

ИЗУЧЕНИЕ ЦЕЛЛЮЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ТЕРМИТОВ ПО ДЕГРАДАЦИИ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Рахимов М.М.

Адылбаева О.А.

Ташкентский государственный технический университет

Термиты (Isoptera) — одни из наиболее эффективных разрушителей лигноцеллюлозной биомассы в природе. Несмотря на их репутацию вредителей, способных наносить ущерб деревянным конструкциям, термиты играют ключевую роль в экосистемах, способствуя разложению растительных остатков и возвращению питательных веществ в почву. Их способность переваривать трудно расщепляемые компоненты растительных клеточных стенок, такие как целлюлоза, гемицеллюлоза и лигнин, обусловлена наличием уникальной ферментативной системы, функционирующей в симбиозе с разнообразной микрофлорой кишечника. Среди многочисленного и бесконечно разнообразного мира насекомых термиты (Isoptera) занимают особое место. Их значение для биосферных процессов определяется следующими обстоятельствами. Во-первых, этот отряд, хотя и не самый многочисленный по числу видов, но один из самых многочисленных по числу особей, имеющий экстремально большую биомассу. Во-вторых, это один из немногих таксонов, который на протяжении многих лет непрерывно наращивает свою численность и расширяет ареал обитания, вторгаясь в урбанизированные биоценозы и агроценозы. В-третьих, они имеют исключительное негативное значение для человечества, так как разрушают деревянные постройки.

В двух пробирках суспензировали по 50 мг окрашенного субстрата в 4 мл 0,1 М ацетатного буфера (pH=4,5) при 40⁰C, перемешивая на магнитной мешалке 5 мин. Затем в одну пробирку добавляли 0,1 мл раствора, содержащего 2-6 мг ферментного препарата, продолжая перемешивать. В другую пробирку также добавляли 0,1 мл указанного раствора ферментного препарата, и содержимое быстро пропускали через фильтр (контроль). Через 20 мин. реакционную смесь в первой пробирке пропускали через фильтр и определяли оптическую плотность фильтрата при длине волны 490 нм для ОЦ-31 и 375 нм для НОЦ-ОХ против контрольной пробы.

Оптическую плотность гидролизатов измеряли на спектрофотометре «Spekol-II» (ГДР). Целлюлазную активность определяли по результатам трех параллельных измерений согласно формуле:

$$A \text{ (усл. ед./г)} = \frac{D \cdot 1000}{M};$$

где D -оптическая плотность гидролизата, M -масса ферментного препарата, взятого для анализа.

За условную единицу активности принимали активность такого количества фермента, которая образует 1 ед. оптической плотности при 500, 490, 410 или 375 нм (в зависимости от типа красителя) за 20 мин.

Термиты играют важную роль в деградации целлюлозных материалов в природе, и особое внимание уделяется активности и экспрессии термитных целлюлаз [2]. Эффективное переваривание целлюлозы у термитов требует как эндогенных, так и кишечных микробных целлюлаз. Настоящее исследование показало, что грудная и брюшной часть является основным местом переваривания целлюлозы у термитов, что согласуется с сообщением.

Мы провели сравнительное определение активности из трех отделов тела термитов сырых ферментов по отношению к фильтровальной бумаги, которую определяли по образованию глюкозы и восстанавливающих сахаров методом Шомоди – Нельсона [6]. За единицу активности принимали количество фермента, которое приводит к образованию 1 мкМ ВС за 1 мин из соответствующего субстрата. На таблице 1 и рисунке 1 представлены результаты этих экспериментов, из которых видно, что наиболее активной оказалась, образцы грудно-брюшной части тела термитов.

Таблица 1. Полная целлюлазная активность разных частей тела у испытуемых рабочих-термитов.

№	Части тел термитов	После 1 часа	48 часов	72 часов
1	Термит	7,4	3,9	3,2
2	Головная отдел термита	4,7	4,2	4,2
3	Грудной и брюшной отдел термита	10,5	10	9,5

Полученные данные показывают что (Рис. 1.) полученные суспензии от разных мест тело термитов после фильтрование наибольшее гидролизуют целлюлозу в виде фильтровальной бумаги, чем суспензии без фильтрованием это тоже доказывают что имеющие разных веществ в составе субстрата отрицательно влияет на биодеградацию образцов целлюлозы (в виде фильтровальной бумаги).

Литература

1. Correlation of cellulase gene expression and cellulolytic activity throughout the gut of the termite *Reticulitermes flavipes*. Nakashima *et al.* 2002; Tokuda *et al.* 2007; Zhou *et al.* 2007
2. Watanabe H. & G. Tokuda 2010. Cellulolytic systems in insects. Annual review of entomology. 55: 609-632.
3. Willis J.D., C. Oppert, J.L. Jurat-Fuentes 2010. Methods for discovery and characterization of cellulolytic enzymes from insects. Insect Science 17(3): 184-198.
4. Tokuda G., N. Lo, H. Watanabe 2005. Marked variations in patterns of cellulase activity against crystalline- vs. carboxymethyl-cellulose in the digestive systems of diverse, woodfeeding termites. Physiological Entomology 30(4): 372-380.
5. Tokuda G., Lo N., Watanabe H., Arakawa G., Matsumoto T., Noda H. 2004. Major alteration of the expression site of endogenous cellulases in members of an apical termite lineage. Molecular Ecology 13(10): 3219-3228.
6. Nelson M.I., Kelsey R.G., Shafizaden F. Enhancement enzymatic hydrolyses by Simultaneous attrition of cellulosed Substrates. // Bio-technol and Bioeng, 1982, vol 24, p 293-294ю Малыкин В.К.ю Мазур Т.М., Бершова и др.
7. Lo N., G. Tokuda, H. Watanabe 2011. Evolution and function of endogenous termite cellulases. In: D.E. Bignell et al. (eds.), Biology of Termites: a modern synthesis, pp.51- 67. Springer Science+Business Media, London New York.