

УДК 640

**ОЦЕНКА РИБОНУКЛЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ КОЛЛЕКЦИИ ЭНДОФИТНЫХ
МИКРООРГАНИЗМОВ**

Е.Р. Сарварова, Е.А. Черепанова, Р.М. Хайруллин, И.В. Максимов

¹Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение «Уфимский федеральный исследовательский центр» РАН, Уфа, Россия

Вирусные инфекции вызывают значительное снижение урожайности сельскохозяйственных культур. К сожалению, на современном этапе отсутствуют эффективные и экологически безопасные средства борьбы с вирусными болезнями. Одним из перспективных способов защиты растений от вирусов могут быть биопрепараты на основе живых микроорганизмов, которые вырабатывают широкий спектр ферментов, например внеклеточные рибонуклеазы [1], противовирусное действие которых давно известно [2]. На основе генов внеклеточных рибонуклеаз бактерий рода *Bacillus* созданы трансгенные растения картофеля, рапса и табака, проявившие высокий уровень вирусостойчивости [3]. В малых дозах бациллярные РНКазы оказывают стимулирующее действие на рост и физиологическую активность растений [4]. Штаммы вирусов картофеля Х и М, подвергшиеся обработке бациллярными РНКазами *in vitro* теряют способность к инфицированию [5].

Соответственно, поиск среди природных изолятов микроорганизмов, в особенности эндофитной природы, может пополнить арсенал биопрепаратов новыми штаммами, характеризующимися антивирусной активностью.

Основываясь на поставленной цели, нами проведен скрининг РНКазной активности коллекционных образцов эндофитных бактерий из лаборатории биохимии иммунитета растений ИБГ УФИЦ РАН (<http://ibg.anrb.ru/nauchnaya-deyatelnost/bioresyrs/kollekciya-simbioticheskix-mikroorganizmov/>). Оценка РНКазной активности изолятов и депонированных штаммов микроорганизмов проводили на чашках Петри с добавлением в питательную среду Luria Bertani коммерческой дрожжевой РНК (Sigma, США). Активность РНКазы определяли по формированию зоны гало вокруг бактериальной колонии. Кроме того, образцы выращивали на жидкой среде LB для последующей оценки активности РНКаз спектрофотометрически. Всего оценено 130 изолятов, среди которых 35 штаммов рода *Bacillus*, 8 – рода *Pseudomonas*, 63 – рода *Enterobacter*, 25 – находятся на стадии идентификации.

Выявлено, что ряд коллекционных линий, относящихся к родам *Pseudomonas* и *Enterobacter* не обладала РНКазной активностью. С другой стороны, практически все представители рода *Bacillus* вырабатывали в среду культивирования РНКазу. Средний размер гало при культивировании на твердой среде LB в мм: от 1 до 13 мм. Оценка содержания РНКаз в культуральном фильтрате показала, что штаммы бактерии *Bacillus*, хотя и вырабатывали этот фермент, но активность его варьировала от 2 до 6 ед./мг белка. Из наиболее лучших продуцентов РНКаз следует остановиться на коллекционном штамме *B. thuringiensis* (до 6 ед. / мг белка) и коммерческом штамме – *B. subtilis* 26Д, основы препарата Фитоспорин, (до 3.8 ед. /мг белка). Штаммы с высокой РНКазной активностью могут представлять интерес для создания противовирусных биопрепаратов для защиты растений от вирусных болезней.

Работа выполнена в рамках совместного международного гранта РНФ и Департамента науки и техники (DST) правительства Индии № 19-46-02004.

ЛИТЕРАТУРА

1. Знаменская Л.В., Скворцова М.А., Каюмов А.Р., Новые секретируемые рибонуклеазы из *Bacillus subtilis* и *Bacillus intermedius*. // Вестник нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2001. № 1. С. 60–65.
2. Hartley R.W. Barnase and Barstare // Ribonucleases: structures and Functions / Ed by G. D'Alessio and J.F. Riordan. Academic Press, 1997. P. 51–100.
3. Колпаков А.И., Куприянова-Ашина Ф.Г., Лещинская И.Б. Зависимость влияния РНКазы *Bacillus intermedius* на рост пекарских дрожжей от концентрации экзогенного фермента // Микробиология. 2000. Т. 69. С. 478–482.
4. Kurinenko B.M., Bulgakova R. Sh., Davydov R.E. Effect of ribonuclease from *Bacillus intermedius* on human blood lymphocytes // FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1998. V. 21. P. 117–122.
5. Reifman G.V. The enzymatic activity in the leaves of plants affected by viruses and the therapeutic action ribonuclease. Selskokhozyaistvennaya Biol., 1979, vol. 14, no. 2, pp. 217–219.