

6. О.А. Нестеренко, Е.И. Квасников, Т.М. Ногина. Нокардиоподобные и коринеподобные бактерии / Киев: Наук, думка, 1985. -336 с).
7. Практикум по микробиологии / А. И. Нетрусов, Е.А. - М.: Издательский центр «Академия», 2004. - 372с.
8. Bergey's manual of Systematic Bacteriology. Ist. ed. / Eds. A.Balows et al. - VI-4. Baltimore, 1984, 986 p.
9. Определитель Берджи / под. Ред. Дж.Хоулта, Н. Крига, П.Снита, Дж.Стейли, С.Уилльямса. М., Мир. 1997. 1, 2 Т.

\*\*\*

Жұмыста грам оң бактериялардың Қазақстанның жазық дала аймақтарының тыңайтылған топырақтарында таралуы зерттелген. Қазақстанның әртүрлі топырақтарында грам оң бактериялардың түрлік құрылымы әртүрлі болды. Барлық топырақтарда *Bacillus* және *Rhodococcus* туыстарының өкілдері басым болды. Қазақстанның сұрғылт топырақтарында *Bac. megaterium*, *Bac. mycoides*, *Rh. Aetherevorans* басым болды. Шөлейттің қызыл-қоңыр топырағында, ашық және орташы қызғылт-сары топырақтарында *Bac. megaterium* және *Rh. erythropolis* көп мөлшерде табылды, қызғылт-қоңыр топырақтарда *Bac. megaterium* және *Rh. baikonurensis*, қара топырақтарда *Rh. erythropolis*, *Rh. aetherevorans*, *Rh. baikonurensis*, *Bac. megaterium* басым болды.

\*\*\*

The article was studied the distribution of gram-positive bacteria in the virgin soils of the plains in Kazakhstan. The specific structure of gram-positive bacteria, the major soil types in Kazakhstan has been varied. In all types of soil bacteria, dominated by representatives of the genus *Bacillus* and *Rhodococcus*. In the gray-brown desert soils dominated by species of the Kazakhstan *Bac. megaterium*, *Bac. mycoides* and *Rh. aetherevorans*. In the desert brown, light brown to medium soils in a large number of species found *Bac. megaterium* and *Rh. baikonurensis*, and the black earth was dominated by *Rh. erythropolis*, *Rh. aetherevorans*, *Rh. Baikonurensis*, *Bac. megaterium*.

УДК 576.154.36

**О.Н. Шемшюра**  
**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХИТИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ**  
**У ГРИБОВ АНТАГОНИСТОВ**  
(Институт микробиологии и вирусологии РГП «ЦБИ» МОН РК)

В данной работе представлены результаты исследования хитинолитической активности наиболее активных штаммов микроскопических грибов, обладающих антагонистической активностью.

Хитин, состоящий из остатков N-ацетил-D-глюкозамина, соединенный 1,4- В-связями, является одним из наиболее распространенных полисахаридов на нашей планете. Хитин входит в состав покровных тканей членистоногих, а также клеточных стенок грибов и бактерий [1].

Микопаразитическая активность грибов-антагонистов может быть обусловлена синтезом литических ферментов, способных к гидролизу клеточной стенки фитопатогенов и хитиновых покровов насекомых – вредителей. В связи с этим, наличие хитинолитической активности у исследуемых штаммов, можно использовать в качестве способов отбора перспективных культур микроорганизмов для биоконтроля за патогенами. Ранее была установлена антагонистическая активность для ряда штаммов микроскопических грибов в отношении различных патогенов и вредителей [3-7], а также ее взаимосвязь с синтезом биологически активных соединений, таких как алкалоиды [8-9], аминокислоты [10], ферменты [11].

**Материалы и методы.**

В работе использованы грибы родов *Penicillium* (штаммы 947, 340, 7N), *Aspergillus* (штаммы 127, 6M, 140), *Trichoderma* (штаммы F-1, ANT, TX), *Beauveria* (штамм ВВ).

Споры грибов смывали с агаровых сред в колбы объемом 100 мл со средой Чапека. Инкубировали в течение 4 суток, затем грибную массу гомогенизировали и переносили в колбы объемом 250 мл, содержащих по 150 мл среды Чапека, и культивировали в течение 17 суток.

Мицелий разрушали замораживанием-оттаиванием, с последующим растиранием в ступке с кварцевым песком. Белки экстрагировали 0,1М фосфатным буфером (рН=7,1) в течение ночи при +4<sup>0</sup>С. Экстракт отделяли фильтрованием с помощью бумажного и мембранного фильтров, насыщали сульфатом аммония до 65% и оставляли на ночь при +4<sup>0</sup>С. Осадок (белки) отделяли центрифугированием при 10000 об/мин в течение 20 минут, растворяли в дистиллированной воде и диализировали в течение ночи против 0,1М фосфатного буфера рН=7,1.

Культуральную жидкость каждой пробы (по 120 мл) насыщали сульфатом аммония до 65% и оставляли на ночь при +4<sup>0</sup>С для формирования осадка. Осадок отделяли центрифугированием при 10000 об/мин в течение 20 минут, растворяли в дистиллированной воде и диализировали в течение ночи против 0,1М фосфатного буфера рН=7,1.

В полученных ферментативных препаратах определяли белок по методу Лоури и др. [12] и хитинолитическую активность (по расщеплению коллоидного хитина и образованию N-ацетил-D-глюкозамина).

Также проведено исследование накопления хитиназы в культуральной жидкости, определен температурный оптимум и термостабильность хитиназы, выделенной из культуральной жидкости.

### Результаты и обсуждение.

Из 10 исследуемых штаммов микроскопических грибов наибольшей хитинолитической активностью обладал штамм F-1, причем активность в культуральной жидкости значительно превышала таковую в мицелии. Кроме того, хитинолитическая активность выявлена у штаммов 7N и ANT(эндо- и экзохитиназы). У штаммов 340 и 5M хитиназа была обнаружена лишь в мицелии. Возможно, что при более длительном культивировании можно будет обнаружить и экзохитиназу. У остальных штаммов данный фермент не выявлен.

Следует также отметить, что при длительном культивировании на среде Чапека, штаммы теряют свою способность вырабатывать хитиназу. Возможно, необходимо подобрать более подходящую среду, при культивировании на которой, грибы не будут терять своего свойства вырабатывать фермент.

Исследована динамика накопления хитиназы в культуральной жидкости. Для исследования был взят штамм *Trichoderma viride* F-1, обладающий наибольшей хитинолитической активностью.

Из литературы известно, что бактериальные клетки максимально синтезируют хитиназу на 4-7 сутки культивирования, а клетки актиномицетов на 1 сутки культивирования [2], наши исследования показали, что ферментный комплекс гриба *Trichoderma viride* F-1 накапливается в культуральной жидкости при длительном культивировании от 14 до 24 суток. При этом было установлено, что максимальное накопление фермента происходит на 22-е сутки роста гриба (в этот период удельная активность ферментного раствора составила 0,78 ед/мг, а активность в 1 мл – 0,74 ед), затем, начиная с 25 суток роста уровень фермента в культуральной жидкости значительно снижается (рис.1).

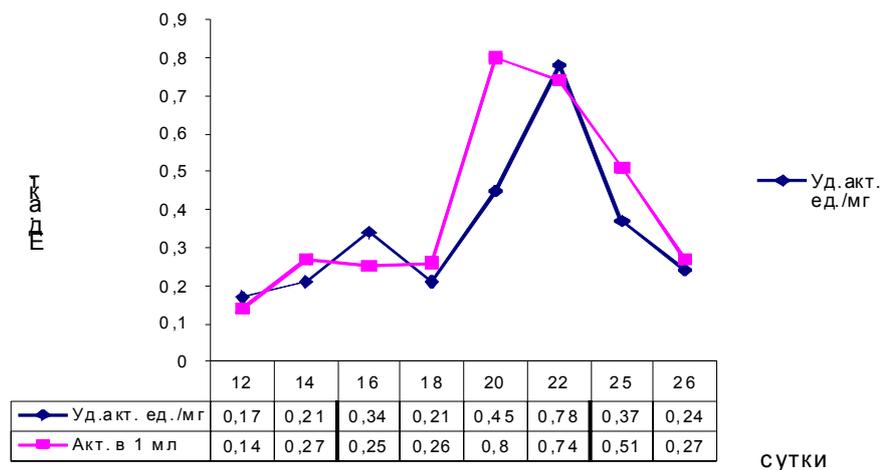


Рисунок 1. Динамика накопления хитиназы в культуральной жидкости гриба *Trichoderma viride* F-1

Определение температурного оптимума хитиназы, выделенной из культуральной жидкости штамма F-1, показало, что он находится в пределах 40-50<sup>0</sup>С. Увеличение температуры инкубации ведет к снижению активности ферментного раствора.

При исследовании термостабильности хитиназы, выделенной из культуральной жидкости штамма F-1, исходная активность фермента в 1 мл составила 0,42 ЕД в 1 мл.

Установлено, что хитиназа штамма F-1 относительно термолабильна, она теряет свою активность при температуре инкубации 70<sup>0</sup>С, 80<sup>0</sup>С за 15 мин и при температуре инкубации 50<sup>0</sup>С, 60<sup>0</sup>С за 45 мин (рис.3). Для сравнения, бактериальная хитиназа теряла свою активность на 45% при температуре 60<sup>0</sup>С за 15 мин и полная инактивация фермента происходила за 3 часа [2].

Таким образом, наибольшая хитинолитическая активность отмечена у штамма гриба *Trichoderma viride* F-1, который характеризуется высоким антагонистическим действием на различные фитопатогены и вредители растений. Следовательно, наряду с другими физиологически активными

соединениями, хитиназа обуславливает потенциальные возможности гриба в биоконтроле за патогенными для сельскохозяйственных культур организмами.

Полученные характеристики препарата хитиназы гриба *Trichoderma viride* F-1, позволят в дальнейшем разработать оптимальную схему его получения, очистки и проведения тестирований на фитопатогенах и вредителях растений.

1. Безбородов А.М., Решетилова Н.А., Тиунова Н.А. в-Глюканазы микроорганизмов// Прикладная биохимия и микробиология 1982.- Т.18. -В.6.- С.806-815.
2. Чигалейчик А.Г., Пириева Д.А. Внеклеточная хитиназа *Aeromonas liquefaciens* // Прикладная биохимия и микробиология. - 1976.- Т.12. - В.2. -С.238-242.
3. Бекмаханова Н.Е., Успанов А.К. Антибиотические свойства активных штаммов грибов, выделенных из ризосферы сахарной свеклы //Труды ИМиВ АН КазССР. – Алма-Ата. - 1986. - Т.30. - С. 61-68.
4. Успанов А.К., Тулемисова К.А., Бекмаханова Н.Е. Антагонизм и гиперпаразитизм триходермы к фитопатогенным грибам //Вестник АН КазССР. -1986. -№2. -С. 47-51.
5. Бекмаханова Н.Е., Шемшура О.Н. Скрининг высокоактивных штаммов-антагонистов, перспективных против возбудителей риса. Известия НАН РК, серия биологическая. - 1997. - № 1. - С. 7-10.
6. Бекмаханова Н.Е., Шемшура О.Н., Разживин А.А. Поиск и изучение перспективных штаммов грибов Триходерма, обладающих нематостатическими свойствами - Известия МН-АН РК, серия биологическая. - 1998. - № 4. - С. 41-44.
7. Шемшура О.Н., Бекмаханова Н.Е., Мазунина М.Н. Подбор питательных сред для усиления антагонистической активности микроскопических грибов // Биотехнологии – 2000. Тезисы докл.– Пушино. – 2000. – С.70
8. Бекмаханова Н.Е., Шемшура О.Н. Токсическое действие алкалоидов гриба *Aspergillus niger* 8 на паразитические нематоды. - Известия МН-АН РК, серия биологическая. - 1998. -№ 5-6. - С.34-40.
9. Bekmakhanova N.E., Shemshura O.N. Alkaloids of microscopic fungi for plant protection // thesis of poster declaration at the International conference “Bioactive Fungal Metabolites” – Impact and Exploitation” Wales Swansea (UK). - 2001. -P.49.
10. Шемшура О.Н., Бекмаханова Н.Е., Джакибаева Г.Т., Мазунина М.Н., Султанкулова К.Т. Синтез аминокислот и его взаимосвязь с антагонистической активностью микроскопических грибов // Известия МН-АН РК, серия биологическая. - 2002. - №1. - С.84-90.
11. Шемшура О.Н., Джакибаева Г.Т., Бекмаханова Н.Е. Сравнительное изучение ферментативной способности штаммов-антагонистов из рода *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*. - Известия МН-АН РК, серия биологическая. - 1998. -№ 1. - С. 73-77.
12. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., et al. Protein measurement with the folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951.- V. 193. - №1. - P. 265-275.

\*\*\*

Берілген жұмыстың зерттеу нәтижесінде хитинологиялық белсенділігі жоғары микроскопиялық саңырауқұлақ ол антагонистік белсенділік қасиетке ие.

\*\*\*

This paper presents the results of the study chitinolytic activity of the most active strains of microscopic fungi having antagonistic activity

**УДК 635.21:632.3**

**О.Н. Шемшура, Н.Е. Бекмаханова, М.Н. Мазунина**  
**ИССЛЕДОВАНИЕ НЕМАТОСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ ГРИБА**  
***ASPERGILLUS SP.***

(Институт микробиологии и вирусологии РГП «ЦБИ» МОН РК )

*Установлена нематостатическая активность белок содержащих компонентов гриба *Aspergillus sp.*, проявляющаяся в зимний период культивирования гриба. Определено содержание белка в исследуемых образцах и его аминокислотный состав.*

Мировые потери сельскохозяйственной продукции от нематод составляют в среднем 7-10%. В нашей стране ощутимый ущерб сельскому хозяйству наносят овсяная, картофельная, свекловичная, галловые и другие нематоды. В теплицах галловые нематоды могут вызывать до 50% потерь продукции томатов.

Существующие в настоящее время подходы и методы защиты от нематод либо не обладают достаточной эффективностью, либо имеют ограничения, связанные с токсичностью применяемых химических нематоцидов.

В последние годы значительно возрос интерес к фундаментальным исследованиям в области экспериментальной микологии, а также использованию продуктов синтеза микроскопических грибов в сельском хозяйстве, медицине, пищевой промышленности и др. отраслях народного хозяйства.

В процессе эволюции растения, в том числе и микроскопические грибы, выработали механизмы, позволяющие им успешно противостоять неблагоприятным воздействиям, в том числе, различного