

ФИТОТОКСИНЫ ГРИБОВ: ОТ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ - К ПРАКТИЧЕСКОМУ ИСПОЛЬЗОВАНИЮ (ОБЗОР)

© 2008 г. А.О.Берестецкий

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений РАСХН, Санкт-Петербург-Пушкин, 196608; [e-mail: aberestetski@yahoo.com](mailto:aberestetski@yahoo.com)

Обобщены современные материалы, касающиеся классификации фитотоксинов грибов, методов их получения и оценки биологической активности. Представлены известные продуценты фитотоксических веществ, проанализирована химическая природа фитотоксинов. Рассмотрены как механизмы действия фитотоксинов на растения, так и механизмы нечувствительности растений к ним. Обсуждаются возможности применения фундаментальных знаний о природе и механизмах действия фитотоксинов в разработке средств защиты растений от заболеваний и сорняков, в идентификации и хемосистематике грибов.

ТИМИДИН- И ТИМИДИЛАТКИНАЗЫ ИЗ ГОНАД ГРЕБЕШКА ПРИМОРСКОГО

Mizuhopecten yessoensis

© 2008 г. Л.Л.Терентьев, Н.А.Терентьева, В.А.Рассказов

Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток, 690022; [e-mail: teren@piboc.dvo.ru](mailto:teren@piboc.dvo.ru)

Из гонад гребешка приморского *Mizuhopecten yessoensis* выделены тимидин- и тимидилаткиназа. Ферменты очищены соответственно в 537 и 100 раз и свободны от примесей фосфатазы и АТФазы. Для проявления активности нуклеозид- и нуклеотидкиназы требовалось наличие ионов двухвалентных металлов и АТФ, оптимум рН находится в интервале 7.5-8.5. КСl и NaCl в концентрации до 100 мМ не оказывали ингибирующего действия на активность выделенных из гребешка ферментов. Тимидинкиназа катализировала фосфорилирование тимидина и, с меньшей скоростью, дезоксицитидина, но не использовала в качестве акцептора фосфата пуриновые рибо- и дезоксирибонуклеозиды, а также пиримидиновые рибонуклеозиды. Тимидилаткиназа осуществляла фосфорилирование ТМФ и дЦМФ, эффективность которого составляла около 30%. В качестве донора фосфатных групп, кроме АТФ, ферменты способны использовать с разной эффективностью также дАТФ, дГТФ, ГТФ, УТФ и ЦТФ. Активность тимидинкиназы ингибировалась ТМФ, ТТФ и дЦТФ.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОЙ ТЕРМОСТАБИЛЬНОЙ ДНК-ЛИГАЗЫ ИЗ АРХЕИ РОДА *Thermococcus*

© 2008 г. В.А.Смагин*, А.В.Марданов*, Е.А.Бонч-Осмоловская**, Н.В.Равин*

*Центр "Биоинженерия" РАН, Москва; [e-mail: nravin@biengi.ac.ru](mailto:nravin@biengi.ac.ru)

**Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва; [e-mail: lbo@mail.ru](mailto:lbo@mail.ru)

С помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) был идентифицирован и затем секвенирован ген ДНК-лигазы из термофильной археи рода *Thermococcus* (штамм 1519). Рекомбинантный фермент, LigTh1519, был экспрессирован в *Escherichia coli*, очищен и

охарактеризован. Установлено, что LigTh1519 мог лигировать когезивные концы и односторонние разрывы в двунизовой ДНК с использованием АТФ в качестве кофактора. Оптимальные условия лигазной реакции достигались при 100 мМ NaCl, 50 мМ MgCl₂, pH в диапазоне 7.0-10.5 и температуре 70°C. Более 50% активности Lig1519 сохранялось после инкубации фермента в течение 30 мин при 80°C. Выделенная нами новая термостабильная ДНК-лигаза LigTh1519 может быть использована для выполнения фундаментальных и прикладных работ в области молекулярной биологии и генетической инженерии.

EXAMINATION OF BOVINE LACTOFERRIN BINDING TO BIFIDOBACTERIA

© 2008 г. Md.M.Rahman, W.-S.Kim, T.Ito, H.Kumura, K.Shimazaki
*Dairy Science Laboratory, Graduate School of Agriculture, Hokkaido University. W-9. N-9,
Sapporo, 060-8589, Japan*
[e-mail: morshedur68@yahoo.com](mailto:morshedur68@yahoo.com)

In the present study, lactoferrin binding to bifidobacteria and detection of lactoferrin-binding protein in membrane fractions of several bifidobacteria have been demonstrated. This is the first report showing the binding of bovine lactoferrin to four *Bifidobacterium* spp. (*B. infantis*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. longum*) incubated with biotinylated lactoferrin and fluorescein conjugated-avidin and observed under an inverted confocal laser scanning microscope. Fluorescence staining showed lactoferrin binding at the pole of the bacterial cells. A lactoferrin-binding protein with a molecular weight of approximately 67 kDa was also detected in the membrane fraction of *Bifidobacterium* spp. by far western blotting technique using biotinylated lactoferrin and horseradish peroxidase-conjugated streptavidin. Based on the results of this and previously reported studies, we suggest that binding of lactoferrin to *Bifidobacterium longum* is strain-dependent.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА МОЛЕКУЛЯРНУЮ МАССУ ПОЛИ-3-ГИДРОКСИБУТИРАТА, СИНТЕЗИРУЕМОГО *Azotobacter chroococcum* 7Б

© 2008 г. В.Л.Мышкина, Д.А.Николаева, Т.К.Махина А.П.Бонарцев, Г.А.Бонарцева
Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва, 119071; e-mail: bonar@inbi.ras.ru

Показана возможность получения поли-3-гидроксибутирата (ПГБ) разной молекулярной массы (ММ) путем изменения условий культивирования штамма-продуцента *Azotobacter chroococcum* 7Б: pH среды, температура, уровень аэрации, внесение дополнительного источника углерода - ацетат натрия, а также при росте на неочищенных комплексных источниках углерода (меласса, винасса, крахмал). Полимер с высокой степенью полимеризации может быть получен при оптимальном для роста культуры нейтральном (pH 7.0) среды (1485 кДа), при температуре культивирования 30-37°C (1600-1450 кДа соответственно), при низком уровне аэрации (2215 кДа). Снижению степени полимеризации ПГБ способствовало отклонение pH среды в кислую (pH 6.0, 476 кДа) или щелочную область (pH 8.0, 354 кДа), а также понижение температуры культивирования до 20°C (897 кДа). Впервые разработан способ получения ПГБ заданной молекулярной массы в широком диапазоне ММ от 270 до 1515 кДа с высоким содержанием ПГБ в клетке путем внесения в среду культивирования дополнительного источника углерода - ацетата натрия при изменении его градиента концентрации в среде от 0 до 5 г/л.

EFFECT OF BIOPROCESS CONDITIONS ON GROWTH AND ALKALINE PROTEASE PRODUCTION BY HALOTOLERANT *Bacillus licheniformis* BA17

© 2008 г. I.E.Nikerel*, O.Ates**, and E.T.Oner**

Department of Biotechnology, TV Delft, 2628 BC, Delft, The Netherlands* *Department of Chemical Engineering, Marmara University, Goztepe 34722 Istanbul, Turkey* [e-mail: i.e.nikerel@tudelft.nl](mailto:i.e.nikerel@tudelft.nl)

The effect of bioprocess conditions (pH and temperature) on the growth and alkaline protease production of halotolerant *Bacillus licheniformis* BA17 bioreactor cultures have been systematically analyzed using response surface methodology in order to assess the importance of these generally disregarded parameters. Two models were proposed differing by the choice of response variable. Under optimized bioprocess conditions, whole alkaline protease activity was about 3 fold higher than the activities obtained in the preliminary studies. Results of this study not only highlight the importance of pH and temperature for further engineering purposes but also serve as basis for understanding the true mechanism lying under the relation between these process parameters and growth and whole alkaline protease production.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНАЯ ДЕГРАДАЦИЯ ПАРА-КРЕЗОЛА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФОТОХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

© 2008 г. Е.А.Каретникова*, О.Н.Чайковская**, И.В.Соколова**, Л.И.Никитина***

**Институт водных и экологических проблем ДВО РАН, Хабаровск, 680000;*

[e-mail: micro@ivep.as.khb.ru](mailto:micro@ivep.as.khb.ru)

***Сибирский физико-технический институт им. ак. В. Д. Кузнецова, Томск, 634050*

[e-mail: tchon@phys.tsu.ru](mailto:tchon@phys.tsu.ru)

****Дальневосточный государственный университет путей сообщения, Хабаровск, 680021*

Проведены исследования последовательной фото- и биодеградации п-крезола с использованием ртутной лампы, KrCl и XeCl эксилламп. Показано, что предварительное облучение токсиканта при концентрации 10^{-4} моль/л не влияло на темпы последующей биодеградации. При увеличении концентрации п-крезола до 10^{-3} моль/л и времени предварительного УФ-облучения наблюдалось замедление последующей биодеградации. Биодеградация п-крезола сопровождалась образованием соединения, флуоресцирующего с максимумом 365 нм ($\lambda_{\text{возб}}$ 280 нм), а фотодеградация - соединения, флуоресцирующего при 400 нм ($\lambda_{\text{возб}}$ 330 нм). Последовательная УФ-биодеградация приводила к образованию в спектрах флуоресценции полос, относящихся к испусканию как самого п-крезола, так и продуктов его фотолиза. Показано, что при последовательном применении биологических и фотохимических методов деградации разрушается не только исходный токсикант, но образующиеся при его биодеградации метаболиты.

ВЫДЕЛЕНИЕ АБОРИГЕННОГО СООБЩЕСТВА БАКТЕРИЙ, СПОСОБНОГО К УТИЛИЗАЦИИ ЦИАНИДА, ТИОЦИАНАТА И АММОНИЯ, ИЗ СТОКОВ МЕТАЛЛУРГИЧЕСКОГО ЗАВОДА

© 2008 г. Н.В.Григорьева*, Ю.В.Смирнова**, С.В.Терехова**, Г.И.Каравайко

*Институт микробиологии им. С.Н.Виноградского РАН Москва, 117312; [e-mail: grigorevanv@bk.ru](mailto:grigorevanv@bk.ru)

**Российский химико-технологический университет им.Д.И.Менделеева, Москва, 125047

Из образцов оборотной воды после доменной газоочистки металлургического предприятия было выделено аборигенное сообщество бактерий, способное к деструкции цианида (10 мг/л), тиоцианата (2 г/л) и удалению аммония (120 мг/л). Показано, что для жизнедеятельности данного сообщества бактерий оптимальное значение температуры - 34°C рН 8.8-9.0, концентрация доступной органики - 5 г/л (глюкозный эквивалент) и растворенного кислорода - 8-10 мг/л O₂. В состав выделенного аборигенного сообщества бактерий входили виды рода *Pseudomonas*.

ВЛИЯНИЕ КИСЛОТНОЙ ОБРАБОТКИ НА ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И ПРОЦЕСС БАКТЕРИАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЗОЛОТОМЫШЬЯКОВОГО КОНЦЕНТРАТА

© 2008 г. Н.В.Фомченко, Т.А.Пивоварова, Т.Ф.Кондратьева

Институт микробиологии им С. Н. Виноградского РАН, Москва, 117312; [e-mail: pivovar@inmi.host.ru](mailto:pivovar@inmi.host.ru)

Исследовано влияние предварительной кислотной обработки золотомышьякового концентрата - перспективного сырья для получения золота на его химический состав и эффективность последующего бактериального окисления (БО). Показано, что в процессе БО концентрата после высокотемпературной кислотной обработки концентрация сульфобацил составила 9.0×10^7 кл./мл при степени окисления сульфида мышьяка 71.1 %, а в контроле - 6.5×10^7 кл./мл при степени окисления всего 48.7%. Наиболее полное окисление основного золотосодержащего минерала — сульфида мышьяка будет способствовать наиболее эффективному извлечению золота из концентрата.

КИНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИНГИБИРОВАНИЯ РОСТА ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ РИЗОСФЕРНЫМИ БАКТЕРИЯМИ

© 2008 г. О.М.Минаева, Е.Е.Акимова, Е.В.Евдокимов

Научно-исследовательский институт биологии и биофизики Томского государственного университета, 634050, Томск; [e-mail: mom05@mail.ru](mailto:mom05@mail.ru)

Исследовали кинетику ингибирования роста грибов родов *Fusarium* и *Bipolaris* бактериями *Pseudomonas* sp. В-6798 и *Azotobacter chroococcum* В-2272 Д на плотных питательных средах в монокультуре и при соинкуляции. Зависимость скорости роста грибных колоний от концентрации бактерий в инокуляте подчинялась модифицированному уравнению Иерусалимского. Предложено степень антагонистической активности оценивать по константе ингибирования K_i и остаточной скорости роста грибов. Для рассмотренных видов K_i роста грибов бактериями варьировала в пределах 10-100 кл./мл. Показано более

эффективное фунгистатическое влияние бактериальных штаммов в совместной культуре. Полученные в работе параметры позволяют сравнить степень антифунгальной активности бактерий в экспериментах, проведенных *in vitro*. Предложенный метод проведения тестов может быть использован для отбора бактерий - активных начал биофунгицидов при выборе биопрепарата для борьбы с конкретным возбудителем заболевания растений.

РЕГУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ МИКРОБНЫХ АЛКИЛОКСИБЕНЗОЛОВ РАЗЛИЧНОЙ СТРУКТУРЫ НА СТРЕССОВЫЙ ОТВЕТ ДРОЖЖЕЙ

© 2008 г. И.А.Конаныхина*, Е.Ф.Шаненко*, Н.Г.Лойко**, Ю.А.Николаев**, Г.И.Эль-Регистан **

**Московский государственный университет пищевых производств, Москва, 125080; e-mail: irakon@list.ru*

***Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва, 117312*

Исследовано воздействие алкилоксибензолов (АОБ) класса алкилрезорцинов, различающихся степенью гидрофобности - С7-АОБ и более гидрофобного С12-АОБ, на устойчивость клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* к температурному и окислительному стрессам летальной интенсивности. Обнаружено, что в зависимости от структуры и концентрации АОБ оказывают антистрессовое или, напротив, стресс-потенцирующее действие на клетки дрожжей середины фазы логарифмического роста, при их внесении за 2 ч до стрессового воздействия. С7-АОБ в концентрациях 0.25-0.5 г/л повышал устойчивость клеток дрожжей к пероксиду водорода (30-150 мМ) в 2-5 раз, С12-АОБ, напротив, при всех исследованных концентрациях понижал ее. Аналогичное действие С7- и С12-АОБ проявляли в отношении дрожжей, подвергнутых термошоку (45°C, 30 мин). Установлено, что как степень протекторного действия С7-АОБ, так и степень потенцирующего действия С12-АОБ зависели от природы стрессорного воздействия и были более выражены при термошоке. Обсуждается экологическое значение антистрессового или стресс-потенцирующего действия микробных АОБ.

ЛИПИДЫ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ КАК ОСНОВА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОДИЗЕЛЬНОГО ТОПЛИВА

© 2008 г. Я.Э.Сергеева, Л.А.Галанина, Д.А.Андрианова, Е.П.Феофилова

Институт микробиологии РАН им.С. Н. Виноградского, Москва 117312; e-mail: feofilov@inmi.host.ru

С целью создания топлива для дизельных двигателей проведен скрининг мицелиальных грибов по способности к образованию липидов среди представителей различных систематических групп. Выявлен активный продуцент липидов - мукоровый гриб *Cunninghamella japonica*, подобрана дешевая среда, содержащая в качестве источника азота нитрат аммония, позволяющая получать до 16 г/л биомассы и более 7 г/л липидов. В липидах гриба преобладала олеиновая кислота (до 50% от суммы жирных кислот) йодное число - 86.61. Теплотворная способность липидов - 37.13 МДж/кг соответствовала аналогичному показателю рапсового масла. Использование стимуляторов прорастания конидий *C. japonica* - позволило сократить сроки ферментации и липидообразования. После удаления липидов из обезжиренной биомассы гриба был получен хитин, изучены его

физико-химические свойства. Возможность выделения из мицелия второго продукта - ценного аминополисахарида хитина позволит сделать процесс получения альтернативного вида топлива экономически более выгодным и экологически чистым.

ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ СЕКРЕЦИИ ЛИГНОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ ГРИБОМ *Lentinus tigrinus* ВНЕСЕНИЕМ БУТАНОЛА И ТОЛУОЛА ПРИ ГЛУБИННОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

© 2008 г. Д.А.Кадималиев*, О.С.Надежина*, Н.А.Атыкян*, В.В.Ревин*, А.А.Паршин*,
А.И.Лаврова**, П.В.Духовскис***

* Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Саранск; 430000 [e-mail: cadimded@yandex.ru](mailto:cadimded@yandex.ru)

**Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва; 119992 [e-mail: novelle - i@yandex.ru](mailto:novelle-i@yandex.ru)

***Литовский институт садоводства и овощеводства, LT-54333, Бабтай; [e-mail: P. Duchovskis@lsdi.lt](mailto:P.Duchovskis@lsdi.lt)

Исследовано влияние бутанола и толуола на секрецию лигнолитических ферментов грибом *Lentinus tigrinus* при глубинном культивировании. Показано, что внесение бутанола и толуола во время трофофазы приводит к повышению лакказной и пероксидазной активности культуры, а также изменению в составе фосфолипидов и жирных кислот. Происходит снижение доли фосфатидилхолина и фосфатидной кислоты и увеличение доли лизофосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, фосфоинозитидов, фосфатидилсерина и ненасыщенных жирных кислот и, как следствие, коэффициента ненасыщенности.

ПЕРВИЧНЫЙ И ВТОРИЧНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ХОЛОДОВОМ ЗАКАЛИВАНИИ И ДЕЙСТВИИ АНТИОКСИДАНТОВ

© 2008 г. Н.А.Олениченко*, Н.В.Загоскина*, Н.В.Астахова*, Т.И.Трунова*,
Ю.В.Кузнецов**

*Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН, Москва, 127276; [e-mail: phenolic@ippras.ru](mailto:phenolic@ippras.ru)

**Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН, Москва, 119991

Определяли содержание сахаров, фенольных соединений (в том числе флавоноидов и лигнина) и активность L-фенилаланинаммиак-лиазы (ФАЛ, КФ 4.3.1.5) в листьях и узлах кущения контрольных, закаленных и обработанных синтетическими антиоксидантами (амбиолом и амеролом 2000) растений озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сортов Инна и Московская 39, отличающихся уровнем морозостойкости. Показали, что холодное закаливание увеличивало накопление не только первичных, но и вторичных метаболитов в тканях, тогда как активность фермента снижалась. Обработка антиоксидантами также повышала содержание в растениях сахаров, фенольных соединений, преимущественно флавоноидов, а также активность ФАЛ. В большей степени эти изменения проявлялись у сорта Инна, характеризующегося меньшей морозостойкостью, чем сорт Московская 39.

ИММУНОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОНЪЮГИРОВАННЫХ АНТИГЕНОВ НА ОСНОВЕ N-ЗАМЕЩЕННЫХ ФЕНОТИАЗИНОВ И ДИБЕНЗАЗЕПИНОВ С АНТИАРИТМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

© 2008 г. А.А.Буркин, М.А.Буркин

*Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН,
Москва, 105064; e-mail: burma68@yandex.ru*

Использование в качестве гаптенов при синтезе конъюгированных антигенов метаболитов антиаритмических средств - этмозина, этацизина и боннекора позволило индуцировать образование антител с различной специфичностью в отношении конкретных метаболитов. Предложен иммуноферментный метод обнаружения производных фенотиазина и дибензазепина - этмозина, этацизина и боннекора, а также продемонстрирована возможность определения этих веществ в биологических жидкостях с чувствительностью на нано- и субнанограммовом уровне.

ВЛИЯНИЕ СТАРТОВЫХ КУЛЬТУР НА ОБРАЗОВАНИЕ ЛЕТУЧИХ СОЕДИНЕНИЙ В СЫРОКОПЧЕНЫХ КОЛБАСАХ

© 2008 г. Т.А.Мишарина*, М.Б.Теренина*, Н.И.Крикунова*, И.А.Ханхалаева**,
И.С.Хамагаева**, Л.Л.Никифорова**

**Институт биохимической физики им.Н.М.Эмануэля РАН, 119334. Москва; e-mail:
Tmish@rambler.ru*

***Восточно-Сибирский государственный технологический университет; 670042, Улан-Удэ*

Методом капиллярной газовой хроматографии изучены различия в составе летучих веществ в двух образцах сырокопченой колбасы, полученных с применением стандартной и опытной (смесь пропионовокислых и бифидобактерий) культур. Установлено, что использование опытной стартовой культуры приводило к интенсификации процессов ароматообразования по сравнению со стандартной. Опытный образец был богаче по качественному и количественному составу летучих веществ, обладал более интенсивным и приятным ароматом и вкусом. Содержание лактонов и летучих терпеноидов в опытном образце было намного выше, чем в контроле. Органолептические характеристики опытной сырокопченой колбасы были значительно выше.

ПОЛУЧЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ МОНОСАХАРИДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ХИТОЗАНА

© 2008 г. А.В.Ильина*, С.Н.Куликов*, Г.И.Чаленко**, Н.Г.Герасимова**,
В.П.Варламов*

**Центр "Биоинженерия" РАН, Москва, 117312; e-mail: varlamov@biengi.ac.ru*

***Институт биохимии им.А.Н.Баха РАН, Москва, 119071*

Исследована возможность получения моносахаридных производных низкомолекулярного хитозана с использованием реакции Майяра. Получены производные хитозана (М.м. 24 и 5 кДа) с глюкозамином, N-ацетил глюкозамином, галактозой и маннозой со степенью замещения 4—14% и выходом 60-80%. Изучены их физико-химические и биологические свойства. Показано, что моносахаридные производные низкомолекулярного хитозана

проявляли антибактериальную активность. При концентрации образцов хитозана 0.01% наблюдалась 100%-ная гибель бактерий *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli*. Наибольшим антибактериальным действием обладали образцы с М.м. 24 кДа. Количество выживших клеток составляло 0.02-0.08%. По своей эффективности они на два порядка превосходили самый активный образец хитозана с М.м. 5 кДа, модифицированный галактозой.