

А.К. Калиева<sup>1\*</sup>, Р.К. Блиева<sup>2</sup>, Г.Б. Адманова<sup>1</sup>, Б. Бақытжанқызы<sup>1</sup>, Н.К. Кемалова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>К. Жұбанов атындағы Ақтөбе өңірлік университеті, Қазақстан;  
<sup>2</sup>«Антиген» Ғылыми-өндірістік кәсіпорыны ЖШС, Алматы, Қазақстан  
\*Хат-хабарларға арналған автор: aigul\_03@mail.ru

## Пектинлиаза ферменттерін түзуші *Penicillium cyclopium* штамының биосинтезіне әртүрлі көміртек және азот көздерінің әсері

Мақалада *P. cyclopium* культурасында пектинлиаза ферменттерінің биосинтезіне көміртекті және азотты қоректену көздерінің әсері зерттелді. Қоректік ортада көміртегі және азот көздері *P. cyclopium*-нің конструктивті алмасуына ғана емес, сонымен бірге пектинлиаза ферменттерінің синтезіне де әсерін тигізеді. *P. cyclopium* культурасының көміртекті қоректік көздеріне қажеттілігін анықтағанда полиметилгалактуронатлиаза (ПМГЛ) мен полигалактуронатлиазаның (ПГЛ) культуралдық сұйықтықта 5,0-ден 5,7-ге дейін түзілуін қамтамасыз ететін ең қолайлы көміртегі көзі фруктоза екені белгілі болды. Пектинлиаза ферменттерінің түзілуі үшін ең қолайлы азот көзі аммоний хлориді болып табылды. Қоректік ортаға азот көзі ретінде тек аммоний хлоридін қосқанда пектинлиаза ферментінің белсенділігі полиметилгалактуронатлиаза (ПМГЛ) үшін — 2,8 және полигалактуронатлиаза (ПГЛ) үшін — 3,0 есе көтерілді. Түптік жағдайда *P. cyclopium* культурасында ПЛ ферменттерінің барынша көп түзілетін мезгілін және өсірудің ұзақтығын анықтау үшін қолайлы көміртегі көзі — фруктоза мен азот көзі — аммоний хлоридінде культураның өсуі және ферменттердің түзілу динамикасы зерттелді. Культуралдық сұйықтықта ПЛ ферменттерінің белсенділігін анықтау мен өскен мицелийдің биомассасын есептеуді әр 24 сағат сайын жүргізілген. Барлық үдерістің ұзақтығы 168 сағатқа созылды. Ферменттердің белсенді биосинтезі стационарлық фазада 3,0–3,5 тәулікте жүрді, ал өсірудің 4-ші тәулігінен соң күрт төмендеді. *P. cyclopium* культурасында пектинлиаза ферменттерінің биосинтезін зерттеудің нәтижесінде оның табиғаты конститутивті екені анықталды. Спецификалық субстраттар зерттелген ферменттердің түзілуін күшейтпеді.

*Кілт сөздер:* микроағза, пектинлиаза ферменттері, ферменттер, *P. cyclopium*, полиметилгалактуронатлиаза, полигалактуронатлиаза, пектинлиазды белсенділік, биосинтез.

### *Kipicne*

Пектин ыдыратушы ферменттерінің гидролитикалық және трансэлиминативті механизмі әсерінің кешенді қалыптасу жағдайы жөнінде әдебиеттерде көптеген мәліметтер бар, бірақ тек пектинлиаза ферменттерінің биосинтезі жайында өте аз жазылған [1–4].

Пектингидролазалар мен пектинлиазалар ыдырататын өсімдіктердің пектинді полисахаридтері жоғары сатыдағы өсімдіктердің барлық ұлпаларында және клетка аралық еркін кеңістіктерінде көп таралған [5–8]. Олар табиғатта негізінен суда ерімейтін протопектин түрінде кездеседі. Оларды өсімдіктер өсудің бастапқы сатысында, яғни клетканың сыртқы қабығы үлкейіп өсу кезеңінде түзеді. Өсіп келе жатқан өсімдіктің жас ұлпасында сүректелген өсімдікке қарағанда пектиндік заттар көп болады.

Клетка қатпарларының арасында пектиндік полисахаридтердің көптеп кездесуі, клеткаларды біріктіретін және ұлпа құрылысын құрайтын, «цементтеуші» — қатайтып біріктіруші материалдың ролін атқарады [9–12].

Құрамында пектин субстраты бар ортада кейбір микроорганизмдер клетка ішінде және клеткадан тыс пектинлиаза мен гидролазаның күрделі жүйесін қалыптастырады. Жасанды ортада көміртек көзі ретінде пектатпен бірге *Erwinia caratovora* 14-ті өсіргенде клеткадан тыс эндопектатлиазаларды (эндо-ПКТЛ) және полигалактуроназаларды (ПГ), клетка аралық 4 пектиндеполимеразаларды түзеді [13].

Мерзімді өсіру жағдайында жасанды ортада фермент түзілуінің әртүрлі эффекторларымен *Erwinia caratovora* var. *atroserptica* 36 А және *Erwinia chrysanthemi* фитопатогенді бактериялары түзетін пектатлиазаның изоферменттеріне зерттеу жүргізілді. Пектатлиаза изоферменттерінің жеке синтезін реттейтін кейбір заңдылықтары белгілі болды. Қоректік ортаға қоздырғыш ретінде полипектат натрийін қосып және қоспай фермент секрециясының үдерісі жүргізілді. Клеткада қоздырғыштың қатысуынсыз пектатлиаза секрециясының жылдамдығы анықталды, қоздырғыш барда ол 6–9 есе артатын [2, 14].

Біздің жұмысымыздың мақсаты *P. cyclopium* 2–11 жоғары белсенді штамына әр түрлі көміртек және азот көздерінің әсерін зерттеу болып табылады.

#### *Зерттеу материалдары мен әдістері*

Зерттеу нысаны ретінде сұрыптау арқылы алынған пектинлиаза ферменттерінің түзушісі *P. cyclopium* 2–11 микромицеті алынды. Өсіру 28–30 °С болғанда шайқағышта 180–220 айн/мин жасайтын 100 мл қоректік ортасы бар Эрленмейер колбаларында (көлемі 750 мл) жүргізілді.

Көміртек көздері ретінде 2 % мөлшерінде қосылған моно-, ди-, полисахаридтер мен көп атомды спирттер алынды. Азот көздері ретінде мөлшері азотқа шаққанда 0,15 %-ға тең әр түрлі минералды азот көздері — нитрат және аммоний тұздары, сонымен қатар азоттың органикалық көздері — 1 % мөлшерінде қосылған пептон және казеин алынды. Себінді материалы ретінде ортаның көлеміне қарай 2 % есебінде 1 мл-де 170 000–190 000-ға дейін конидийлері бар спора суспензиясы қолданылды.

Пектинлиаза ферменттерінің белсенділігін бірқатар модификацияланған Витакердің тәсілімен, Н.А. Родионовамен бірлесіп жазылған Оствальдтің вискозиметрінде анықтадық [15].

Белсенділік бірлігі ретінде салыстырмалы тұтқырлығының кері шамасына 38–40 °С температурада 1 минут ішіндегі өлшем бірлігіне өсуін қамтамасыз ететін фермент мөлшері алынды.

Культуралдық сұйықтықта ПЛ ферменттерінің белсенділігін анықтау мен өскен мицелийдің биомассасын есептеуді әр 24 сағат сайын жүргіздік. Пектинлиаза белсенділігінің өсуімен қатар, культураның өнімділігі (биомасса түзуі) де артады. Пектинлиаза белсенділігі анықталғаннан кейін, 105 °С-да тұрақты салмаққа жеткенше кептіру арқылы мицелийдің құрғақ салмағы анықталып, культуралардың өнімділігіне есептеу жүргізілді.

#### *Зерттеу нәтижелері және оларды талдау*

Пектинлиаза ферменттерінің түзілуіне культуралардың оларды түзу дәрежесін зерттеуде қоректік ортаның құрамы шешуші әсерін тигізеді және олардың ішінде көміртегінің қоректік көзі елеулі орын алады.

Қоректік ортадағы көміртегі және азот көздері микроорганизмдердің конструктивті алмасуына ғана емес, сонымен бірге пектинлиаза ферменттерінің синтезіне де әсерін тигізеді. *P. cyclopium* культурасының көміртегі көздеріне мұқтаждығын зерттеу кезінде моно, ди-, полисахаридтер және көп атомды спирттер пайдаланылды. Биомассасы бір граммға дейін жиналған фруктоза мен жоғары этерленген D-галактуронаннан басқа барлық сыналған көміртегі көздері төмен конструктивті зат алмасуды қамтамасыз етті (кесте 1). Пектинлиаза ферменттерін — полиметилгалактуронатлиаза (ПМГЛ) мен полигалактуронатлиазаны (ПГЛ) культуралдық сұйықтықта 5,0 б/мл-ден 5,7 б/мл-ге дейін түзілуін қамтамасыз ететін ең қолайлы көміртегі көзі фруктоза болып табылды.

Кесте 1

#### ***P. cyclopium*-де әртүрлі көміртек көздері бар қоректік ортада пектинлиаза ферменттерінің түзілуі**

Көміртегі көзі	рН	Биомасса, г/100 мл	ПЛБ, б/мл		1 г мицелийдегі белсенділік көрсеткіші	
			ПМГЛ	ПГЛ	ПМГЛ	ПГЛ
Сахароза (бақылау)	8,0	0,85	4,6 ± 0,06	5,2 ± 0,31	1,3	2,4
Фруктоза	8,0	1,01	5,0 ± 0,06	5,7 ± 0,15	5,0	5,6
Галактоза	8,0	0,66	2,2 ± 0,12	2,1 ± 0,20	3,0	3,2
Глюкоза	8,0	0,86	1,5 ± 0,06	2,1 ± 0,10	1,7	2,4
Мальтоза	8,0	0,56	1,8 ± 0,20	1,5 ± 0,29	1,8	2,7
Ксилоза	8,0	0,78	1,5 ± 0,06	2,2 ± 0,12	2,0	2,6
Лактоза	8,0	0,52	2,5 ± 0,29	2,1 ± 0,10	3,8	4,0
Маннит	8,0	0,51	1,8 ± 0,20	2,0 ± 0,20	3,5	3,9
Сорбит	8,0	0,76	1,6 ± 0,28	1,6 ± 0,06	1,3	2,1
Крахмал	8,0	0,51	1,2 ± 0,06	1,2 ± 0,06	2,1	2,4
Жоғары этерленген D-галактуронан	8,0	0,94	3,4 ± 0,80	3,5 ± 0,29	3,6	3,7
Аз этерленген D-галактуронан	8,0	0,63	2,3 ± 0,30	2,5 ± 0,29	3,7	4,0
Нср			3,52 ± 0,30	3,79 ± 0,24		

Пектинлиаза ферменттерінің конститутивті және индукциялық табиғатын білу үшін зерттелетін культураның қоректік ортасына ең қолайлы көміртегі көзі — фруктозамен бірге спецификалық субстраттарды — жоғары этерленген D-галактуронан мен аз этерленген D-галактуронанды қостық (кесте 2). Осы тәжірибелер *P.cyclopium* культурасындағы пектинлиаза ферменттері конститутивті табиғатқа ие болғандықтан спецификалық субстраттар ең қолайлы көміртегі көзі ретінде зерттелетін ферменттердің синтезін қоздырмайтынын көрсетті. Егер фруктозада пектинлиазды белсенділік ПМГЛ үшін 5,0 б/мл және ПГЛ үшін 5,7 б/мл болса, оларға спецификалық субстраттарды қосқанда культуралдық сұйықтықта ферментативті белсенділік көтерілмеді. Бұл көрсеткіштер спецификалық субстраттардың қатысуы кезінде ферменттер синтезінің қозуы жүрмейтіндігін дәлелдейді.

Кесте 2

***P. cyclopium*-де пектинлиаза ферменттерінің биосинтезіне қолайлы көміртегі көзіне спецификалық субстраттарды қосудың әсері**

Тәжірибе нұсқалары	рН	Биомасса, г/100 мл	ПЛБ, б/мл		1 г мицелийдегі белсенділік көрсеткіші	
			ПМГЛ	ПГЛ	ПМГЛ	ПГЛ
Фруктоза (бақылау)	8,0	1,4	5,0 ± 0,06	5,7 ± 0,15	9,2	11,4
Жоғары этерленген D-галактуронан	8,0	0,94	3,5 ± 0,20	3,5 ± 0,20	3,7	3,7
Аз этерленген D-галактуронан	8,0	0,82	1,8 ± 0,10	2,0 ± 0,12	2,2	2,4
Фруктоза + жоғары этерленген D-галактуронан	8,0	1,04	5,0 ± 0,06	5,6 ± 0,10	8,0	9,0
Фруктоза + аз этерленген D-галактуронан	8,0	1,02	4,9 ± 0,06	5,5 ± 0,16	7,9	8,0
Нср			5,79 ± 0,14	6,39 ± 0,21		

Қоректік ортада пектинлиаза ферменттерінің синтезі мен культураның өнімділігіне азот көздері де өз әсерін тигізеді. Пектинлиаза ферменттерінің биосинтезіне азотты қоректену көздерінің әсерін зерттеу барысында бейорганикалық және органикалық азот көздері пайдаланылды (кесте 3).

Жүргізілген тәжірибелер органикалық азот көздерімен салыстырғанда бейорганикалық азот көздері пектинлиаза ферменттерін көбірек түзуге бейімді екендігін көрсетеді. *P. cyclopium*-да пектинлиаза ферменттерінің түзілуі үшін ең қолайлы азот көзі аммоний хлориді екендігі белгілі болды.

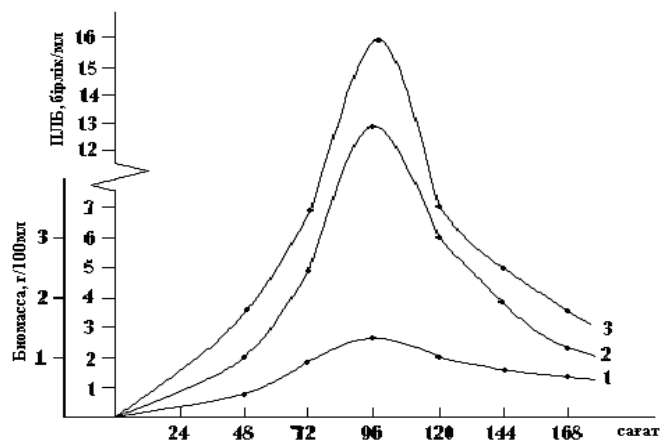
Кесте 3

***P.cyclopium*-де пектинлиаза ферменттерінің қоректік ортада бейорганикалық және органикалық азот көздерімен түзілуі**

Азот көзі	рН	Биомасса, г/100 мл	ПЛБ б/мл		1 г мицелийдегі белсенділік көрсеткіші	
			ПМГЛ	ПГЛ	ПМГЛ	ПГЛ
NaNO <sub>3</sub> (бақылау)	8,0	1,01	5,0 ± 1,16	5,7 ± 0,15	5,0	5,7
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	8,5	0,61	4,1 ± 0,16	4,7 ± 0,10	6,7	7,7
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	8,0	0,6	5,1 ± 0,21	3,9 ± 0,20	8,5	6,5
NH <sub>4</sub> Cl	8,5	1,4	12,9 ± 0,27	15,9 ± 0,11	9,2	11,4
(NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	8,0	0,9	6,8 ± 0,15	9,0 ± 0,06	7,5	10,0
NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	8,0	0,8	3,2 ± 0,53	6,7 ± 0,15	4,0	8,4
Казеин	9,0	1,2	2,5 ± 0,21	2,8 ± 0,06	2,0	2,3
Пептон	9,0	1,0	1,9 ± 0,10	1,9 ± 0,10	1,9	1,9
Нср			7,5 ± 0,50	9,1 ± 0,17		

Қоректік ортаға азот көзі ретінде тек аммоний хлоридін қосқанда пектинлиаза ферменттерінің белсенділігі бақылаумен салыстырғанда ПМГЛ үшін — 2,8 есе және ПГЛ үшін — 3,0 есеге артып, культураның өнімділігі 9,2–11,4 б/г мицелийге өсті. Пектинлиаза ферменттерінің түзілуі үшін қолайлы рН көрсеткішінің мәні 8,5 болып табылды. Азоттың бұл қоректік көзін ПЛ ферменттері биосинтезі үшін бұрын ешкім қолданбаған.

Түптік *P. cyclosporum* культурасында пектинлиаза ферменттерінің барынша көп түзілетін мезгілін және өсірудің ұзақтығын анықтау үшін үздіксіз өсіру жағдайында қолайлы көміртегі көзі — фруктоза мен азот көзі — аммоний хлоридінде культураның өсуі және ферменттердің түзілу динамикасы зерттелді. Культуралдық сұйықтықта ПЛ ферменттерінің белсенділігін анықтау мен өскен мицелийдің биомассасын есептеуді әр 24 сағат сайын жүргіздік (сурет 1). Барлық өсіру үдерісінің ұзақтығы 168 сағатқа созылды.



1 — биомасса; 2 — ПМГЛ, б/мл; 3 — ПГЛ, б/мл

Сурет 1. Мерзімді культура *P. cyclosporum*-де пектинлиаза ферменттерінің қолайлы көміртегі және азот көздерімен қоректік ортада түзілу динамикасы

Зерттеудің нәтижесінде экспоненциалды фазаның басында аздаған жылдамдықпен жүретін ферменттердің синтезінің нашарлағаны байқалды, ал экспоненциалды фазаның ортасында ферменттердің көбірек мөлшері түзілетіндігі, яғни ферменттердің ең көп түзілу деңгейі 4-ші тәулікте (ПМГЛ — 12,9 б/мл және ПГЛ — 15,9 б/мл) болатындығы белгілі болды. Культуралдық сұйықтықтың белсенділігі 4-ші тәуліктен соң күрт төмендеді. Биомассаның жиналуы кезінде дәл сондай жағдай байқалды, яғни мицелийдің ең жоғары жиналуы 4-ші тәулікте болды. Одан ары өсіру кезінде культура лизиске ұшырады және биомассаның көлемі төмендегендігі байқалды.

#### Қорытынды

Зерттеу барысында *P. cyclosporum* культурасындағы пектинлиаза ферменттерінің биосинтезіне көміртегі мен азоттың қоректену көздері әсер ететіндігі белгілі болды. Зерттелген ферменттердің түзілуі үшін қолайлы көміртегі және азот көздері болып фруктоза және аммоний хлориді екендігі анықталды. Сонымен қатар, зерттелген ферменттердің конститутивті табиғатқа ие болатындығы айқындалды. Ферменттердің біршама белсенді биосинтезі 3,0–3,5 тәулікте стационарлық фазада, ары қарай 4-ші тәулікте белсенділіктің күрт төмендеуімен жүретіндігі белгілі болды.

#### Әдебиеттер тізімі

- 1 Шевчик В.Е. Зависимость состава пектолитических ферментных комплексов бактерий рода *Erwinia* от химического состава среды культивирования / В.Е. Шевчик, А.Н. Евтушенков, Ю.К. Фомичев // Прикладная биохимия и микробиология. — 1992. — Т. 28. Вып. 1. — С. 87–93.
- 2 Шевчик В.Е. Изоферменты внеклеточных пектализ бактерий рода *Erwinia* / В.Е. Шевчик, А.Н. Евтушенков, Ю.К. Фомичев // Биохимия. — 1988. — Т. 53. Вып. 10. — С. 1629–1638.
- 3 Galazzo J.L. *Saccharomyces cerevisiae* in calcium-alginate beads induces cell alternations which accelerate glucose conversion to ethanol / J.L. Galazzo, J.E. Bailey // Biotechnol. Bioeng. — 1990. — Vol. 36, No. 4. — P. 417–426.
- 4 Desimone M.F. Ethanol tolerance in free and sol-gel immobilized *Saccharomyces cerevisiae* / M.F. Desimone, J. Degrossi, D.A. Miquel, E. Diaz Luis // Biotechnol Letters. — 2002. — Vol. 24, No. 19. — P. 1557–1559.
- 5 Фогарти В.М. Микробные ферменты и биотехнология / В.М. Фогарти. — М.: Агропромиздат, 1986. — 317 с.
- 6 Albersheim P. Über die bildung von ungesättigten abbauprodukten durehein pectin — abbauendes anzyme / P. Albersheim, Neukom, H. Neukom, H. Deuel // Helvetica Chimica Acta. — 1960. — Vol. 43, No. 10. — P. 1422–1426.

- 7 Whitcombe A.J. Structural characterization of the pectic polysaccharide, rhamnogalacturonan-II / A.J. Whitcombe, M.A. O'Neill, W. Steffan, P. Albersheim, G. Darvill // Carbohydrate Research. — 1995. — Vol. 11, No. 1. — P. 15–29.
- 8 Stevenson T.T. 3-Deoxy-d-lyxo-2-heptulosaric acid, a component of the plant cell-wall polysaccharide rhamnogalacturonan-II / T.T. Stevenson, A.G. Darvill, P. Albersheim // Carbohydrate Research. — 1988. — Vol. 25, No. 179. — P. 268–288.
- 9 Либберт Э. Физиология растений / Э. Либберт. — М.: Мир, 1976. — 581 с.
- 10 Fry S.C. The Growing Plant Cell Wall: Chemical and Metabolic Analysis / S.C. Fry // The Blackburn Press, Caldwell, 1988. — 333 p.
- 11 Родионова Н.А. Ферменты микроорганизмов, устойчивые к экстремальным условиям. Физико-химические свойства и применение. Ферменты, расщепляющие полисахариды клеточных стенок высших растений. Итоги науки и техники. Биотехнология / Н.А. Родионова, А.М. Безбородов. — М.: ВИНТИ, 1989. — Т. 19. — С. 196.
- 12 Aspinal G.O. Encyclopedia of Plant Physiology. New series / Ed. W. Tanner, F.A. Loewus. — Berlin: Springer-Verlag, 1981. — Vol. 2, No. 1. — P. 3–8.
- 13 Родионова Н.А. О локализации систем ферментов, катализирующих расщепление полисахаридов растительных клеточных стенок высших растений, пектиназы. (Обзор) / Н.А. Родионова, А.М. Безбородов // Прикладная биохимия и микробиология. — 1997. — Т. 33, № 5. — С. 467–487.
- 14 Бабицкая Е.В. Продукция пектатлиазы бактериями *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* / Е.В. Бабицкая, В.Е. Шевчик, А.Н. Евтушенко // Микробиология. — 1993. — Т. 62. Вып. 2. — С. 253–257.
- 15 Родионова Н.А. Методы определения целлюлазной активности / Н.А. Родионова, Н.А. Тиунова, Р.В. Фениксова // Прикладная биохимия и микробиология. — 1966. — Т. 2. — С. 197–200.

А.К. Калиева, Р.К. Блиева, Г.Б. Адманова, Б. Бақытжанқызы, Н.К. Кемалова

### **Влияние различных источников углерода и азота на биосинтез пектинлиазных ферментов у *Penicillium cyclopium***

В статье изучено влияние источников углеродного и азотного питания на биосинтез пектинлиазных ферментов у *Penicillium cyclopium*. Источники углерода и азота в питательной среде оказывают влияние не только на конструктивный обмен *P. cyclopium*, но и на синтез их пектинлиазных ферментов. При изучении потребности *P. cyclopium* в источниках углеродного питания было установлено, что лучшим источником углерода является фруктоза, обеспечивающая накопление полиметилгалактуронатлиазы (ПМГЛ) и полигалактуронатлиазы (ПГЛ) в культуральной жидкости до 5,0 и 5,7 ед./мл. Лучшим источником азота для образования пектинлиазных ферментов является хлористый аммоний. При добавлении его в питательную среду в качестве единственного источника азота биосинтез пектинлиазных ферментов увеличивался в 2,8 раза для полиметилгалактуронатлиазы (ПМГЛ) и в 3,0 раза для полигалактуронатлиазы (ПГЛ) по сравнению с контролем, повышая продуктивность культуры до 9,2–11,4 ед./г мицелия. Оптимальным значением pH для роста и образования пектинлиазных ферментов является pH 8,5. Определение активности пектинлиазных ферментов в культуральной жидкости и учет выросшей биомассы мицелия проводили через каждые 24 ч. Продолжительность всего процесса выращивания длилась 168 ч. Наиболее активный биосинтез ферментов проходит в стационарной фазе на 3,0–3,5 сутки с последующим резким падением активности после 4-х суток культивирования. Показано, что биосинтез пектинлиазных ферментов *P. cyclopium* имеет конститутивную природу. Специфические субстраты не индуцировали образование исследуемых ферментов.

*Ключевые слова:* микроорганизм, пектинлиазные ферменты, ферменты, *P. cyclopium*, полиметилгалактуронатлиаза, полигалактуронатлиаза, пектинлиазная активность, биосинтез.

A.K. Kalieva, R.K. Blieva, G.B. Admanova, B. Bakytzhankyzy, N.K. Kemalova

### **Effect of various carbon and nitrogen sources on the biosynthesis of pectinliase enzymes in *Penicillium cyclopium***

This article studies the effect of carbon and nitrogen sources on the biosynthesis of pectinliase enzymes in *Penicillium cyclopium*. The carbon and nitrogen sources in the nutrient medium influence not only the constructive metabolism of *P. cyclopium* but also the synthesis of pectinliase enzymes. It is found that the best carbon source is fructose, which provides accumulation of polymethylgalacturonatliase (PMGL) and polygalacturonatliase (PGL) in culture fluid up to 5.0 and 5.7 units/ml. The best nitrogen source is ammonium chloride. When it was added to the nutrient medium as the only nitrogen source, the biosynthesis of pectinliase enzymes increased 2.8 times for polymethylgalacturonatliase (PMGL) and 3.0 times for polygalacturonatliase (PGL) compared with the control. The productivity of the culture increased to 9.2–11.4 units/g of mycelium. The optimal pH value for the growth and pectinliase enzymes biosynthesis was

pH — 8.5. Determination of the activity of pectinliase enzymes and mycelium biomass in the culture fluid was carried out every 24 hours. The duration of the entire growing process lasted 168 hours. The most active enzyme biosynthesis takes place in the stationary phase for 3.0–3.5 days, followed by a sharp drop in activity after 4 days of cultivation. It is identified that the biosynthesis of pectinliase enzymes in *P. cyclopium* has a constitutive nature. Specific substrates did not induce the enzymes biosynthesis.

**Keywords:** microorganism, pectinliase enzymes, enzymes, *P. cyclopium*, polymethylgalacturonatliase, polygalacturonatliase, pectinliase activity, biosynthesis.

## References

- 1 Shevchik, V.E., Evtushenkov, A.N., & Fomichev, Yu.K. (2006). Zavisimost sostava pektoliticheskikh fermentnykh kompleksov bakterii roda *Erwinia* ot khimicheskogo sostava sredey kultivirovaniia [Dependence of the composition of pectolytic enzyme complexes of bacteria of the genus *Erwinia* on the chemical composition of the culture medium]. *Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiia — Applied biochemistry and microbiology*, 28 (1); 87–93 [in Russian].
- 2 Shevchik, V.E., Evtushenkov, A.N., & Fomichev, Yu.K. (1988). Izofermenty vnekletochnykh pektatliaz bakterii roda *Erwinia* [Isoenzymes of extracellular pektatliases of bacteria of the genus *Erwinia*]. *Biokhimiia — Biochemistry*, 53 (10); 1629–1638 [in Russian].
- 3 Galazzo, J.L., & Bailey, J.E. (1990). Growing *Saccharomyces cerevisiae* in calcium-alginate beads induces cell alternations which accelerate glucose conversion to ethanol. *Biotechnol. Bioeng.*, 36 (4); 417–426.
- 4 Desimone, M.F., Degrossi, J., Miquel, D.A., & Diaz Luis, E. (2002). Ethanol tolerance in free and sol-gel immobilized *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Letters*, 24 (19); 1557–1559.
- 5 Fogarti, V.M. (1986). *Mikrobye fermenty i biotekhnologiia [Microbial enzymes and biotechnology]*. Moscow: Agropromizdat [in Russian].
- 6 Albersheim, P., Neukom, H., & Deuel, H. (1960). Uber die bildung von undesattigten abbauprodukten durehein pectin — abbauendes anzyme. *Helvetica Chimica Acta*, 43(10); 1422–1426.
- 7 Whitcombe, A.J., O'Neill, M.A., Steffan, W., Albersheim, P., & Darvill, A.G. (1995). Structural characterization of the pectic polysaccharide, rhamnogalacturonan-II. *Carbohydrate Research*, 271, 11(1); 15–29.
- 8 Stevenson, T.T., Darvill, A.G., & Albersheim, P. (1988). 3-Deoxy-d-lyxo-2-heptulosaric acid, a component of the plant cell-wall polysaccharide rhamnogalacturonan-II. *Carbohydrate Research*, 25 (179); 268–288.
- 9 Libbert, E. (1976). *Fiziologiia rastenii [Plant Physiology]*. Moscow: Mir [in Russian].
- 10 Fry, S.C. (1988). *The Growing Plant Cell Wall: Chemical and Metabolic Analysis*. The Blackburn Press, Caldwell.
- 11 Rodionova, N.A., & Bezborodov, A.M. (1989). *Fermenty mikroorganizmov, ustoiichivye k ekstremalnym usloviyam. Fiziko-khimicheskie svoistva i primenenie. Fermenty, rasshepliushchie polisakharidy kletochnykh stenok vysshikh rastenii. Itogi nauki i tekhniki. Biotekhnologiia [Enzymes of microorganisms resistant to extreme conditions. Physico-chemical properties and application. Enzymes that break down polysaccharides of the cell walls of higher plants. Results of science and technology. Biotechnology]*. Moscow: VINITI, 19, 196 [in Russian].
- 12 Aspinal, G.O. (1981). *Encyclopedia of Plant Physiology*. Ed. Tanner W., Loewus F.A. Berlin: Springer-Verlag, 2(1), 3–8.
- 13 Rodionova, N.A., & Bezborodov, A.M. (1997). O lokalizatsii sistem fermentov, kataliziruiushchikh rassheplenie polisakharidov rastitelnykh kletochnykh stenok vysshikh rastenii, pektinazy. (Obzor) [On localization of enzyme systems catalyzing the cleavage of polysaccharides of plant cell walls of higher plants, pectinase (Review)] *Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiia — Applied biochemistry and microbiology*, 33 (5); 467–487 [in Russian].
- 14 Babickaia, E.V., Shevchik, V.E., Evtushenko, A.N., & Fomichev, Yu.K. (1993). Produktsiia pektatliazy bakteriiami *Erwinia carotovora* var. atroseptica [Production of pektatliase by bacteria *Erwinia carotovora* var. atroseptica]. *Mikrobiologiia — Microbiology*, 62(2); 253–257 [in Russian].
- 15 Rodionova, N.A., Tiunova, N.A., & Feniksova, R.V. (1966). Metody opredeleniia tselliulaznoi aktivnosti [Methods for determining cellulase activity]. *Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiia — Applied biochemistry and microbiology*, 2; 197–200 [in Russian].