	±	+	+	+	+	+
лактат	±	+	+	+	+	-
H ₂ S	+	±	-	±	+	±

*Белгілер: v, өзгерінкі; +, оң; -, теріс; ±, әлсіз оң; КАк штаммы; 2, *Caldanaerobacter uzonensis* K67^T [2]; 3, *Caldanaerobacter subsp. subterraneus* DSM 13054^T [3,4]; 4, *C. subterraneus subsp. tengcongensis* JCM 11007^T [6]; 5, *C. subterraneus subsp. yonseiensis* DSM 13777^T [7,8]; 6, *C. subterraneus subsp. pacificus* DSM 12653^T [5]

КАк штамының 20 түрлі қосылыстарды пайдалану мүмкіндігін анықтау API 20 А жолақтарымен тексерілді (кесте 1), штамм 20 қосылыстың 18-ін ыдыратуға қабілетті болса, солардың ішінде тек L-триптофан және несепнәр КАк штамымен ыдыратуы байқалмады. Барлық штамдар D-глюкозаны, D-мальтозаны, D-целлобиозаны, D-галактозаны және ашытқы экстрактын энергия көзі ретінде қолдана алады. Бірақ ешқайсысы сульфат, сульфит немесе нитратты электрон акцепторлары ретінде қолданбайды екені анықталды.

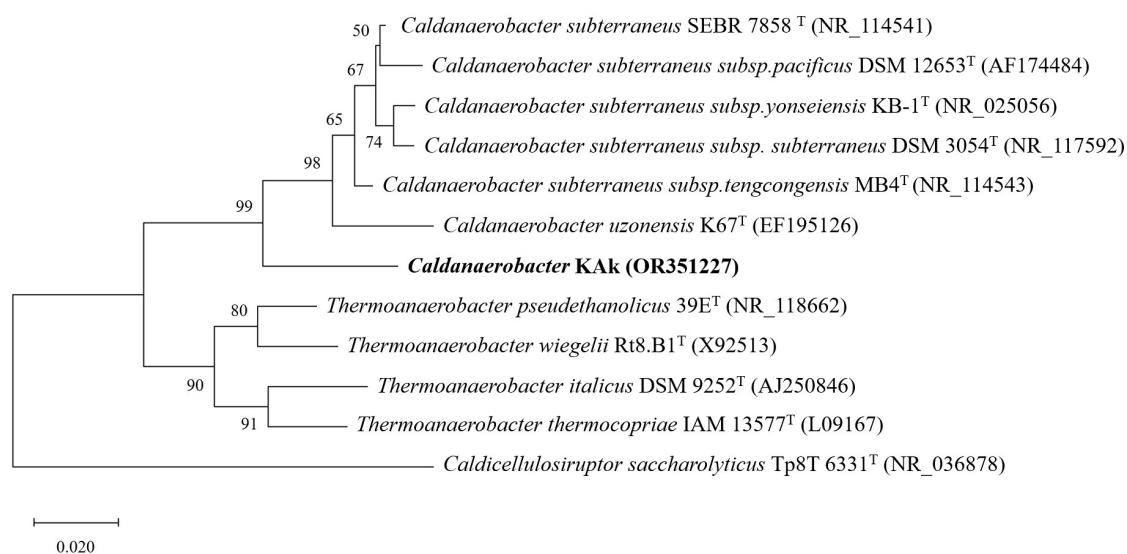
КАк штамының 16S рРНҚ (1452 ж.н) ген тізбегін BLASTn бағдарламасы көмегімен GenBank дерекқорларында белгілі реттіліктерге сәйкестендірілген кезде, КАк штамының нуклеотид тізбегіне *C. subterraneus* штамдарына жақындығы анықталды. КАк штамы мен *C. subterraneus subsp. tengcongensis* DSM 15242^T

штамы арасындағы 16S рРНҚ ген тізбегінің ұқсастығы 98,5% құраса, басқа осы түр іші штамдарымен алшақтығы 1-1,5% аралығында болды.

КАк штамының 16S рРНҚ генінің тізбегіне негізделген филогенетикалық ағаш MEGA X бағдарламасымен жүзеге асырылды (сурет 3).

КАк штамы басқа *Caldanaerobacter* штамдарымен топтастырылды, дегенмен оның басқа *Caldanaerobacter* типтік штамдарынан қашықтықта жеке клада құрып орналасуы КАк штамының жаңа түр немесе түр іші екенін көрсетеді екедігі анықталды.

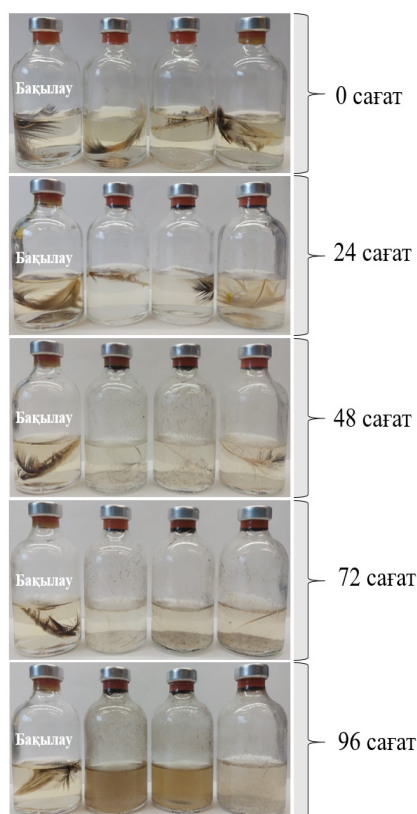
Caldanaerobacter КАк штамы өзінің жоғары кератиназалық белсенділігімен ерекшеленді. КАк штамының кератиназалық белсенділігі анаэробты ММФ қоректік ортасында тауық қауырсынымен (β -кератин) (мамық және қатты) сыналды (сурет 4).



Тіркеу нөмірлері жақшада берілген. Bootstrap мәндері тармақтарда пайызбен көрсетілді.

Ағаш maximum-likelihood әдісімен құралған. Сыртқы топ ретінде *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* Tr8T 6331T (NR_036878) пайдаланылды

3-сурет – 16S рРНҚ генінің тізбектеріне негізделген *Thermoanaerobacteraceae* отбасысының түрлерінің типтік штамдары бар және КАК штамының филогенетикалық ағашы



4-сурет – *Caldanaerobacter* КАК штамының кератиназалық белсенділігін тексеру үшін тауық қанат қауырсынында 4 тәулік бойы 70°C температурада инкубациялаудың нәтижесі

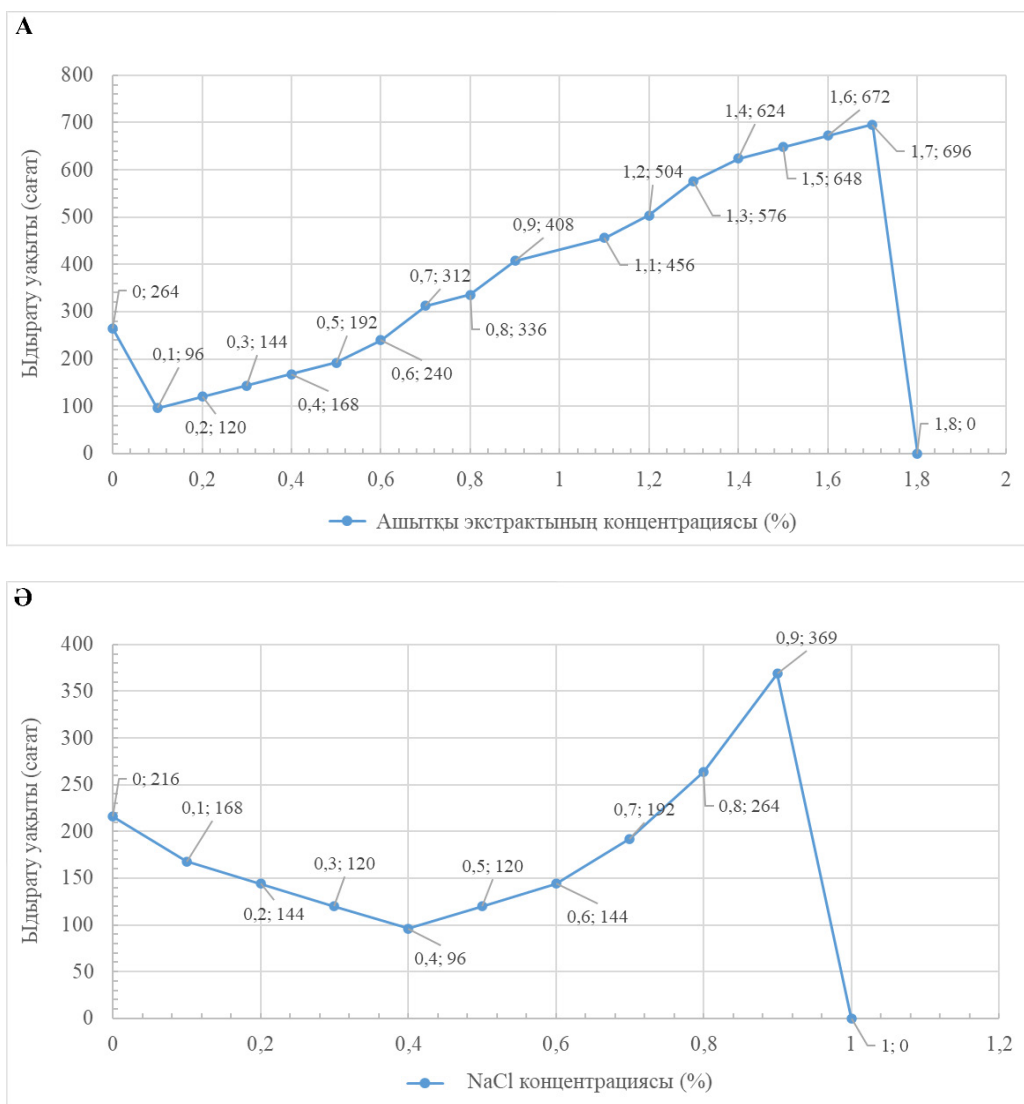
Осы субстратта өсу барысында газ түзілу қасиеті байқалды және құрамында орта есеппен 8,9% сутегі (H₂) және 4,1% көмірқышқыл газы (CO₂) болатындығы анықталды. Тауық қауырсынында КАК штамын инкубациялау барысында, мезгілді шыны ыдыс ішінде қысымды азайту дақылдарының санының ұлғаюына және субстраттың тез ыдырауына алып келді.

Caldanaerobacter КАК штамының тауықтың төсінен алынған мамық және қанатынан алынған қауырсындарын ыдырату жылдамдығын арттыру мақсатында әр түрлі субстраттар сынақтан өткізілді, оның ішінде: майсыздандырылған сүт ұнтағы, казеин, пептон және ашытқы экстракты болды (сурет 5, А).

Нәтижесінде осы сыналған субстраттар ішінде ашытқы экстракты *Caldanaerobacter* КАК штамының кератиназалық белсенділігін жоғарлататыны анықталды. Мысалы, MMF қоректік ортасына 0,1% ашытқы экстрактісі қосылса орта есеппен 70°C температурада мамық қауырсынды ыдырату ±4 тәулік, ал қанаттан алынған қауырсынды ыдырату ±6 тәулік алатыны анықталды. Дәл осындай жағдайда MMF қоректік ортасына ашытқы экстрактісін қоспаған жағдайда тауық қауырсындарын ыдырату уақыты 3 есе ұлғайды және ашытқы экстрактісін қоректік ортаға қосу нәтижесінде қымбат дәрумендер ерітіндісіз толығымен алмастыра алатыны байқалды. Бұл ашытқы экстрактісінің *Caldanaerobacter*

КАк штамм дақылдарын дәрумен ерітіндісіне қарағанда әлдеқайда тезірек бөлінуіне және кератиназалық белсенділігіне әсер ететінін көрсетеді. Сонымен қатар ашытқы экстрактісінің оң әсерімен қатар теріс әсері де байқалды, егер қоректік ортада ашытқы экстрактісінің концентрациясы 1,7% асатын болса, бұл *Caldanaerobacter* КАк штаммының кератиназалық белсенділігін толығымен тежейтіні анықталды. Ашытқы экстрактісінен басқа *Caldanaerobacter* КАк штаммының кератиназалық белсенділігіне NaCl тұзы оң әсер ететіні және оның 0,4% мөлшері оптимал-

ды екені белгілі болды (сурет 5, Ә). Ұқсас нәтижелер Stanly Merin Liya, Mridul Umesh, Anish Nag, және басқа да (2023) авторлармен жазылған жұмыста NaCl тұзы кератиназа ферментінің белсенділігін жоғарлататыны көрсетілген [27]. *Caldanaerobacter* КАк штаммының кератиназалық белсенділігіне қоректік орта құрамдас бөліктерінен басқа ерекше әсер етуші фактордың бірі инкубация температурасы болды. Кератиназалық белсенділік 55-80°C аралықтарында зерттеліп, нәтижесінде ең жоғары белсенділік 70°C температурасында байқалатындығы көрсетілді.



5-сурет – Ашытқы экстрактының (А) және NaCl (Ә) концентрацияларының *Caldanaerobacter* КАк штаммының кератиназалық белсенділігіне әсері

Осы зерттеуде сипатталған жаңа изолят *C. subterraneus* ретінде анықталды, алайда, *C. subterraneus* түршілерінен кейбір айырмашылықтары байқалды, бұл КАк штамын *Caldanaerobacter* өкілдерінің ішінде жаңа штамм ретінде жіктеуге негіз бар екенін көрсетеді. Штамм сахароза, галактоза, ксилан, арабиноза, ксилоза, глюкоза, пептон, СМ-целлюлоза, D-маннитол, D-лактоза, D-мальтоза, салицин, желатин, эскулин феррик цитраты, глицерин, D-целлобиоза, D-манноза, D-мелезитоza, D-раффиноза, D-сорбитол, L-рамноза және D-трелоза сияқты әртүрлі субстраттарда айтарлықтай өсу қабілетін көрсетті. Сонымен қатар, КАк 70°C температурада оңтайлы өсіп 96 сағаттан кейін тауық қауырсындарын толық ыдыратады. Ашытқы экстракты көмірсулардың өсуі үшін қажет болмады. Айта кетейік, КАк штамы тек ашытқы экстракты немесе тауық қауырсындары бар ортада өсуге қабілеттілік көрсетті, бұл *Caldanaerobacter* туысының басқа өкілдерінен ерекше қасиеті болып табылады [2, 4, 5, 7].

Жоғарыда аталған физиологиялық айырмашылықтардан басқа, КАк штамының филогенетикалық талдауы оның *C. subterraneus* subsp. *younseiensis* KB-1^T, *C. subterraneus* subsp. *subterraneus* DSM 13054^T, *C. subterraneus* subsp. *tengcongensis* MB4^T және *C. subterraneus* subsp. *pacificus* DSM 12653^T типті штамдарымен бір түрші тобына жататынын көрсетті. Бірақ, жоғарыда көрсетілген физиологиялық ерекшеліктер және 16s рРНҚ ген сиквенстері нәтижесі бойынша филогенетикалық ағашта орналасуы КАк штамының ерекшелігін дәлелдейді.

Қорытынды

Жаңадан бөлініп алынған *C. subterraneus* КАк штамының кератинолитикалық белсенділігі бағаланып, оның 65–70°C температурада үш күн ішінде қауырсын кератинін тиімді ыдырататыны анықталды. Сонымен қатар, КАк штамы ашытқы экстрактысында немесе тек тауық қауырсыны бар ортада жақсы өсетін бірегей қабілетін көрсетті, бұл қасиеттер оны *Caldanaerobacter* тұқымдасының басқа мүшелерінен ерекшелендіреді. Осы көрсетілген ерекшеліктер оның бейімделгіштігін көрсетеді және оны әртүрлі биотехнологиялық контекстерде маңызды етіп оны күс қалдықтарын жануарларға арналған азық өндіру үшін пайдалы шикізатқа айналдыруда және кератин құрамындағы материалдардың тиімді қалдықтарды басқару стратегияларында өнеркәсіптік қолдану үшін әлеуетін көрсетеді.

Алғыс сөз, қаржыландыру көзі, мүдделер қақтығысы

Бұл зерттеу Қазақстан Республикасы Жоғары білім және ғылым министрлігінің Ғылым комитеті (грант № AP14871683 «Иммуобилизденген термофилды бактериялардың көмегімен құрамында кератинді жанама заттары бар өнімдерді қайта өңдеу биотехнологиясы») қаржыландыруымен жүзеге асырылды. Авторлар мүдделер қақтығысының жоқтығын мәлімдейді.

Әдебиеттер

1. Parte AC, Sardà-Carbasse J, Meier-Kolthoff JP, Reimer LC, Göker M: List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2020, 70(11):5607-5612.
2. Kozina IV, Kublanov IV, Kolganova TV, Chernyh NA, Bonch-Osmolovskaya EA: *Caldanaerobacter uzonensis* sp. nov., an anaerobic, thermophilic, heterotrophic bacterium isolated from a hot spring. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2010, 60(Pt 6):1372-1375.
3. Fardeau ML, Magot M, Patel BK, Thomas P, Garcia JL, Ollivier B: *Thermoanaerobacter subterraneus* sp. nov., a novel thermophile isolated from oilfield water. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2000, 50(Pt 6):2141-2149.
4. Fardeau ML, Salinas MB, L'Haridon S, Jeanthon C, Verhé F, Cayol JL, Patel BKC, Garcia JL, Ollivier B: Isolation from oil reservoirs of novel thermophilic anaerobes phylogenetically related to *Thermoanaerobacter subterraneus*: reassignment of *T. subterraneus*, *Thermoanaerobacter yonseiensis*, *Thermoanaerobacter tengcongensis* and *Carboxydibrachium pacificum* to *Caldanaerobacter subterraneus* gen. nov., sp. nov., comb. nov. as four novel subspecies. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2004, 54(Pt 2):467-474.
5. Sokolova TG, González JM, Kostrikina NA, Chernyh NA, Tourova TP, Kato C, Bonch-Osmolovskaya EA, Robb FT: *Carboxydibrachium pacificum* gen. nov., sp. nov., a new anaerobic, thermophilic, CO-utilizing marine bacterium from Okinawa Trough. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2001, 51(Pt 1):141-149.

6. Xue Y, Xu Y, Liu Y, Ma Y, Zhou P: *Thermoanaerobacter tengcongensis* sp. nov., a novel anaerobic, saccharolytic, thermophilic bacterium isolated from a hot spring in Tengcong, China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2001, 51(Pt 4):1335-1341.
7. Kim BC, Grote R, Lee DW, Antranikian G, Pyun YR: *Thermoanaerobacter yonseiensis* sp. nov., a novel extremely thermophilic, xylose-utilizing bacterium that grows at up to 85 degrees C. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 2001, 51(Pt 4):1539-1548.
8. Lee SJ, Lee YJ, Park GS, Kim BC, Lee SJ, Shin JH, Lee DW: Draft Genome Sequence of an Anaerobic and Extremophilic Bacterium, *Caldanaerobacter yonseiensis*, Isolated from a Geothermal Hot Stream. *Genome Announcements* 2013, 7(6).
9. Javier-Lopez R, Mandolini E, Dzhuraeva M, Bobodzhanova K, Birkeland NK: *Fervidobacterium pennivorans* subsp. keratinolyticus subsp. nov., a Novel Feather-Degrading Anaerobic Thermophile. *Microorganisms* 2022, 11(1):22.
10. Gousterova A, Braikova D, Goshev I, Christov P, Tishinov K, Vasileva-Tonkova E, Haertlé T, Nedkov P: Degradation of keratin and collagen containing wastes by newly isolated thermoactinomycetes or by alkaline hydrolysis. *Letters in Applied Microbiology* 2005, 40(5):335-340.
11. Rouse JG, Van Dyke ME: A Review of Keratin-Based Biomaterials for Biomedical Applications. *Materials (Basel)* 2010, 3(2):999-1014.
12. Lai Y, Wu X, Zheng X, Li W, Wang L: Insights into the Keratin Efficient Degradation Mechanism Mediated by *Bacillus* sp. CN2 Based on Integrating Functional Degradomics. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts* 2023, 16(1):59.
13. Williams CM, Grimes JL, Mikkelsen RL: The Use of Poultry Litter as Co-substrate and Source of Inorganic Nutrients and Microorganisms for the Ex Situ Biodegradation of Petroleum Compounds. *Poultry Science* 1999, 78(7):956-964.
14. Nam GW, Lee DW, Lee HS, Lee NJ, Kim BC, Choe EA, Hwang JK, Suhartono MT, Pyun YR: Native-feather Degradation by *Fervidobacterium islandicum* AW-1, a Newly Isolated Keratinase-Producing Thermophilic Anaerobe. *Archives of Microbiology* 2002, 178(6):538-547.
15. Elmayergi HH, Smith RE: Influence of Growth of *Streptomyces fradiae* on Pepsin-HCl Digestibility and Methionine Content of Feather Meal. *Canadian Journal of Microbiology* 1971, 17(8):1067-1072.
16. Lange L, Huang Y, Busk PK: Microbial Decomposition of Keratin in Nature – A New Hypothesis of Industrial Relevance. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2016, 100(5):2083-2096.
17. Sharma I, Pranaw K, Soni H, Rawat HK, Kango N: Parametrically Optimized Feather Degradation by *Bacillus velezensis* NCIM 5802 and Delineation of Keratin Hydrolysis by Multi-Scale Analysis for Poultry Waste Management. *Scientific Reports* 2022, 12(1):17118.
18. Lee YJ, Jeong H, Park GS, Kwak Y, Lee SJ, Park MK, Kim JY, Kang HK, Shin JH, Lee DW: Genome Sequence of a Native-Feather Degrading Extremely Thermophilic Eubacterium, *Fervidobacterium islandicum* AW-1. *Standards in Genomic Sciences* 2015, 29:71.
19. Mashzhan A, Javier-López R, Kistaubayeva A, Savitskaya I, Birkeland NK: Analysis and Characteristics of Thermal Springs in Kazakhstan. In: Egamberdieva D, Birkeland NK, Li W-J, Panosyan H (editors): *Microbial Communities and Their Interactions in the Extreme Environment*. Springer Singapore, 2021, pp. 97-114.
20. Miller TL, Wolin MJ: A Serum Bottle Modification of the Hungate Technique for Cultivating Obligate Anaerobes. *Applied Microbiology* 1974, 27(5):985-987.
21. Mashzhan A, Javier-López R, Kistaubayeva A, Savitskaya I, Birkeland NK: Metagenomics and Culture-Based Diversity Analysis of the Bacterial Community in the Zharkent Geothermal Spring in Kazakhstan. *Current Microbiology* 2021, 78(8):2926-2934.
22. Tamura K, Stecher G, Kumar S: MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* 2021, 38(7):3022-3027.
23. Rice P, Longden I, Bleasby A: EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite. *Trends in Genetics* 2000, 16(6):276-277.
24. Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG: The CLUSTAL_X Windows Interface: Flexible Strategies for Multiple Sequence Alignment Aided by Quality Analysis Tools. *Nucleic Acids Research* 1997, 25(24):4876-4882.
25. Tamura K, Nei M: Estimation of the Number of Nucleotide Substitutions in the Control Region of Mitochondrial DNA in Humans and Chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 1993, 10(3):512-526.
26. Felsenstein J: Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. *Evolution* 1985, 39(4):783-791.

References

1. Elmayergi H.H., Smith R.E. (1971) Influence of Growth of *Streptomyces fradiae* on Pepsin-HCl Digestibility and Methionine Content of Feather Meal. *Can. J. Microbiol.*, vol. 17, pp. 1067-1072.
2. Fardeau M.L., Magot M., Patel B.K., Thomas P., Garcia J.L., Ollivier B. (2000) *Thermoanaerobacter subterraneus* sp. nov., a Novel Thermophile Isolated from Oilfield Water. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 50, pp. 2141-2149.
3. Fardeau M.L., Salinas M.B., L'Haridon S., Jeanthon C., Verh e F., Cayol J.L., Patel B.K., Garcia J.L., Ollivier B. (2004) Isolation from Oil Reservoirs of Novel Thermophilic Anaerobes Phylogenetically Related to *Thermoanaerobacter subterraneus*: Reassignment of *T. subterraneus*, *Thermoanaerobacter yonseiensis*, *Thermoanaerobacter tengcongensis*, and *Carboxydibrachium pacificum* to *Caldanaerobacter subterraneus* gen. nov., sp. nov., comb. nov. as Four Novel Subspecies. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 54, pp. 467-474.

4. Felsenstein J. (1985) Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. *Evolution*, vol. 39, pp. 783-791.
5. Gousterova A., Braikova D., Goshev I., Christov P., Tishinov K., Vasileva-Tonkova E., Haertlé T., Nedkov P. (2005) Degradation of Keratin and Collagen Containing Wastes by Newly Isolated Thermoactinomycetes or by Alkaline Hydrolysis. *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 40, pp. 335-340.
6. Javier-Lopez R., Mandolini E., Dzhuraeva M., Bobodzhanova K., Birkeland N.K. (2022) *Fervidobacterium pennivorans* subsp. *keratinolyticus* subsp. nov., a Novel Feather-Degrading Anaerobic Thermophile. *Microorganisms*, vol. 11, p. 22.
7. Kim B.C., Grote R., Lee D.W., Antranikian G., Pyun Y.R. (2001) *Thermoanaerobacter yonseiensis* sp. nov., a Novel Extremely Thermophilic, Xylose-Utilizing Bacterium That Grows at up to 85°C. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 51, pp. 1539-1548.
8. Kozina I.V., Kublanov I.V., Kolganova T.V., Chernyh N.A., Bonch-Osmolovskaya E.A. (2010) *Caldanaerobacter uzonensis* sp. nov., an Anaerobic, Thermophilic, Heterotrophic Bacterium Isolated from a Hot Spring. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 60, pp. 1372-1375.
9. Lai Y., Wu X., Zheng X., Li W., Wang L. (2023) Insights into the Keratin Efficient Degradation Mechanism Mediated by *Bacillus* sp. CN2 Based on Integrating Functional Degradomics. *Biotechnol. Biofuels Bioprod.*, vol. 16, p. 59.
10. Lange L., Huang Y., Busk P.K. (2016) Microbial Decomposition of Keratin in Nature—A New Hypothesis of Industrial Relevance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 100, pp. 2083-2096.
11. Lee S.J., Lee Y.J., Park G.S., Kim B.C., Lee S.J., Shin J.H., Lee D.W. (2013) Draft Genome Sequence of an Anaerobic and Extremophilic Bacterium, *Caldanaerobacter yonseiensis*, Isolated from a Geothermal Hot Stream. *Genome Announc.*, vol. 7, e00923-13.
12. Lee Y.J., Jeong H., Park G.S., Kwak Y., Lee S.J., Lee S.J., Park M.K., Kim J.Y., Kang H.K., Shin J.H., Lee D.W. (2015) Genome Sequence of a Native-Feather Degrading Extremely Thermophilic Eubacterium, *Fervidobacterium islandicum* AW-1. *Stand. Genomic Sci.*, vol. 29, p. 71.
13. Mashzhan A., Javier-López R., Kistaubayeva A., Savitskaya I., Birkeland N.K. (2021) Analysis and Characteristics of Thermal Springs in Kazakhstan. In: *Microbial Communities and Their Interactions in the Extreme Environment*, edited by D. Egamberdieva, N.K. Birkeland, W.-J. Li, H. Panosyan, Singapore: Springer, pp. 97-114.
14. Mashzhan A., Javier-López R., Kistaubayeva A., Savitskaya I., Birkeland N.K. (2021) Metagenomics and Culture-Based Diversity Analysis of the Bacterial Community in the Zharkent Geothermal Spring in Kazakhstan. *Curr. Microbiol.*, vol. 78, pp. 2926-2934.
15. Miller T.L., Wolin M.J. (1974) A Serum Bottle Modification of the Hungate Technique for Cultivating Obligate Anaerobes. *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 27, pp. 985-987.
16. Nam G.W., Lee D.W., Lee H.S., Lee N.J., Kim B.C., Choe E.A., Hwang J.K., Suhartono M.T., Pyun Y.R. (2002) Native-Feather Degradation by *Fervidobacterium islandicum* AW-1, a Newly Isolated Keratinase-Producing Thermophilic Anaerobe. *Arch. Microbiol.*, vol. 178, pp. 538-547.
17. Parte A.C., Sardà-Carbasse J., Meier-Kolthoff J.P., Reimer L.C., Göker M. (2020) List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature (LPSN) Moves to the DSMZ. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 70, pp. 5607-5612.
18. Rice P., Longden I., Bleasby A. (2000) EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite. *Trends Genet.*, vol. 16, pp. 276-277.
19. Rouse J.G., Van Dyke M.E. (2010) A Review of Keratin-Based Biomaterials for Biomedical Applications. *Materials*, vol. 3, pp. 999-1014.
20. Sharma I., Pranaw K., Soni H., Rawat H.K., Kango N. (2022) Parametrically Optimized Feather Degradation by *Bacillus velezensis* NCIM 5802 and Delineation of Keratin Hydrolysis by Multi-Scale Analysis for Poultry Waste Management. *Sci. Rep.*, vol. 12, p. 17118.
21. Sokolova T.G., González J.M., Kostrikina N.A., Chernyh N.A., Tourova T.P., Kato C., Bonch-Osmolovskaya E.A., Robb F.T. (2001) *Carboxydobrachium pacificum* gen. nov., sp. nov., a New Anaerobic, Thermophilic, CO-Utilizing Marine Bacterium from Okinawa Trough. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 51, pp. 141-149.
22. Tamura K., Nei M. (1993) Estimation of the Number of Nucleotide Substitutions in the Control Region of Mitochondrial DNA in Humans and Chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.*, vol. 10, pp. 512-526.
23. Tamura K., Stecher G., Kumar S. (2021) MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol. Biol. Evol.*, vol. 38, pp. 3022-3027.
24. Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F., Higgins D.G. (1997) The CLUSTAL_X Windows Interface: Flexible Strategies for Multiple Sequence Alignment Aided by Quality Analysis Tools. *Nucleic Acids Res.*, vol. 25, pp. 4876-4882.
25. Williams C.M., Grimes J.L., Mikkelsen R.L. (1999) The Use of Poultry Litter as Co-Substrate and Source of Inorganic Nutrients and Microorganisms for the Ex Situ Biodegradation of Petroleum Compounds. *Poult. Sci.*, vol. 78, pp. 956-964.
26. Xue Y., Xu Y., Liu Y., Ma Y., Zhou P. (2001) *Thermoanaerobacter tengcongensis* sp. nov., a Novel Anaerobic, Saccharolytic, Thermophilic Bacterium Isolated from a Hot Spring in Tengcong, China. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, vol. 51, pp. 1335-1341.

Авторлар туралы мәліметтер:

Машжан Ақжігіт Сембайұлы – PhD, ғылыми қызметкер, Әл-Фараби ат. ҚазМУ (Алматы, Қазақстан, e-mail: aj.akzhigit@gmail.com)

Рубен Хавьер-Лопес – PhD студент, Берген университеті (Берген, Норвегия, e-mail: RubenJavier-Lopez@uib.no)

Бисенбай Ақерке Оңғарбайқызы – PhD студент, Әл-Фараби ат. ҚазМУ (Алматы, Қазақстан, e-mail: akerke.bissenbay@gmail.com)

Талипова Айжан Берікқызы – PhD кандидат, ғылыми қызметкер, Әл-Фараби ат. ҚазМУ (Алматы, Қазақстан, e-mail: Aizhan.Talipova@kaznu.kz)

Кистаубаева Аида Сериковна (корреспондентный автор) – биология ғылымдарының кандидаты, қауымдастырылған профессор, Әл-Фараби ат. ҚазМУ (Алматы, Қазақстан, e-mail: Aida.Kistaubaeva@kaznu.kz)

Information about authors:

Mashzhan Akzhigit Sembaiuly – PhD, researcher, Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: aj.akzhigit@gmail.com)

Ruben Javier-Lopez – PhD student, University of Bergen (Bergen, Norway, e-mail: RubenJavier-Lopez@uib.no)

Bisenbay Akerke Ongarbayovna – PhD student, Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: akerke.bissenbay@gmail.com)

Talipova Aizhan Berikovna – PhD candidate, researcher, Al-Farabi Kazakh National University (Almaty, Kazakhstan, e-mail: Aizhan.Talipova@kaznu.kz)

Kistaubayeva Aida Serikovna (corresponding author) – Candidate of Biological sciences, Associate Professor, Al-Farabi name. KazMU (Almaty, Kazakhstan, e-mail: Aida.Kistaubaeva@kaznu.kz)

*Келін түсті 12 маусым 2024 жыл
Қабылданды 20 тамыз 2024 жыл*