

ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ХИЩНЫХ НЕМАТОФАГОВЫХ ГРИБОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВ АПСХЕРОНА

A STUDY OF LIPOLYTIC ACTIVITY OF PREDATORY NEMATOPHAGOUS FUNGI ISOLATED FROM THE SOILS OF ABSHERON

**I. Babayeva
L. Aliyeva
V. Isayeva
A. Mamedova**

Summary. Lipolytic activity of nematophagous predatory fungi have been studied. It was revealed that the active fungal strains *Arthrobotrys longa* EM-1 and *Arthrobotrys musiformis* SQ2, selected as a result of screening, have almost identical exolipase activity. The adding of soybean flour to the medium at a concentration of 2 % significantly increases the exo- and endolipolytic activity of the studied fungi.

Keywords: exolipase, endolipase, lipolytic activity, *Arthrobotrys longa* EM-1, *Arthrobotrys musiformis* SQ2.

Бабаева Ирада Халид кызы

доктор философии по биологии, доцент,
зав. лабораторией Института Микробиологии
Министерства Науки и Образования
Азербайджана, г. Баку
babayevairada@mail.ru

Алиева Лала Ариф кызы

доктор философии по биологии, старший научный
сотрудник Института Микробиологии Министерства
Науки и Образования Азербайджана, г. Баку
lalaalieva75@mail.ru

Исаева Вусаля Камаледдин кызы

доктор философии по биологии, старший научный
сотрудник Института Микробиологии Министерства
Науки и Образования Азербайджана, г. Баку
isayevavusale33@gmail.com

Мамедова Асмар Эльман кызы

докторант, младший научный сотрудник Института
Микробиологии Министерства Науки и Образования
Азербайджана, г. Баку
esmer_mammadova90@mail.ru

Аннотация. В проведенном исследовании изучена липолитическая активность нематофаговых хищных грибов. Выявлено, что отобранные в результате скрининга активные штаммы грибов *Arthrobotrys longa* EM-1 и *Arthrobotrys musiformis* SQ2 обладают почти одинаковой активностью экзолипазы. Введение в среду соевой муки в концентрации 2 % значительно увеличивает экзо- и эндолиполитическую активность исследуемых грибов.

Ключевые слова: экзолипаза, эндолипаза, липолитическая активность, *Arthrobotrys longa* EM-1, *Arthrobotrys musiformis* SQ2.

Нематофаговые хищные грибы являются широко распространенной группой почвенных мицелиальных грибов и составляют особую экологическую нишу. От сапрофитов, обитающих на растительных и животных остатках, эти грибы отличаются образом жизни, заключающимся в улавливании свободноживущих микроскопических нематод, умерщвлении их, а затем использовании содержимого тела (9, 11).

Как известно, хищные грибы обильно развиваются в условиях чистой культуры на различных углеводных и белково-углеводных естественных и синтетических средах. Однако, в отличие от почвы на этих средах способности их формировать ловчие аппараты либо отсутствуют, либо сильно снижаются. При культивировании же на бедных средах или даже в дистиллированной воде в присутствии нематод, все представители нематофа-

говых хищных грибов независимо от видовой принадлежности нематод удовлетворяют свои потребности в необходимых для их жизнедеятельности органических источниках питания, т.е. удовлетворительно растут, обильно спорносятся и формируют ловчие аппараты. Несомненно, что для использования нематоды в качестве питательного субстрата хищные грибы обладают ферментной системой, способную утилизировать ее содержимое (4, 12).

Способность хищных грибов синтезировать комплекс гидролитических ферментов была установлена рядом исследователей (5, 6).

Известно, что в теле нематоды в качестве запасных веществ вокруг кишки накапливаются жировые гранулы. Последние, как и другие органические вещества полно-

стью используются ассимилятивными гифами грибов, пронизывающими все тело нематоды после их улавливания. Для выяснения способности хищных грибов утилизировать жировые гранулы, накапливающиеся в теле нематоды в виде запасных веществ, настоятельно требуется изучение наличия ферментов, гидролизующих жиры и жироподобные продукты. Вопрос о способности хищных грибов синтезировать липолитические ферменты-липазы малоизучен, особенно в Азербайджане (4).

Надо отметить, что изучение липолитической активности хищных грибов представляет интерес поскольку в отличие от других мицелиальных грибов, питающихся растительными субстратами, эти грибы используют для питания субстраты животного происхождения.

Кроме того, благодаря своим свойствам липазы находят широкое практическое применение при решении многих задач в промышленности и здравоохранении. Принимая во внимание, что микробные ферменты обладают большим преимуществом по сравнению с ферментами растительного и животного происхождения, всё ещё продолжается поиск высокоэффективных продуцентов этих ферментов среди микроорганизмов (2, 7, 8, 10).

Учитывая вышесказанное целью представленной работы явилось изучение липолитической активности хищных гифомицетов, выделенных из почв Апшерона.

Материалы и методы

Изучение липолитической активности проводилось на грибах, выделенных нами ранее из почв Апшерона согласно методу Сопрунова Ф.Ф. [7]. Исследуемые грибные штаммы принадлежат к 2 родам нематофаговых хищных грибов *Arthrobotrys* и *Golovinia*: *Arthrobotrys musiformis* SQ2, *Arthrobotrys musiformis* SQ3, *Arthrobotrys oligospora* EM-1, *Arthrobotrys oligospora* EM-2, *Arthrobotrys oligospora* EM-3, *Arthrobotrys oligospora* EM-4, *Arthrobotrys oligospora* EM-5, *Arthrobotrys longa* EM-1, *Arthrobotrys longa* EM-2, *Arthrobotrys apsheronica* EM-1, *Arthrobotrys apsheronica* EM-2, *Arthrobotrys apsheronica* EM-3, *Arthrobotrys apsheronica* EM-4, *Golovinia appendiculata* EM-1, *Golovinia appendiculata* EM-2.

Предварительный отбор продуцентов липазы у исследуемых хищных грибов был проведен чашечным методом. В качестве субстрата использовали трибутирин или говяжий жир. Исследуемые грибы выращивали на среде Чапека или сусло-агаре 5° Б. Образованные ими липазы обнаруживали на смеси 2 % трибутирина, внесенного в охлажденный до 40°C агар, приготовленный на фосфатном буфере со значениями pH 4, 5, 6, 7, 8. Чашки выдерживали в термостате при 37°C 24 часа. О наличии экзоплазмы судили по прозрачным зонам вокруг лунок.

Во второй серии опытов на поверхность агаризованного трибутирина уколом высевали исследуемые грибы. Чашки инкубировали в термостате при температуре 26–28°C в течение 7-ми суток. Наличие просветления вокруг зоны роста свидетельствовало о наличии липазы у гриба (1, 4). Однако, как показали опыты чашечный метод позволяет говорить лишь о наличии или отсутствии липолитических ферментов и не дает представление о степени активности штаммов. В связи с этим отбор продуцентов липаз проводили с помощью количественного метода оценки ферментативной активности. С этой целью в качестве теста брали оливковое масло, являющееся общепринятым субстратом для определения липаз. На активность анализировалась как культуральная жидкость, так и водная вытяжка из мицелия исследуемых штаммов. Количественная оценка липолитической активности определялась титрометрическим методом Ото и Ямады (3). В качестве питательных сред для оценки липолитической активности использовались среды Чапека (I), сусло 50 Б(II), среда Мейзе (III) в составе: глюкоза — 30, крахмал — 4, пептон — 2, KH_2PO_4 — 1, MgSO_4 — 0,5, KCl — 1,2 г/л, глицерин — 10 мл, FeSO_4 — следы.

Полученные результаты и их обсуждение

В результате проведенного скрининга было выявлено, что хищные грибы в той или иной степени обладают липолитической активностью, которая различается как в пределах родов, так и штаммов. Наиболее активными оказались представители рода *Arthrobotrys*. Выраженная липолитическая активность была отмечена у двух штаммов рода *Arthrobotrys* — *Arthrobotrys musiformis* SQ2 и *Arthrobotrys longa* EM-1. А у штаммов рода *Golovinia* способность продуцировать липолитические ферменты не была отмечена.

Так как по предварительным результатам отбора более активными оказались два штамма рода *Arthrobotrys* — *Arthrobotrys musiformis* SQ2 и *Arthrobotrys longa* EM-1, то дальнейшие исследования были проведены именно с ними.

Следует отметить, что при изучении липолитической активности большое значение имеют условия развития микроорганизма, среди которых важную роль играет состав питательной среды, обеспечивающей высокий выход фермента. Учитывая вышесказанное, изучение способности исследуемых грибов *Arthrobotrys musiformis* SQ2 и *Arthrobotrys longa* EM-1 к образованию липаз проводилось на различных по составу средах: среда Чапека (I), среда Чапека + соевая мука (I+ соевая мука), сусло 5° Б (II), среда Мейзе (III) (таблица 2).

Из приведенных в таблице №2 данных следует, что основная масса фермента находится в культуральной жидкости, липазная активность мицелия у этих была

Таблица 1.
Отбор продуцентов липолитических ферментов
диффузионным методом

Штаммы грибов	Липолитическая активность
<i>Arthrobotrys musiformis</i> SQ2	+++
<i>Arthrobotrys musiformis</i> SQ3	++
<i>Arthrobotrys oligospora</i> EM-1	–
<i>Arthrobotrys oligospora</i> EM-2	+
<i>Arthrobotrys oligospora</i> EM-3	–
<i>Arthrobotrys oligospora</i> EM-4	+
<i>Arthrobotrys oligospora</i> EM-5	–
<i>Arthrobotrys longa</i> EM-1	+++
<i>Arthrobotrys longa</i> EM-2	+
<i>Arthrobotrys apsheronica</i> EM-1	+
<i>Arthrobotrys apsheronica</i> EM-2	–
<i>Arthrobotrys apsheronica</i> EM-3	–
<i>Arthrobotrys apsheronica</i> EM-4	+
<i>Golovinia appendiculata</i> EM-1	–
<i>Golovinia appendiculata</i> EM-2	–

Примечание: (–) — нет активности, (+++++) — наибольшая активность

очень низкой. Поэтому в дальнейшей работе целесообразно изучать липолитическую активность грибов

в культуральной жидкости. Как видно из полученных результатов исследуемые штаммы грибов *Arthrobotrys longa* EM-1 и *Arthrobotrys musiformis* SQ2 обладают почти одинаковой активностью экзолипазы.

Таблица 2.
Оценка липолитической активности исследуемых грибов

Среды	Липолитическая активность			
	<i>Arthrobotrys musiformis</i> SQ2		<i>Arthrobotrys longa</i> EM-1	
	КЖ	ВМ	КЖ	ВМ
Чапек	0	0	0,5	0
Чапек+соевая мука	1,5	0,4	1,55	0,5
Сусло 5 ⁰ Б	1,0	0,2	1,0	0,4
Мейзе	0,5	0,1	0,3	0

Так, активность липазы выше на средах, богатых органическими веществами. Введение в среду соевой муки в концентрации 2 % значительно увеличивает экзо— и эндолиполитическую активность исследуемых грибов.

Таким образом, хотя исследуемые грибы и обладают некоторой липолитической активностью, но для рассмотрения их в качестве перспективных штаммов-продуцентов липазы необходимо изучить влияние индукторов, повышающих их биосинтетическую активность.

ЛИТЕРАТУРА

- Альмяшева Н.Р. Продукция липолитических ферментов ксилотрофными грибами отдела Basidiomycetes // Антибиотики и химиотерапия, 2018, 63, №1-2, с. 8–13.
- Глухова Л.Б. и др. Изучение липолитической активности и способности к биоконверсии жиромассы у микромицетов, выделенных из жиродержащих отходов пищевой промышленности // Биотехнология, 2022, Т. 38, № 5. С. 25–33.
- Демьянцева Е.Ю., Копнина Р.А. Ферментативный катализ в ЦПБ: учебно-методическое пособие /СПбГТУРП.СПб., 2014, 47 с.
- Касумова С.Ю. Значение липолитических ферментов в формировании экологических особенностей нематофаговых хищных грибов. Дисс. на соиск. ученой степени канд. биол. наук, 1989, 108 с.
- Касумова С.Ю., Намазов Н.Р., Гасанов Х.А., Мурадов П.З. Изучение образования протеолитических ферментов у хищных грибов // географическая среда и живые системы, 2005, №4, с. 102–105.
- Шаркова Т.С. и др. Скрининг продуцентов протеиназ с фибринолитической и коллагенолитической активностями среди микромицетов // Микробиология, 2015, том 84, № 3, с. 316–322.
- Bakshaliyeva K.F., Ahmedli A.A., Seyidova G.M. Evaluation of Micromycetes isolated from oil-contaminated soils for lipolytic activity // Advanced Studies in Biology, V.15, 2023, №1, 129–135. <https://doi.org/10.12988/asb.2023.91697>
- Gómez-Vázquez E. et al. Molecular identification and lipolytic potential of filamentous fungi isolated from residual cooking oil. //Biodiversity Data Journal (2024). <https://doi.org/10.3897/BDJ.12.e113698>
- Hussain M, Zouhar M, Rysánek P. Effects of nematophagous fungi on viability of eggs and juveniles of *Meloidogyne incognita*. J Anim. Plant. Sci. 2017; 27(1): 252–258.
- Oliveira F. et al. Optimization of lipase production by solid-state fermentation of olive pomace: from flask to laboratory-scale packedbed bioreactor. Bioprocess Biosyst Eng. 2017, 40:1123–1132. DOI 10.1007/s00449-017-1774-2.
- Soliman MS. et al. Suppression of root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato plants using the nematode trapping fungus *Arthrobotrysoligospora* Fresenius. // J Appl Microbiol., 2021, V.131(5), p.2402–2415. <https://doi.org/10.1111/jam.15101>.
- Yang J., Tian B., Liang L., Zhang K.-Q. Extracellular enzymes and the pathogenesis of nematophagous fungi // Appl. Microbiol. Biotechnol, 2007, 75:21–31.

© Бабаева Ирада Халид кызы (babayevairada@mail.ru); Алиева Лала Ариф кызы (lalaaliyeva75@mail.ru);

Исаева Вусалы Камаледдин кызы (isayevavusale33@gmail.com); Мамедова Асмар Эльман кызы (esmer_mammadova90@mail.ru)

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»