

СПОРЫ ГРИБОВ: ПОКОЙ, ПРОРАСТАНИЕ, ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИИ (ОБЗОР)

© 2012 г. Е. П. Феофилова*, А. А. Ивашечкин**, А. И. Алёхин***, Я. Э. Сергеева*

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

e-mail: biolog1@tigmil.ru

**Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, 119991

***Центральная клиническая больница РАН, Москва, 117593

Поступила в редакцию 31.03.2011 г.

Обзор посвящен одной из стадий онтогенеза, отличающейся особой устойчивостью к действию неблагоприятных факторов и способностью длительное время сохранять геномный материал — спорам грибов. Основная часть посвящена характеристике особого состояния, свойственного споре, и называемого покоем. Приводятся данные, характеризующие углеводный и липидный состав спор, основное внимание уделяется роли углеводных протекторов, в частности трегалозе и манниту, а также роли рафтов в процессе спорогенеза. Обсуждается роль специальных соединений, называемых аутоингибиторами и аутоингибиторами, в процессе выхода спор из состояния покоя. Заключительная часть посвящена роли спорового посевного материала в биотехнологических процессах. Рассматриваются данные о взаимосвязи химического состава спор с их способностью к сохранению покоя и процессом прорастания. Впервые приводятся специальные биотехнологические приемы, позволяющие путем воздействия на споровый материал, сохранять его всхожесть, интенсифицировать спорогенез, изменять соотношение конечных продуктов ферментации и увеличивать их выход.

ЦИКЛИЧЕСКАЯ ДИГЕННАЯ СИСТЕМА КАК УПРАВЛЯЮЩИЙ ЭЛЕМЕНТ БАКТЕРИАЛЬНОГО БИОСЕНСОРА

© 2012 г. Е. Э. Ступак, И. В. Ступак

Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, 450054,

e-mail: evgeniastupak@mail.ru

Поступила в редакцию 1.02.2011 г.

Протестирован штамм *Escherichia coli* JC158(pCIA12/pGFK5), несущий на плазмиде pCIA12 циклическую дигенную систему с отрицательными обратными связями, реагирующий на повреждение ДНК изменением уровня синтеза репортерных белков - GFP и β-галактозидазы. При концентрации ДНК-повреждающих веществ выше пороговых значений приобретенный фенотип наследуется в последующих поколениях после устранения генотоксического воздействия. Показана возможность использования данного бактериального биосенсора для мониторинга временного присутствия генотоксикантов в среде и тестирования последствий кратковременного воздействия токсических веществ.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА Мп-ПЕРОКСИДАЗЫ *Azospirillum brasilense* Sp245

© 2012 г. М. А. Купряшина, Н. Ю. Селиванов, В. Е. Никитина

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, 410049

e-mail: Kupryashina_m@mail.ru

Поступила в редакцию 14.02.2011 г.

Из культуральной жидкости *Azospirillum brasilense* Sp245, выращенной на среде с 0.1 мМ пирокатехином, выделена гомогенная Мп-пероксидаза со степенью очистки в 26 раз. По данным электрофореза в ПААГ с Na-ДДС молекулярная масса фермента ~43 кДа. Показано, что использование пирокатехина и 2,2'-азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоната) в концентрациях 0.1 и 1.0 мМ в качестве индукторов увеличивало активность Мп-пероксидазы в 3 раза.

ДЕТОКСИКАЦИЯ БАКТЕРИЯМИ ТРИНИТРОТОЛУОЛА В ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ

© 2012 г. И. П. Соляникова*, Б. П. Баскунов*, М. А. Бабошин*, А. И. Саралов**,
Л. А. Головлёва*

*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г. К. Скрябина РАН,
Пушино Московской обл. 142290

e-mail: Golovleva@IBPM.Pushchino.ru

**Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, 614081

Поступила в редакцию 07.06.2011 г.

Показана способность штаммов-деструкторов различных ароматических соединений утилизировать тринитротолуол (ТНТ) в концентрации до 70 мг/л. Увеличение концентрации ТНТ от 100 до 150 мг/л не ингибировало скорость конверсии этого соединения штаммом *Kocuria palustris* RS32. Штамм *Acinetobacter* sp. VT11 использовал ТНТ в качестве единственного субстрата для роста. Среди интермедиатов деградации ТНТ активными штаммами *Pseudomonas* sp. VT-7W и *Kocuria rosea* RS51 идентифицированы 3,5-динитро-4-метил-анилид уксусной кислоты и 2,6-динитро-4-аминотолуол. При деструкции ТНТ штаммами бактерий *Rhodococcus opacus* IG и *Rhodococcus* sp. VT-7 впервые обнаружен 4-метил-3,5-динитроформамид. Активные бактериальные штаммы при интродукции в почву осуществляли разложение ТНТ на 82—90%.

БИОДЕГРАДАЦИЯ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ ПОЧВЕННЫМИ МИКРОБИОЦЕНОЗАМИ РАЗЛИЧНОЙ СТРУКТУРЫ И ВЫЯВЛЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ

© 2012 г. А. Н. Бояндин*, С. В. Прудникова**, М. Л. Филипенко***, Е. А. Храпов***,
А. Д. Васильев****, Т. Г. Волова*

*Институт биофизики СО РАН, Красноярск, 660036

**Сибирский федеральный университет, Красноярск, 660041

***Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, 630090

****Институт физики им. Л. В. Киренского СО РАН, Красноярск, 660036

e-mail: ab@ibp.krasn.ru

Поступила в редакцию 7.04.2011 г.

Исследовано биоразрушение микробных линейных полимеров гидроксипроизводных алкановых кислот (полигидроксиалканоев, ПГА) почвенными микробиоценозами различной

структуры в течение двух полевых сезонов, отличающихся погодными условиями. Показано, что на этот процесс оказывают влияние химический состав полимера, температура, влажность и микробная составляющая почвы. В процессе разрушения ПГА зафиксировано падение молекулярной массы полимеров, повышение степени кристалличности, свидетельствующее о преимущественном разрушении аморфной фазы по сравнению с кристаллической. Численность истинных деструкторов ПГА, развивающихся на поверхности полимерных образцов, ниже численности сопутствующих бактерий. В качестве доминантных деструкторов ПГА в исследованных условиях определены бактерии родов *Variovorax*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus* и *Xanthomonas* и микромицеты — *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Acremonium*, *Verticillium* и *Zygosporium*.

DEGRADATION OF POLYISOPRENE RUBBER BY NEWLY ISOLATED

***Bacillus* sp. AF-666 FROM SOIL**

© 2012 **A. A. Shah, F. Hasan, Z. Shah, Mutiullah, and A. Hameed**

Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Quaid-i-Azam University, Islamabad 45320, Pakistan

e-mail: alishah_75@yahoo.com

Received December 24, 2010

Various microorganisms were screened for their ability to degrade polyisoprene rubber (natural rubber latex gloves). Strain AF-666, newly isolated from a soil sample, was selected as the best strain having the ability to grow on polyisoprene containing plates. The strain identified as *Bacillus* sp. AF-666, was found to degrade polyisoprene rubber, both on basal agar plates (latex overlay) as well as in liquid medium. Qualitative analysis of degradation was done through scanning electron microscopy (SEM) and Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. SEM showed changes in surface morphology, like appearance of pits and cracks, and marked difference in transmittance spectra of test and control due to changes in the functional groups, was detected through FTIR. CO₂ evolution as a result of rubber degradation, was calculated gravimetrically by Sturm Test. About 4.43 g/l of CO₂ was produced in case of test, whereas, 1.57 g/l in case of control. The viable number of cells (CFU/ml) was also higher in test than in control. Present study may provide an opportunity for further studies on the applications of biotechnological processes as a tool for rubber waste management.

ISOLATION, IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF FLUORIDE RESISTANT BACTERIA: POSSIBLE ROLE IN BIOREMEDIATION

© 2012 **S. Chouhan***, **U. Tuteja****, and **S.J.S. Flora***

**Division of Pharmacology and Toxicology, Defence Research and Development Establishment, Jhansi Road, Gwalior-474 002, India*

***Division of Microbiology, Defence Research and Development Establishment, Jhansi Road, Gwalior-474 002, India*

e-mail: address: sjsflora@hotmail.com;

sjsflora@drde.drdo.in

Received December 10, 2010

Microorganisms found in industrial effluents and near the sites of the contamination can be used to indicate pollution and detoxify the contaminated water resources. Emergence of xenobiotic resistant bacteria among them might be potential application in bioremediation. The objective of this study was to isolate and characterize fluoride resistant bacteria from soil and water samples of different regions of India. Five isolates were recovered from different samples which were found to be fluoride resistant. Two of them effectively reduced the fluoride from their media. Through the current study it

can be predicted that fluoride pollution results in selective pressure that leads to the development of fluoride resistant among bacterial populations, probably through the mechanism which involved high affinity anion binding compounds called ionophores. Resistant microbes may play a bioremediative role by transforming and concentrating these anions so that they are less available and less dangerous.

CHARACTERIZATION OF THE FUNGICIDAL ACTIVITY OF *Calothrix elenkinii* USING CHEMICAL METHODS AND MICROSCOPY

© 2012 C. Natarajan*, R. Prasanna*, V. Gupta*, P. Dureja**, and L. Nain*

*Division of Microbiology, Indian Agricultural Research Institute (IARI), New Delhi - 110012, India

**Division of Agricultural Chemicals, Indian Agricultural Research Institute (IARI), New Delhi - 110012, India

e-mail: radhapr@gmail.com

Received May 24.2011

An investigation was directed towards biochemical characterization of cyanobacterium *Calothrix elenkinii* and analysis of the chemical nature and mode of action of its fungicidal metabolite(s) against oomycete *Pythium debaryanum*. Biochemical characterization of the culture in terms of carbohydrate utilization revealed the facultative nature of *C. elenkinii*. Unique antibiotic markers were also found for this strain. 16S rDNA sequencing of the strain revealed 98% similarity with *Calothrix* sp. PCC7101. The fungicidal activity was tested by disc diffusion assay of different fractions of the culture filtrate. A minimum inhibitory concentration of 10 µl was recorded for ethyl acetate fraction of the 7-weeks old culture filtrates. HPLC, followed by NMR spectral analysis demonstrated the presence of a substituted benzoic acid in the ethyl acetate fraction. Microscopic examination revealed distinct granulation, followed by disintegration of the hyphae of *Pythium* sp., indicating the presence of an active metabolite in the culture filtrates of *Calothrix* sp. The fungicidal activity of *C. elenkinii* can be attributed to the presence of 3-acetyl-2-hydroxy-6-methoxy-4-methyl benzoic acid. This is the first report of a benzoic acid derivative having fungicidal activity in cyanobacteria.

ПОЛУЧЕНИЕ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ШТАММОВ *Penicillium canescens* С ВЫСОКОЙ СПОСОБНОСТЬЮ К ГИДРОЛИЗУ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

© 2012 г. П. В. Волков*, А. М. Рожкова*, А. Г. Правильников*, Р. М. Андрианов*, Г. С. Доценко**, А. О. Беккаревич***, А. В. Кошелев***, О. Н. Окунев***, И. Н. Зоров*, А. П. Сеницын**

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

e-mail: inbi@inbi.ras.ru

**Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, химический факультет, Москва, 119999

e-mail: info@rector.msu.ru

***Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущине, 142290,

Поступила в редакцию 11.03.2011 г.

Получены ферментные препараты на основе рекомбинантных штаммов *Penicillium canescens*, обладающие активностью целлюбогидролазы I, II, эндо-1,4-β-глюканазы *Penicillium verruculosum* и β-глюкозидазы *Aspergillus niger*. Показано, что для наиболее эффективного гидролиза измельченной осиновой древесины оптимальным соотношением ферментных препаратов целлюбогидролазы и эндо-1,4-β-глюканазы является 8:2 (по белку). Установлено также, что необходимым компонентом ферментного комплекса для гидролиза гемицеллюлозной матрицы осиновой древесины является гомологичная ксиланаза, секретируемая грибом *Penicillium canescens*.

**РАЗВЕТВЛЕННЫЙ ГЛЮКАН ПЛОДОВЫХ ТЕЛ *Piptoporus betulinus*
(Bull.:Fr.) Karst.**

© 2012 г. Д. Н. Олейников*, С. В. Агафонова**, А. В. Рохин***, Т. А. Пензина**,
Г. Б. Боровский**

*Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, 670047;
e-mail: oldaniil@rambler.ru

**Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, 664033

***Иркутский государственный университет, Иркутск, 664033

Поступила в редакцию 17.01.2011 г.

Из плодовых тел *Piptoporus betulinus* (Bull.:Fr.) Karst. (сем. Fomitopsidaceae) был выделен новый глюкан - пиптопоран I с молекулярной массой 270 кДа. С применением комплекса физико-химических методов установлено, что пиптопоран I представляет собой разветвленный глюкан, основная цепь которого построена из остатков α -(1 → 3)-глюкопиранозы, замещенной на 17.3% по положению C-6 единичными остатками β -D-глюкопиранозы. Полисахарид с подобным строением выделен впервые из грибов рода *Piptoporus*.

**ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ
МИКРОМИЦЕТОВ В СОСТАВЕ ЛИШАЙНИКОВЫХ ВЕЩЕСТВ**

© 2012 г. Г. П. Кононенко*, А. А. Буркин*, Т. Ю. Толпышева**

*Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН,
Москва, 123022

e-mail: kononenkogp@mail.ru

**Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, 119992

Поступила в редакцию 22.02.2011 г.

В слоевищах кустистых лишайников родов *Cladonia*, *Cetraria*, *Evernia*, *Bryoria* и *Usnea* исследован состав низкомолекулярных биологически активных метаболитов, свойственных микроскопическим грибам. Методом иммуноферментного анализа установлено присутствие стеригматоцистина, эмолина, микофеноловой кислоты, цитринина, альтернариола и диацетоксисцирпенола, которые встречались регулярно и в большинстве случаев с частотой от 55 до 100%. Наибольшие уровни накопления эмолина составляли 0.001—0.003%, альтернариола и цитринина — 0.0002%, стеригматоцистина, микофеноловой кислоты — 0.0001%, а диацетоксисцирпенола — 0.00005% от массы воздушно-сухого материала. Другие метаболиты (циклопиазоновая кислота, эргоалкалоиды, охратоксин А, PR-токсин, дезоксиниваленон, зеараленон, фумонизины) обнаруживались у этих лишайников реже, в ряде случаев только при расширении территории сбора образцов, и их содержание не превышало 0.00005%. Обсуждены особенности компонентного состава и уровни накопления грибных метаболитов в лишайниках разной таксономической принадлежности.

ЛИПОКСИГЕНАЗА ЛИСТЬЕВ ПШЕНИЦЫ, ВЫРАЩЕННОЙ В УСЛОВИЯХ РАЗНОГО ВОДООБЕСПЕЧЕНИЯ

© 2012 г. М. Д. Пермякова*, А. В. Пермяков*, С. В. Осипова*, Т. А. Пшеничникова**

*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, 664033

e-mail: gluten@siflbr.irk.ru

**Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, 630090

e-mail: wheatpsh@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 25.01.2011 г.

Исследована липоксигеназа (ЛОГ) в белковых фракциях, выделенных из листьев замещенных линий пшеницы. Были обнаружены 3 молекулярные формы фермента. Водный дефицит вызывал индукцию мембраносвязанной формы (мЛОГ) и приводил к уменьшению активности «растворимых» ферментов (р1ЛОГ) и (р2ЛОГ) у большинства генотипов. Корреляционный анализ показал зависимость между уровнем ферментативной активности и индексами устойчивости к засухе. Генетический контроль активности р1ЛОГ и р2ЛОГ при оптимальном водообеспечении был связан с хромосомами 1А, 1D, 3А, 5А, 5В и 5D, а в условиях смоделированной почвенной засухи — с хромосомами 1В и 1D.

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ СРЕДЫ НА ГЕНЕРАЦИЮ ОКСИДА АЗОТА (NO) В КОРНЯХ ЭТИОЛИРОВАННЫХ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА

© 2012 г. А. К. Глянко, Н. Б. Митанова, А. В. Степанов

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, 664033

e-mail: akglyanko@siflbr.irk.ru

Поступила в редакцию 12.01.2011 г.

Изучен уровень оксида азота (NO) в корнях этиолированных проростков гороха посевного (*Pisum sativum* L.) с помощью флуоресцентного зонда ДАФ-2ДА и флуоресцентной микроскопии. Анализированы поперечные срезы корня толщиной 100-150 мкм (участок корня 10-15 мм от апекса). Показано, что уровень NO в корнях через 24 ч увеличивался более чем в 2 раза в вариантах с NaNO₂ и нитропруссидом натрия. При подкормке проростков KNO₃ пик в накоплении NO в корнях (увеличение в 2 раза) наблюдался через 30 мин. Подкормка проростков L-аргинином (2 мМ) увеличивала интенсивность флуоресценции срезов корней более чем в 2 раза. Инокуляция проростков клубеньковыми бактериями (*Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*) способствовала снижению содержания NO на фоне контроля (H₂O), нитропруссидом натрия и азотных соединений. Ловушки (скавенджеры) NO (2-фенил-4,4,5,5-тетраметилимидазолин-1-оксил 3-оксид - ФТИО, гемоглобин) и ингибиторы нитратредуктазы и животной NO-синтазы (вольфрамат натрия, аминоксидин гидрохлорид) снижали уровень в корнях. Результаты обсуждаются в связи с ролью NO в растениях при действии биотических и абиотических факторов.

УЧАСТИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И ОКСИДА АЗОТА В ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЯХ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

© 2012 г. И. Р. Гильванова, А. Р. Еникеев, С. Ю. Степанов, З. Ф. Рахманкулова

Башкирский государственный университет, биологический факультет, Уфа, 450074

e-mail: Zulfirar@mail.ru

Поступила в редакцию 11.01.2011 г.

Изучено влияние салициловой кислоты (СК) и оксида азота (NO) на растения пшеницы *Triticum aestivum* L., подвергнутых воздействию повышенной концентрации соединений меди и цинка. Показано, что тяжелые металлы (ТМ) вызывали снижение ростовых параметров в надземных и подземных частях растений, способствовали резкому ухудшению энергетического баланса и возникновению состояния окислительного стресса. СК и NO оказывали защитный эффект, который выражался в повышении способности к накоплению массы побега и корня растений, стабилизации энергетического баланса и уменьшении перекисного окисления липидов. Выявлено сходство в защитных реакциях растений пшеницы при действии СК и NO, которое проявилось в аналогичном изменении энергетического ($D_{\text{сум}}/\Phi_{\text{ист}}$ и альтернативное дыхание) и антиоксидантного (МДА) баланса исследуемых растений. Это сходство, возможно, свидетельствует об общем сигнальном пути для СК и NO при действии токсических концентраций ТМ.

ЭЛИСИТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ХИТОЗАНА И АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ: СХОДСТВО И РАЗЛИЧИЕ

© 2012 г. Н. И. Васюкова, Н. Г. Герасимова, Г. И. Чаленко, О. Л. Озерецковская

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН

e-mail: vasyukova@inbi.ras.ru

Поступила в редакцию 19.04.2011 г.

Элиситоры, хитозан и арахидоновая кислота, индуцировали однотипные защитные ответы у клубней картофеля, стимулируя процессы раневой репарации, а также вызывая образование фитоалексинов, ингибиторов протеиназ и активных форм кислорода. Однако хитозан индуцировал защитный потенциал растительных тканей в концентрациях на порядок больших, чем арахидоновая кислота. Защитное действие хитозана определялось двумя параметрами: способностью индуцировать иммунные ответы в тканях растений и оказывать токсическое действие на развитие патогенов, вызывающих фитофтороз и фузариоз, тогда как элиситорный эффект арахидоновой кислоты зависел только от ее способности вызывать защитный потенциал в растительных тканях.

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА СМЕСЕЙ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ НА ИХ АНТИОКСИДАНТНЫЕ И АНТИРАДИКАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА

© 2012 г. Т. А. Мишарина, Е. С. Алинкина, Л. Д. Фаткуллина, А. К. Воробьёва, И. Б. Медведева, Е. Б. Бурлакова

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва 119334

e-mail: tmish@rambler.ru

Поступила в редакцию 28.04.2011 г.

Изучены и сопоставлены антирадикальные и антиоксидантные свойства смесей эфирных масел различного состава в модельных системах автоокисления гексаналя, термического окисления метиллинолеата и β -каротина, а также в реакции со стабильным радикалом дифенилпикрилгидразилом. Установлено, что все изученные композиции эфирных масел обладали антирадикальной активностью. Самая высокая антирадикальная активность обнаружена для смеси эфирных масел, основными компонентами которой были монотерпеновые углеводороды, содержание фенолов было незначительным. Антиоксидантная активность всех смесей эфирных масел варьировала от 60 до 98% и зависела от состава модельной системы и метода определения. В системе автоокисления гексаналя самую высокую активность имела смесь с максимальным содержанием фенолов. В модельной системе с β -каротином наиболее эффективными антиоксидантами были смеси масел с высоким содержанием фенолов и α - и γ -терпиненов. Проведенные исследования подтвердили возможность варьирования антиоксидантных и антирадикальных свойств эфирных масел путем составления их композиций определенного состава.