

# ИЗУЧЕНИЕ ЦЕЛЛЮЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

## З.К. Никитина

д.б.н., профессор, гл. науч. сотрудник,

Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР) (Москва, Россия)

E-mail: [nikitinaz@yandex.ru](mailto:nikitinaz@yandex.ru)

## И.К. Гордонова

к.б.н., вед. науч. сотрудник,

Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ФГБНУ ВИЛАР) (Москва, Россия)

E-mail: [gordonova777@yandex.ru](mailto:gordonova777@yandex.ru)

**Актуальность.** Целлюлазы занимают третье место в мире среди промышленно получаемых ферментов. В значительной степени это связано с тем, что целлюлоза является основной составной частью растительного материала, и лигнин-целлюлозная часть биомассы накапливается в огромном количестве в виде отходов сельского хозяйства, деревообрабатывающей и других отраслей промышленности. Для конверсии этого материала необходимо произвести его ферментативное расщепление до глюкозы и целлобиозы с помощью различных целлюлаз.

**Цель исследования** – изучение целлюлазной активности коллекционных штаммов мицелиальных грибов для отбора перспективных штаммов-продуцентов целлюлаз.

**Материал и методы.** Объектом исследования являлись 13 штаммов 12 видов микромицетов из биокolleкции микроорганизмов ФГБНУ ВИЛАР, относящиеся к родам *Aspergillus*, *Monilia*, *Penicillium*. В работе использовали поверхностное и глубинное культивирование грибов на средах с частичной заменой сахарозы на целлюлозу. Целлюлозолитическую активность микроорганизмов оценивали по скорости роста колоний. Кроме того, на последнем этапе культивирования окрашивали поверхности агара раствором Люголя, измеряли диаметр зон лизиса и рассчитывали индексы лизиса. Культивирование грибов в глубинных условиях проводили в колбах на качалке. Посевным материалом служила суспензия спор семисуточных культур дейтеромицета. В фильтрах культуральной жидкости оценивали общую целлюлазную активность с помощью определения восстанавливающих сахаров, а также концентрацию сахарозы.

**Результаты.** При поверхностном культивировании на модифицированной среде с целлюлазой грибы образовывали колонии и хорошо выраженные зоны лизиса, что свидетельствовало о синтезе и секреции целлюлозолитических ферментов. Выявлены различия скоростей радиального роста и индексов лизиса у отдельных видов и штаммов микромицетов. С использованием регрессионного и корреляционного анализа отобраны шесть штаммов для проведения глубинного культивирования. Показано наличие гидролитической активности по отношению к микрокристаллической целлюлозе в культуральной жидкости грибов при культивировании на среде с частичной заменой сахарозы на целлюлозу.

**Выводы.** Обнаружен синтез целлюлаз исследованными культурами грибов при поверхностном и глубинном культивировании. Комплексный анализ полученных данных позволяет выбрать наиболее перспективные штаммы-продуценты целлюлаз.

**Ключевые слова:** микромицеты, целлюлоза, целлюлаза, поверхностное и глубинное культивирование.

**Для цитирования:** Никитина З.К., Гордонова И.К. Изучение целлюлазной активности коллекционных штаммов мицелиальных грибов. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022;25(11):29–35. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-11-05>

Изучение биоразнообразия при поиске коммерчески ценных биохимических и генетических ресурсов для достижения экономических и природоохранных целей открывает большие перспективы при разработке новых соединений для производства пищевых продуктов и потребительских товаров, общественного здравоохранения, а также энергетики и экологии [1]. Ферменты могут быть получены из различных источников, таких как ткани животных, растения и микроорганизмы. Однако микроорганизмы представляют собой наиболее

привлекательный источник ферментов, поскольку их можно культивировать в больших количествах и за относительно короткий промежуток времени производить желаемый регулярный запас необходимых биокатализаторов [2].

Целлюлазы занимают третье место в мире среди промышленно получаемых ферментов [3]. В значительной степени это связано с тем, что целлюлоза является основной составной частью растительного материала, и лигнин-целлюлозная часть биомассы накапливается в огромном коли-

честве в виде отходов сельского хозяйства, деревообрабатывающей и других отраслей промышленности [4]. Для конверсии этого материала необходимо произвести его ферментативное расщепление до глюкозы и целлюлозы с помощью различных целлюлаз. Целлюлазы используются для переработки бумаги, хлопка, производства моющих средств, в пищевой промышленности, в производстве товаров широкого употребления и различных химических соединений [5].

В последнее время интерес к целлюлазам возрос во всем мире из-за их важности в производстве транспортного топлива [6]. Для получения широкого спектра целлюлаз активно используются мицелиальные грибы, актиномицеты и бактерии [7–9]. Упор делается на грибные целлюлазы в связи с большим количеством у этих продуцентов внеклеточных целлюлаз, менее сложных для получения [10]. В настоящее время выделены и охарактеризованы свойства ферментов, входящих в целлюлолитические комплексы многих мицелиальных грибов [11, 12], однако поиск новых продуцентов остается по-прежнему актуальным.

**Ц е л ь р а б о т ы** – изучение целлюлазной активности коллекционных штаммов мицелиальных грибов для отбора перспективных штаммов-продуцентов целлюлаз.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объект исследования – 13 штаммов 12 видов микромицетов из биокolleкции микроорганизмов ФГБНУ ВИЛАР, относящиеся к родам *Aspergillus*, *Monilia*, *Penicillium*: *A. niger* F 51, *A. sydowii* F 25, *A. terreus* F 59, *M. implicata* F 15, *P. brevicompactum* F 37, 49, *P. camemberti* F 45, *P. casei* F 19, *P. claviforme* F 32, *P. crustosum* F 46, *P. hirsutum* F 29, *P. malinovobranova* F 3, *P. purpurescens* F 18.

В некоторых экспериментах в качестве культуры для сравнения использовали новый штамм *P. martensii* F 63, полученный из материнского штамма *P. martensii* F 47 путем адаптации при культивировании на целлюлозных субстратах [13]. Микромицеты выращивали на скошенной поверхности агаризованной среды Чапека при 24 °С в течение 7 суток. Затем проводили посев тремя уколами на чашки Петри с агаризованной средой следующего состава: (%):  $\text{NaNO}_3$  – 0,2;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,1;  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,05;  $\text{KCl}$  – 0,05;  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,001;  $\text{CaCO}_3$  – 0,3; целлюлоза – 1,5; сахароза – 0,5; агар-агар – 2. В качестве источника целлюлозы использовали СН-cellulose (Serva). Целлюлозо-

литическую активность микроорганизмов оценивали по скорости роста колоний на соответствующих субстратах. Кроме того, на последнем этапе культивирования чашки Петри открывали, заливали на несколько минут раствором Люголя (ОАО «Тверская фармацевтическая фабрика») для окрашивания, измеряли диаметр зон лизиса (если они были) и рассчитывали индексы лизиса по ранее предложенной схеме [14].

Культивирование грибов в глубинных условиях проводили в колбах вместимостью 300 мл со 100 мл питательной среды на качалке при скорости вращения 220 об/мин при 26 °С. Посевным материалом служила суспензия спор семисуточных культур дейтеромицета. Количество посевного материала составляло  $2,6\text{--}3,6 \cdot 10^8$  спор на 100 мл среды. Культивирование осуществляли на модифицированной среде Чапека с частичной заменой сахарозы на целлюлозу (0,5% сахарозы и 1,5% целлюлозы).

Для определения целлюлазной активности грибов на 4-е сутки культивирования отбирали аликвоты по 5 мл. Фильтрат культуральной жидкости дейтеромицета, полученный ее пропусканием через мембранный фильтр с диаметром пор 0,23 мкм, добавляли к суспензии микрокристаллической целлюлозы (100 мг/мл) в 0,1 М Na-ацетатном буфере (рН 5,0) и инкубировали в течение 48 ч (исчерпывающий гидролиз) при температуре 40 °С. После 20-минутного кипячения с последующим центрифугированием при 6000 об/мин в течение 60 мин в супернатанте проводили оценку общей целлюлазной активности с помощью метода определения восстанавливающих сахаров с использованием натриевой соли динитросалициловой кислоты [15]. Параллельно в фильтрате культуральной жидкости определяли концентрацию сахарозы [16].

Статистическую обработку результатов, регрессионный и корреляционный анализ проводили на персональном компьютере с помощью пакета статистических программ Microsoft Office Excel 2010. Данные на рисунках представлены в виде средних значений и стандартных ошибок среднего по 12 измерениям.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рост микроорганизмов на средах, содержащих нерастворимые биополимеры, (например, целлюлозу) в качестве источника углерода, позволяет судить об их потенциальной гидролитической активности. Появление зон лизиса вокруг колоний явля-

ется показателем секреции ферментов в окружающую среду [17, 18]. В связи с этим на начальном этапе исследования фиксировались диаметры колоний и диаметры зон лизиса при культивировании микромицетов на модифицированной среде Чапека.

Можно видеть, что все микромицеты росли на средах с целлюлозой. В процессе культивирования происходило заметное увеличение размера колоний (рис. 1), однако наблюдались значительные различия скоростей роста между отдельными видами и штаммами грибов (рис. 2).

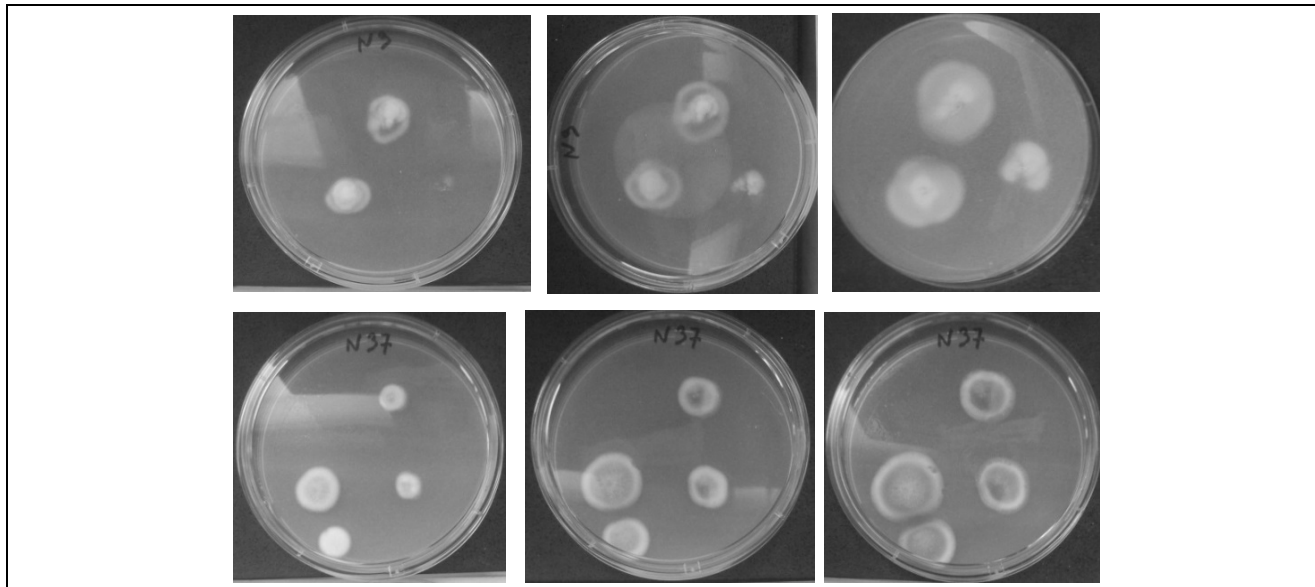


Рис. 1. Рост микромицетов на средах с целлюлозой: верхний ряд: *P. malinovbranova* F 3 (4-, 5- и 6-е сутки), нижний – *P. brevicompactum* F 37 (4-, 5- и 6-е сутки)

У большинства штаммов микромицетов минимальные скорости роста фиксировали в первые сутки культивирования, вероятно, это связано с адаптацией культур к использованию трудно утилизируемого субстрата, содержащего целлюлозу. Исключение составляли три культуры: *M. Implicate* F 15 и *P. purpurescens* F 18, у которых не отмечено значительного изменения скоростей роста в процессе культивирования, а также *P. claviforme* F 32, для которой зафиксирован максимальный показатель в первые сутки.

Для оценки целлюлазной активности исследуемых культур сравнивали максимальные скорости роста – показатели адаптационного потенциала микромицетов и индексов лизиса при культивировании на средах, содержащих целлюлозу (рис. 2 и 4). Максимальные скорости роста культур менялись в диапазоне от 1,80 (*P. purpurescens* F 18) до 5,50 (*P. casei* F 19). При этом указанные показатели у *P. casei* F 19 и штамма сравнения *P. martensi* F 63 статистически значимо ( $p \leq 0,5$ ) не различались. У большинства исследованных культур (F 52, 25, 59, 15, 37, 45, 32, 46, 29) отмечено снижение скоростей роста по сравнению с *P. martensi* F 63 на 30–40%.

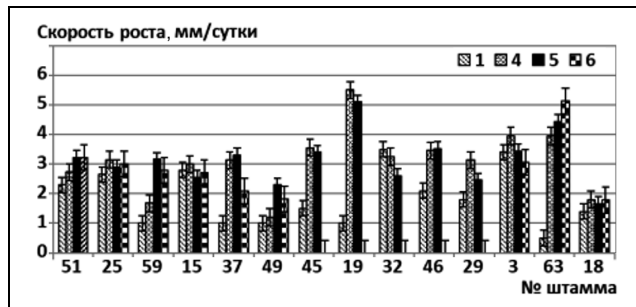


Рис. 2. Изменение радиальной скорости роста грибов при культивировании на целлюлозных средах (вверху показаны сроки культивирования в сутках)

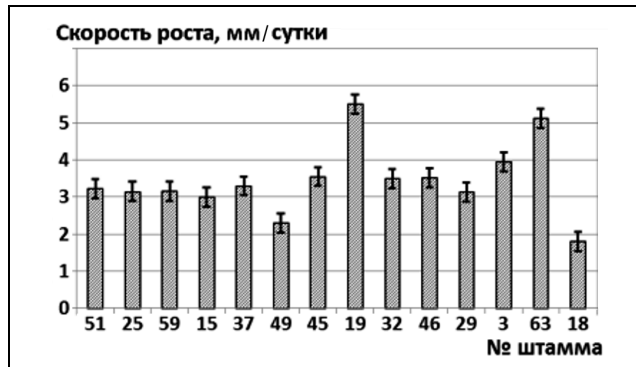
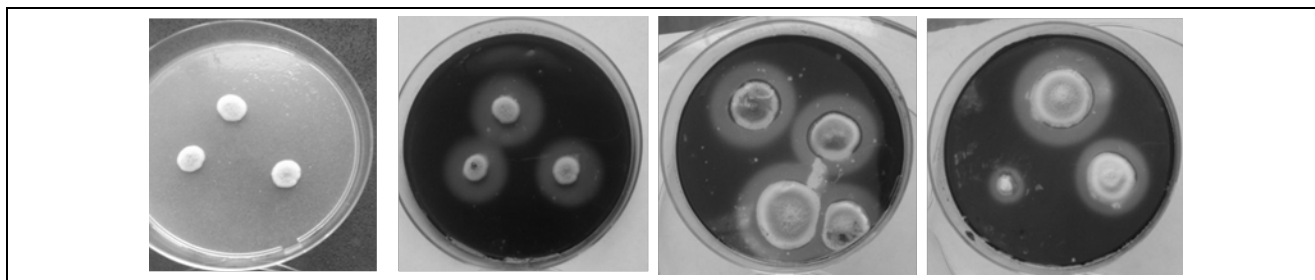
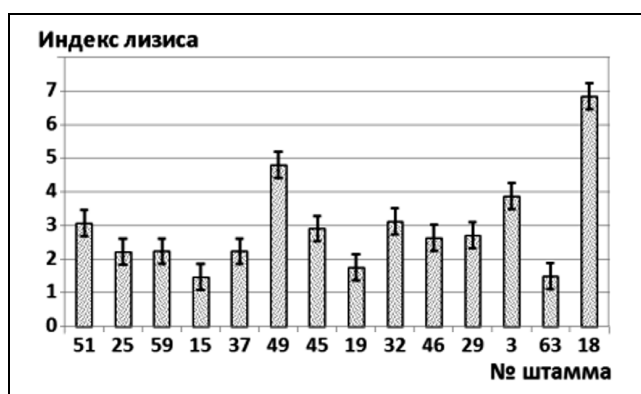


Рис. 3. Максимальные скорости радиального роста микромицетов при культивировании на целлюлозных средах



**Рис. 4.** Колонии и зоны лизиса грибов при культивировании на средах с целлюлозой. Слева направо: *P. purpurescens* F 18 без окраски, *P. purpurescens* F 18 с окраской, *P. brevicompactum* F 37, *A. terries* F 59

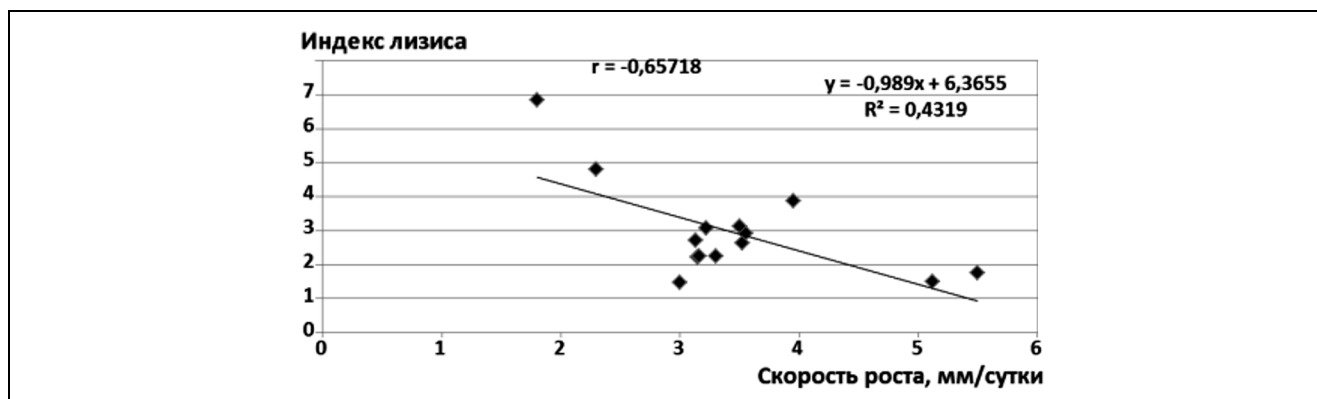
При оценке гидролитической активности микроорганизмов важным показателем является индекс лизиса, в определенной степени характеризующий удельную целлюлозолитическую активность культур, так как диаметр колонии пропорционален биомассе, а диаметр зоны лизиса – количеству секретируемого фермента. После окраски раствором Люголя на 5-е и 6-е сутки культивирования выявляли заметные зоны лизиса (рис. 4), что позволяло рассчитать индексы лизиса для каждого микромицета (рис. 5).



**Рис. 5.** Индексы лизиса грибов при росте на средах, содержащих целлюлозу

Индексы лизиса у трех видов аспергилл отличались незначительно. Наибольший показатель зафиксирован у *A. niger* F 51. Среди представителей рода *Penicillium* максимальный индекс лизиса отмечен у *P. purpurescens* F 18 (больше 6), у трех штаммов указанный показатель выше 3, у четырех – выше 2. Следует отметить, что при культивировании на модифицированной среде у всех исследованных микромицетов фиксировали индексы лизиса выше, чем у штамма сравнения *P. martensii* F 63, для которого ранее был показан синтез целлюлаз при глубинном культивировании в среде с заменой сахаразы на субстраты, содержащие целлюлозу [19].

При проведении скрининговых исследований культур основной целью является отбор перспективных штаммов-продуцентов для дальнейшего изучения их ферментативной активности при глубинном культивировании. При этом важными показателями для отбора являются скорость роста, которая определяет количество биомассы, и индекс лизиса – показатель гидролитической активности. Регрессионный и корреляционный анализы обнаружили отрицательную корреляцию между скоростью роста и индексом лизиса при культивировании грибов на средах с целлюлозой (рис. 6).



**Рис. 6.** График и уравнение линейной регрессии, показывающие соотношение между максимальной скоростью роста и индексом лизиса микромицетов ( $R^2$  – коэффициент детерминации)

Коэффициент корреляции  $r = -0,65718$ , значимость коэффициента корреляции  $t_p = 4,968 \geq t_{кр} = 2,921$  при уровне значимости 0,05, т.е. полученный коэффициент корреляции статистически значим [20]. В связи с этим при поиске культур для дальнейших исследований были отбракованы штаммы с наименьшими и наибольшими индексами лизиса и отобраны микромицеты с индексами лизиса, лежащими в диапазоне от 2, 24 до 3,13, и максимальными скоростью роста от 3,13 до 3,50 мм/сутки: *A. niger* F 51, *A. terreus* F 59, *P. brevicompactum* F 37, *P. claviforme* F 32, *P. crustosum* F 46, *P. hirsutum* F 29.

На заключительном этапе работы проведено пилотное глубинное культивирование отобранных микромицетов. Показано наличие гидролитической активности по отношению к микрокристаллической целлюлозе (МКЦ) в культуральной жидкости грибов при культивировании на среде с частичной заменой сахарозы на целлюлозу (таблица).

**Таблица. Концентрация сахарозы и образование восстанавливающих сахаров (ВС) после гидролиза МКЦ фильтратами культуральной жидкости**

Микромицет	Сахароза, мг/мл	ВС, мкг/мл
<i>A. niger</i> F 51	н/о*	82±11
<i>A. terreus</i> F 59	н/о*	143±16
<i>P. brevicompactum</i> F 37	н/о*	125±13
<i>P. claviforme</i> F 32	н/о*	140±16
<i>P. crustosum</i> F 46	н/о*	100±12
<i>P. hirsutum</i> F 29	н/о*	156±17

Примечание: н/о\* – не обнаружено.

Во всех случаях на этих этапах культивирования зафиксирована полная утилизация сахарозы из питательной среды. При этом целлюлазная активность фильтратов культуральной жидкости различалась у исследованных культур: накопление восстанавливающих сахаров после гидролиза менялось в диапазоне от 82 до 156 мкг/мл. Не выявлено какой-либо корреляционной связи между концентрацией восстанавливающих сахаров и индексом лизиса или скоростью роста. Однако, следует отметить, что исследования проводились в одной фиксированной по времени точке (4 суток).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об индуцибельном характере синтеза целлюлазы у микромицетов, то есть синтезе фермен-

тов в ответ на введение целлюлозосодержащего материала и после истощения других энергетических источников. Подобные закономерности были обнаружены и ранее при изучении особенностей синтеза целлюлазы у микромицетов в ответ на введение в питательную среду метилцеллюлозы [21].

## ВЫВОДЫ

Установлена способность всех исследованных микромицетов к росту и образованию зон лизиса при поверхностном культивировании на модифицированной среде с целлюлазой, что свидетельствовало о синтезе и секреции целлюлолитических ферментов. Обнаружены различия скоростей радиального роста и индексов лизиса у отдельных видов и штаммов грибов. С использованием регрессионного и корреляционного анализа отобраны шесть штаммов для проведения глубинного культивирования. Показано наличие гидролитической активности по отношению к микрокристаллической целлюлозе в культуральной жидкости грибов при культивировании на среде с частичной заменой сахарозы на целлюлозу.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Bull A.T., Ward A.C., Goodfellow M. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. *Microbial. Mol. Biol. Rev.* 2000; 39: 122–127.
2. Acharya S., Chaudhary A. Bioprospecting thermophiles for cellulose production: A review. *Brazilian Journal of Microbiology.* 2012; 844–856.
3. Srivastava N., Srivastava M., Alhazmi A., et al. Technological advances for improving fungal cellulose production from wastes for bioenergy application: A review. *Environmental Pollution.* 2021; 287: 117370. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117370>.
4. Sulyman A.O., Igunnu A., Malomo S.O. Isolation, purification and characterization of cellulose produced by *Aspergillus hypogaea* shells. *Heliyon* 2020; 6: E05668. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05668>.
5. Jayasekara S., Ramayake R. Microbial cellulases: an overview and applications. 2019. In book: *Cellulose*. April 2019. Ch. 22. Publisher: IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen.84531.
6. Singhanian R.R., Ruiz H.A., Awasthi M.K. et al. Challenges in cellulase bioprocess for biofuel application. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 2021; 151: 111622. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111622>.
7. Hadlar D., Sen D., Gayen K. A review on the production of fermentable sugars from lingo-cellulosic biomass through conventional and enzymatic route – a comparison. *Int. J. Green Energy.* 2016; 13: 1232–1253.
8. Kuhad R.C., Deswal D., Sharma S. et al. Revisiting cellulose production and redefining current strategies based on major challenges. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2016; 55: 249–272.
9. Roth J.C.G., Hoeltz M., Benitez L.B. Current approaches and trends in the production of microbial cellulases using residual lignocellulosic biomass: a bibliometric analysis of the last 10 years. *Apch. microbial.* 2020; 202(5): 935–951.

10. Bischof R.H., Ramoni J., Seiboth B. cellulases and beyond: the first 70 years of the enzyme producer *Trichoderma reesei*. Microb. Cell Factories. 2016; 15: 106–118.
11. Paul M., Mohapatra S., Mohapatra P.K.D., Thatoi H. Microbial cellulases – an update towards its surface chemistry, genetic engineering and recovery for its biotechnological potential. Bioresource Technology. 2021; 340: 125710. <https://doi.org/10/1016/j.biortech.2021.125710>.
12. Семенова М.В., Гусаков А.В., Телицин В.Д., Сеницын А.П. Ферментативная деструкция целлюлозы: особенности кинетического взаимодействия литических полисахаридмонооксигеназ и индивидуальных целлюлаз. Прикладная биохимия и микробиология. 2021; 57(5): 477–484.
13. Никитина З.К., Гордонова И.К. Разработка методических подходов для поиска продуцентов целлюлаз. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018; 3: 27–31. DOI: 10.29296/25877313-2018-03-05.
14. Никитина З.К., Яковлева М.Б., Гордонова И.К., Чол З.Х. Сравнительная оценка роста дейтеромицетов при использовании различных белокосодержащих субстратов. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2015; 11: 56–59.
15. Сеницын А.П., Гусаков А.П., Черноглазов В.М. Биоконверсия лигниноцеллюлозных материалов. М.: Изд-во МГУ. 1995. 224 с. ISBN 5-211-03050-8.
16. Государственная фармакопея Российской Федерации. Изд. XIII. Т. 1 ОФС. 1.2.3.001915 Определение сахаров спектрофотометрическим методом. М. 2015. 1470 с.
17. Мороз И.В., Михайлова Р.В., Шахнович Е.В., Лобанок А.Г. Поиск грибных продуцентов целлюлолитических ферментов. Труды БГУ. 2013; 8(ч. 1): 221–223.
18. Тхыонг Ф.К., Ву Н.Х., Хоа Л.В., Яковлева М.Б. Биологические характеристики микромицетов, выделенных из почв ботанического сада Бач Тхао. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2011; 5: 24–28.
19. Никитина З.К., Гордонова И.К. Использование отходов лекарственного растительного сырья для биотехнологического получения гидролитических ферментов. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019; 9: 37–42. DOI: 10.29296/25877313-2019-09-06.
20. Ивченко Г.И., Медведев Ю.И. Математическая статистика: Учебник. М.: Книжный дом «Либроком». 2014. 352 с. ISBN 978–5–397–04141–6.
21. Никитина З.К., Гордонова И.К. Оценка целлюлазной активности микромицетов. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018; 6: 20–26. DOI: 10.29296/25877313-2018-06-04.

Поступила 8 июня 2022 г.

## CELLULASE ACTIVITY OF MYCELIAL FUNGI COLLECTION STRAINS STUDY

© Z.K. Nikitina, I.K. Gordonova, 2022

### Z.K. Nikitina

Dr.Sc. (Biol.), Professor, All-Russian Scientific Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow, Russia)  
E-mail: nikitinaz@yandex.ru

### I.K. Gordonova

Ph.D. (Biol.), Leading Research Scientist, All-Russian Scientific Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow, Russia)  
E-mail: gordonova777@yandex.ru

**Relevance.** Cellulases occupy the third place in the world among industrially produced enzymes. This is largely due to the fact that cellulose is the main component of plant material, and the lignin-cellulose part of biomass accumulates in huge quantities in the form of waste from agriculture, woodworking and other industries. To convert this material, it is necessary to perform its enzymatic cleavage to glucose and cellobiose using various cellulases.

**The purpose** of this work was to study the cellulase activity of collection strains of mycelial fungi for the selection of promising strains-producers of cellulases

**Material and methods.** The objects of the study were 13 strains of 12 species of micromycetes from the microorganisms biocollection of the VILAR, belonging to the genera *Aspergillus*, *Monilia*, *Penicillium*. The work used surface and deep cultivation of fungi on media with partial replacement of sucrose with cellulose. The cellulolytic activity of microorganisms was assessed by the growth rate of colonies. In addition, at the last stage of cultivation, the surface of the agar was stained with Lugol solution, the diameter of the lysis zones was measured and lysis indices were calculated.

Mushroom cultivation in deep conditions was carried out in flasks on a shaker. The seed material was a suspension of spores of seven-day deuteromycete cultures. In the culture fluid filtrates, the total cellulase activity was evaluated by determining reducing sugars, as well as the concentration of sucrose.

Statistical processing of the results, regression and correlation analysis were carried out on a personal computer using the Microsoft Office Excel 2010 statistical software package.

**Results.** During surface cultivation on a modified medium with cellulose, fungi formed colonies and well-defined lysis zones, which indicated the synthesis and secretion of cellulolytic enzymes. Differences in radial growth rates and lysis indices were found in individual species and strains of micromycetes. Using regression and correlation analysis, six strains were selected for deep cultivation. The presence of hydrolytic activity with respect to microcrystalline cellulose in the culture fluid of fungi during cultivation on a medium with partial replacement of sucrose with cellulose is shown.

**Conclusions.** The synthesis of cellulases was found by the studied fungal cultures during surface and deep cultivation. A comprehensive analysis of the data obtained makes it possible to select the most promising cellulase-producing strains.

**Key words:** micromycetes, cellulose, cellulase, surface and deep cultivation.

**For citation:** Nikitina Z.K., Gordonova I.K. Cellulase activity of mycelial fungi collection strains study. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2022;25(11):29–35. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-11-05>

## REFERENCES

1. Bull A.T., Ward A.C., Goodfellow M. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. *Microbial. Mol. Biol. Rev.* 2000; 39: 122–127.
2. Acharya S., Chaudhary A. Bioprospecting thermophiles for cellulose production: A review. *Brazilian Journal of Micro-biology.* 2012: 844–856.
3. Srivastava N., Srivastava M., Alhazmi A., et al. Technological advances for improving fungal cellulose production from wastes for bioenergy application: A review. *Environmental Pollution.* 2021; 287: 117370. <https://doi.org/10.1016/j.env-pol.2021.117370>.
4. Sulyman A.O., Igunnu A., Malomo S.O. Isolation, purification and characterization of cellulose produced by *Aspergillus hy-pogeeae* shells. *Heliyon* 2020; 6: E05668. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05668>.
5. Jayasekara S., Ratnayake R. Microbial cellulases: an over-view and applications. 2019. In book: *Cellulose.* April 2019. Ch. 22. Publisher: IntechOpen. DOI: 10.5772/intecho-pen.84531.
6. Singhania R.R., Ruiz H.A., Awasthi M.K. et al. Challenges in cellulase bioprocess for biofuel application. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 2021; 151: 111622. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111622>.
7. Hadlar D., Sen D., Gayen K. A review on the production of fermentable sugars from lingocellulosic biomass through convertional and enzymatic route – a comparison. *Int. J. Green Energy.* 2016; 13: 1232–1253.
8. Kuhad R.C., Deswal D., Sharma S. et al. Revisiting cellulose production and redefining current strategies based on major challengers. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2016; 55: 249–272.
9. Roth J.C.G., Hoeltz M., Benitez L.B. Current approaches and trends in the production of microbial cellulases using residual lignocellulosic biomass: a bibliometric analysis of the last 10 years. *Apch. microbial.* 2020; 202(5): 935–951.
10. Bischof R.H., Ramoni J., Seiboth B. cellulases and beyond: the first 70 years of the enzyme producer *Trichoderma reesei*. *Microb. Cell Factories.* 2016; 15: 106–118.
11. Paul M., Mohapatra S., Mohapatra P.K.D., Thatoi H. Micro-bial cellulases – an update towards its surface chemistry, genetic engineering and recovery for its biotechnological potencial. *Bioresource Technology.* 2021; 340: 125710. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125710>.
12. Semenova M.V., Gusakov A.V., Telicin V.D., Sinicin A.P. Fermentativnaja destrukcija celljulozy: osobennosti ki-neticheskogo vzaimodejstviya liticheskikh polisaharidmonooksigenez i individual'nyh celljulaz. *Prikladnaja biokhimiya i mikrobiologija.* 2021; 57(5): 477–484.
13. Nikitina Z.K., Gordonova I.K. Razrabotka metodicheskikh podhodov dlja poiska producentov celljulaz. *Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii.* 2018; 3: 27–31. DOI: 10.29296/ 25877313-2018-03-05.
14. Nikitina Z.K., Jakovleva M.B., Gordonova I.K., Chol Z.H. Sravnitel'naja ocenka rosta dejteromicetov pri ispol'zovanii razlichnyh beloksoedzhashhih substratov. *Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii.* 2015; 11: 56–59.
15. Sinicyn A.P., Gusakov A.P., Chernoglazov V.M. Biokonversija lignocelljuloznyh materialov. M.: Izd-vo MGU. 1995. 224 s. ISBN 5-211-03050-8.
16. Gosudarstvennaja farmakopeja Rossijskoj Federacii. *Izd. XIII. T. 1 OFS. 1.2.3.001915* Opredelenie saharov spektrofotometricheskim metodom. M. 2015. 1470 s.
17. Moroz I.V., Mihajlova R.V., Shahnovich E.V., Lobanok A.G. Poisk gribnyh producentov celljuloliticheskikh fermentov. *Trudy BGU.* 2013; 8(ch. 1): 221–223.
18. Thyong F.K., Vu N.H., Hoa L.V., Jakovleva M.B. Biologicheskie karakteristiki mikromicetov, vydelennyh iz pochv botanicheskogo sada Bach Thao. *Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii.* 2011; 5: 24–28.
19. Nikitina Z.K., Gordonova I.K. Ispol'zovanie othodov lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ja dlja biotehnologicheskogo poluchenija gidroliticheskikh fermentov. *Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii.* 2019; 9: 37–42. DOI: 10.29296/25877313-2019-09-06.
20. Ivchenko G.I., Medvedev Ju.I. *Matematicheskaja statistika: Uchebnik.* M.: Knizhnyj dom «Librokom». 2014. 352 s. ISBN 978–5–397–04141–6.
21. Nikitina Z.K., Gordonova I.K. Ocenka celljulaznoj aktivnosti mikromicetov. *Voprosy biologicheskoy, medicinskoj i farmacevticheskoy himii.* 2018; 6: 20–26. DOI: 10.29296/ 25877313-2018-06-04.

## Лекарственные препараты, разработанные ВИЛАР

**Хелепин** (таблетки, мазь) рег. №№ 87/1186/10; 87/1186/7 – противовирусное средство при заболеваниях, вызываемых ДНК-геномными вирусами группы герпеса, получаемое из травы дикорастущего растения леспециды копеечниковой (*Lespedeza hedysaroides* (Pall.) Kitag.).

**Хелепин Д** (таблетки, мазь, глазные капли), рег. №№ 94/108/6; 94/108/7; 99/47/11 – противовирусное средство, получаемое из травы культивируемого растения десмодиума канадского (*Desmodium canadense* D.C.).

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45

Факс: 8(495)712-09-18;

e-mail: vilarnii.ru; www.vilarnii.ru