

Н.В. Борзова, Л.Д. Варбанец, И.Н. Курченко, Л.Т. Наконечная

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина*

СКРИНИНГ ПРОДУЦЕНТОВ МАННАН- ДЕГРАДИРУЮЩИХ ЭНЗИМОВ

*Целью исследований было изучение распространенности комплекса маннан-деградирующих энзимов среди коллекционных и свежесыведенных культур микромицетов, актинобактерий и бактерий. Было показано, что продуценты β -маннаназ преимущественно выделяются из источников, богатых растительными остатками. Нами были обнаружены штаммы *Penicillium aculeatum*, *P. tardum* и *P. rugulosum*, продуцирующие комплекс из β -маннаназы и α -галактозидазы. Также были выявлены штаммы термофильных микромицетов видов *Corynascus sepedonium*, *Scytalidium thermophilum* и *Rhizomucor tauricus*, в культуральной жидкости которых отмечалась высокая маннаназная активность (10–130 ед/мл). Два штамма *P. aculeatum* и *P. tardum* проявляли β -маннаназную, β -маннозидазную и α -галактозидазную активности. Был показан высокий потенциал актинобактерий, так как маннаназную активность проявляли 70 % всех исследованных штаммов; их активность составляла от 2 до 55 ед/мл. Среди бактериальных культур наиболее активными были представители почвенной микробиоты *Bacillus circulans*, *B. subtilis*, *B. mesentericus*, а среди штаммов, выделенных из морской воды, активных продуцентов маннаназ обнаружено не было.*

К л ю ч е в ы е с л о в а : β -маннаназ, α -галактозидаза, β -маннозидаза, скрининг.

Исследования энзимов, расщепляющих полисахариды структурных компонентов клеточных стенок растений и микроорганизмов, являются приоритетным направлением современной микробиологии и биотехнологии. Использование таких энзимов позволяет гидролизовать различные гемицеллюлозы, увеличивая выход свободных углеводов либо устраняя недостатки технологических процессов.

Гемицеллюлозы – сложный комплекс, включающий маннаны, ксиланы и галактаны. Полисахариды типа маннана синтезируются большим количеством растений и входят в состав твердой и мягкой древесины. Главная их роль состоит в выполнении структурной функции. Маннаны, ковалентно связанные с лигнином и нековалентно – с целлюлозой, играют существенную роль в поддержании целостности целлюлозы и ее защите от деградации целлюлазами. Галактоманнаны, один из видов гетероманнанов, относятся к резервным полисахаридам. Они представлены цепочкой β -1,4-связанных остатков маннозы, к которым α -1,6-связью присоединены единичные Д-галактозильные остатки. Содержание галактозы в таких полимерах составляет более 5 %, а соотношение маннозы:галактозы варьирует от 1,1–4:1 и зависит от источника выделения [10].

Ключевыми энзимами деструкции растительных галактоманнанов являются β -маннаназ (3.2.1.78) и α -галактозидаза (ЕС 3.2.1.22). Эндо- β -1,4-маннаназы гидролизуют главную цепь маннана до маннобиозы и олигосахаридов, а боковые цепи, состоящие из α -1,6-галактозильных

остатков расщепляют экзо- α -галактозидазы. Маннобиозу расщепляет β -маннозидаза, обеспечивая полную деградацию маннана. Такой гетеросинергизм действия энзимов обнаружен у многих микроорганизмов [4, 9, 13], хотя чаще наблюдается присутствие двух маннан-атакующих энзимов из трех. Также не всегда присутствие двух и более энзимов сопровождается увеличением их деградирующей способности, то есть, имеет место анти-синергизм, обусловленный конкуренцией за место связывания субстрата. Немаловажную роль в ослаблении деструкции играет и специфичность действия α -галактозидазы [1], поскольку известно, что энзимы, относящиеся к различным семействам, могут значительно отличаться по своей способности атаковать тот или иной субстрат.

Наши исследования посвящены изучению распространенности таких маннан-деградирующих энзимов, как β -маннаназы и α -галактозидазы среди микромицетов, актинобактерий и бактерий, а также выяснению роли этих энзимов при гидролизе галактоманнана.

Материалы и методы. В работе были использованы микроорганизмы, полученные из коллекции живых культур отдела физиологии и систематики микромицетов, отдела биохимии микроорганизмов Института микробиологии и вирусологии НАНУ, из музея живых культур кафедры микробиологии, вирусологии и биотехнологии Одесского национального университета, кафедры микробиологии и общей иммунологии ННЦ «Институт биологии» Киевского национального университета им. Тараса Шевченко. Культуры микроорганизмов были выделены из лесной почвы Киевской области и горы Карагач, мрамора древних сооружений Крыма, ризосферы растений, морской воды (о. Змеиный), почвы прибрежной полосы Черного моря.

Культивирование микромицетов проводили на жидкой среде Чапека (в качестве источника углерода использовали 10 г гуаровой камеди) в глубинных условиях в пробирках, содержащих 10 мл питательной среды, при 25 °С и скорости вращения качалки 220 об/мин на протяжении 4–5 дней. Актинобактерии выращивали на крахмало-аммиачной среде (в качестве источника углерода использовали 5 г крахмала и 5 г гуаровой камеди [2]) в глубинных условиях в пробирках, содержащих 10 мл питательной среды, при 28 °С и скорости вращения качалки 241 об/мин на протяжении 4–5 дней. Для культивирования бактерий использовали среду следующего состава, г/л: KH_2PO_4 – 1,6; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,75; $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,25; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,5; гуаровая камедь – 10,0; дрожжевой автолизат – 0,5, а также агаризованную среду, содержащую пептона 0,1 %, дрожжевого экстракта – 0,1 %, гуаровой камеди – 0,5 %, NH_4NO_3 – 0,1 %, KH_2PO_4 – 0,14 %, MgCl_2 – 0,02 %, агар – 3 % [12]. Выращивание культур проводили при 38 °С в течение 24–48 часов.

Определение маннаназной активности проводили динитросалициловым методом, в качестве субстрата использовали галактоманнан гуара [1]. Реакционную смесь, содержащую 0,5 мл культуральной жидкости (КЖ) и 0,5 мл 1 % галактоманнана в 0,1 М фосфатно-цитратном буфере pH 5,2, инкубировали 20 мин при 45 °С, затем добавляли 1 мл динитросалицилового реактива (ДСР) и кипятили 10 мин. Окраску оценивали спектрофотометрически при 540 нм. В качестве стандарта использовали манно-

зу. За единицу активности принимали такое количество энзима, которое способствует образованию 1 мкмоль маннозы за 1 мин в условиях опыта.

Наличие β -маннаназной активности при культивировании микроорганизмов на твердой питательной среде оценивали после их окрашивания 1 % раствором Congo Red. Чашки с колониями бактерий после инкубации заливали раствором красителя на 30 мин, затем отмывали водой. Выводы о наличии β -маннаназной активности у культуры бактерии делали на основании наличия зон просветления вокруг колонии, а эффективность гидролиза оценивали по величине отношения диаметра колонии к диаметру зоны просветления.

β -Маннозидазную и α -галактозидазную активность определяли с помощью соответствующих *n*-нитрофенильных субстратов [3].

Все эксперименты проводили не менее, чем в 3–5 повторностях. Статистическую обработку результатов экспериментальных серий осуществляли стандартными методами с использованием *t*-критерия Стьюдента при 5 % уровне значимости.

Результаты. Скрининг на маннан-деградирующую активность был проведен среди 199 штаммов микроорганизмов: микромицетов, бацилл и актинобактерий.

Все культуры были протестированы на способность продуцировать комплекс маннан-деградирующих энзимов: β -манназазу, β -маннозидазу и α -галактозидазу (табл. 1). Наиболее активными продуцентами гемицеллюлазного комплекса оказались культуры микромицетов, среди них было выявлено наибольшее количество штаммов, способных синтезировать как исключительно β -манназазу, так и комплекс из двух или трех энзимов. Однако и среди них только два штамма проявляли β -манназазную, β -маннозидазную и α -галактозидазную активности одновременно. Следует отметить, что у большинства изученных штаммов β -манназазная активность была доминирующей. У 49 % штаммов микромицетов в культуральной жидкости отмечалась как β -манназазная, так и α -галактозидазная активность. В то же время, 15 штаммов (26 %) – все относящиеся к виду *Aspergillus niger*, – проявляли только α -галактозидазную активность и были не способны отщеплять маннозу от галактоманнана гуара. 11 штам-

Таблица 1

Общее количество исследованных штаммов микроорганизмов

Продуценты	Количество штаммов, проявляющих маннан-деградирующую активность		
	β -Манназазная (или α -галактозидазная) активность	β -Манназазная + α -галактозидазная активности	β -Манназазная + β -маннозидазная+ α -галактозидазная активности
Микромицеты (57 штаммов)	45	28	2
Актинобактерии (63 штамма)	44	21	-
Бактерии (79 штаммов)	15	-	-

Таблица 2

Спектр гемицеллюлазной активности микромицетов

Продуцент	β-Маннаназная активность, ед/мл	α-Галактозидазная активность, ед/мл	β-Маннозидазная активность, ед/мл
<i>A. niger</i> 185	15 ± 0,7	5,5 ± 0,07	-
<i>A. niger</i> 181	20 ± 0,5	0,6 ± 0,01	-
<i>P. aculeatum</i> 2975	60 ± 0,8	0,1 ± 0,005	-
<i>P. aculeatum</i> 329	73 ± 1,1	0,03 ± 0,001	-
<i>P. aculeatum</i> 2979	60 ± 0,7	0,5 ± 0,01	-
<i>P. aculeatum</i> 2974	50 ± 0,5	0,02 ± 0,001	0,1 ± 0,005
<i>P. aculeatum</i> 2746	90 ± 2,2	0,1 ± 0,005	-
<i>P. aculeatum</i> 217	110 ± 4,5	0,05 ± 0,001	-
<i>P. tardum</i> 2965	80 ± 3,1	2,3 ± 0,09	-
<i>P. tardum</i> 2964	50 ± 0,8	0,15 ± 0,01	-
<i>P. tardum</i> 2777	45 ± 0,8	0,1 ± 0,005	0,05 ± 0,001
<i>P. tardum</i> 60	75 ± 2,1	0,15 ± 0,01	-
<i>P. rugulosum</i> 2766	40 ± 0,5	0,15 ± 0,01	-
<i>P. rugulosum</i> 2775	50 ± 0,4	0,1 ± 0,005	-
<i>Corynascus sepedonium</i> 65068	130 ± 5,5	0,2 ± 0,01	-
<i>Corynascus sepedonium</i> 1899	30 ± 1,1	0,05 ± 0,001	-
<i>Scylalidium thermophilum</i> 1738	10 ± 0,1	0,05 ± 0,001	-

Примечание: «-» — активность не обнаружена.

мов микромицетов – представителей видов *Penicillium tardum*, *Penicillium aculeatum* и *Corynascus sepedonium*, демонстрировали β-маннаназную активность на уровне 50–130 ед/мл (табл. 2). Однако корреляции между β-маннаназной и α-галактозидазной активностями у культур микромицетов не наблюдалось.

Скрининг маннан-деградирующей способности актинобактерий продемонстрировал несколько меньшую активность по сравнению с микромицетами. Так, 43 % штаммов проявляли β-маннаназную активность, однако, в среднем, ее уровень был ниже, чем у представителей рода *Penicillium* (табл. 3). Также, меньшее количество штаммов проявляло α-галактозидазную активность, а β-маннозидазная вообще не отмечалась.

Наименее активными продуцентами энзимов гемицеллюлазного комплекса оказались бактерии рода *Bacillus*. При культивировании на жидкой среде энзиматическая активность по отношению к галактоманнану не обнаруживалась. В то же время, при выращивании на твердой среде, у 15 из 79 штаммов отмечалась гидролитическая активность по отношению к галактоманнану, о чем свидетельствовало наличие зон просветления после окрашивания Congo Red (табл. 4).

Таблица 3

Штаммы актинобактерий, проявляющие β -маннаназную и α -галактозидазную активность

Штамм актинобактерии	β -Маннаназная активность, ед/мл	α -Галактозидазная активность, ед/мл
86	20 ± 0,7	0,02 ± 0,001
102	18 ± 0,5	0,05 ± 0,001
106	10 ± 0,1	0
107	20 ± 0,6	0,03 ± 0,001
108	25 ± 0,7	0,05 ± 0,001
110	25 ± 0,5	0,02 ± 0,001
111	55 ± 2,2	0,1 ± 0,005
113	10 ± 0,2	0,02 ± 0,001
115	35 ± 1,1	0,02 ± 0,001
119	40 ± 0,8	0,1 ± 0,005
120	30 ± 0,5	0,05 ± 0,001
121	20 ± 2,1	0,03 ± 0,001
197	30 ± 0,8	0,05 ± 0,001
211	50 ± 0,4	0,02 ± 0,001
30	30 ± 0,5	0
52	0	0,2 ± 0,005

Таблица 4

Активность некоторых штаммов бактерий при выращивании на твердой среде (24 ч)

Штамм микроорганизма	Зоны гидролиза галактоманнана (отношение диаметра зоны просветления к диаметру колонии, см)
<i>B. circulans</i> 693	2,0/0,5
<i>B. subtilis</i> 51	2,0/0,4
<i>B. subtilis</i> 39	1,8/0,4
<i>B. mesentericus</i> 316/23-ма	1,9/0,3
<i>B. mesentericus</i> 316/13-а	2,2/0,5
Неидентифицированный	2,0/0,5
<i>Bacillus</i> sp. 34 ОГУ	0,8/0,6
<i>Bacillus</i> sp. 160 ОГУ	1,2/0,8
<i>Bacillus</i> sp. 56 ОГУ	1,8/1,0

Обсуждение. Маннаны – сложные полисахариды, входящие в состав многих древесных и травянистых растений. Эти полисахариды различаются по своему составу и структуре, что в свою очередь требует сложного комплекса энзимов для их гидролиза. Этот комплекс может быть представлен эндо- β -маннаназой и экзо- β -маннозидазой, а для гидролиза гетероманнанов: галактоманнанов, глюкоманнанов и галактоглюкоманнанов необходимо присутствие экзо- β -глюкозидазы, экзо- α -галактозидазы и ацетилманнанэстеразы. В гидролизе дрожжевых маннанов участвует также α -маннаназа. Синергизм действия маннан-деградирующих энзимов позволяет полностью гидролизовать большое количество растительной биомассы до отдельных углеводов, решая задачу утилизации отходов деревообрабатывающей и пищевой промышленности, а также повышая эффективность производства биотоплива.

Некоторые исследователи [13] уже проводили изучение эффективности совместного использования нескольких лигнинолитических энзимов для гидролиза галактоманнановых субстратов. В результате была показана, хотя и не во всех случаях, повышенная гидролитическая активность комплекса энзимов по сравнению с использованием отдельных маннаназ.

На сегодня изучен достаточно широкий круг продуцентов маннан-деградирующих энзимов. Среди них описаны бактериальные продуценты родов *Bacillus*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Rhodococcus*, *Pseudomonas* [10, 11, 13], грибные продуценты родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Phellinus*, *Piromyces* [1, 9, 10, 11]. Как правило, микроорганизмы, гидролизующие гемицеллюлозные субстраты, синтезируют комплекс гидролитических энзимов: глюканазы, ксиланазы, протеазы и т.д. Однако обычно активность отдельных энзимов, входящих в этот комплекс, невысока. Следует отметить, что зачастую синергизм действия на сложный субстрат обеспечивается действием энзимов, которые синтезируются различными микроорганизмами, сосуществующими в той или иной экологической нише.

Наши исследования показали, что источник выделения может иметь существенное значение при выявлении продуцентов маннан-деградирующих энзимов. Наиболее активные культуры микромицетов и актинобактерий были выделены из лесной почвы и почвы прибрежной полосы Черного моря соответственно. Данные экониши богаты растительными остатками и способствуют селекции организмов, способных их гидролизовать. Так, 17 из 19 штаммов актинобактерий, выделенных из почвы, проявляли маннаназную активность на уровне от 10 до 55 ед/мл, а также почти у всех из них отмечалась α -галактозидазная активность, хотя и отличалась от первой на несколько порядков. Также 11 из 17 штаммов, выделенных из ризосферы растений, проявляли β -маннаназную активность, но только 4 из них проявляли, пусть и незначительную, α -галактозидазную активность. Актинобактерии — это, несомненно, богатый источник экстрацеллюлаз, в том числе и маннаназ, и на сегодняшний день выделен и описан ряд высокоактивных продуцентов среди представителей рода *Streptomyces* [5, 6].

Среди микромицетов также наиболее активными были почвенные штаммы и штаммы, выделенные из пищевых и промышленных отходов (*P. aculeatum* 2975, *P. aculeatum* 2979, *P. aculeatum* 329, *P. tardum* 60, *P. tardum* 2964, *P. tardum* 2777, *C. sepedonium* 65068), и у половины из них регистрировали в супернатанте культуральной жидкости наличие как β -маннаназной, так и α -галактозидазной активности. Интересным, однако, оказался факт наличия высокой маннаназной активности у штаммов, выделенных с неприродных субстратов. Культуры *P. aculeatum* 217, *P. aculeatum* 2746 и *P. aculeatum* 2974 проявляли активность на уровне 110, 90 и 50 ед/мл соответственно, при этом выделены были с киноплёнки, зеркала и уплотнителя холодильника. При этом самая высокая β -маннаназная активность была отмечена у термофильного гриба *C. sepedonium* 65068, выделенного из отходов целлюлозно-бумажного комбината. Данный продуцент может быть наиболее перспективным биосинтетиком, поскольку энзимы экстремофильных микроорганизмов обладают повышенным потенциалом для использования в различных биотехнологических про-

цессах [7], так как диапазон их устойчивости к действию агрессивных факторов реакционной среды может быть значительно шире.

Только в двух случаях (*P. aculeatum* 2974 и *P. tardum* 2777) нами были обнаружены три активности: β -маннаназная, α -галактозидазная и β -маннозидазная. Однако доминирующей все равно выступала β -маннаназная активность. При этом данные культуры гидролизовали галактоманнан с меньшей скоростью, чем некоторые другие, не проявлявшие активность к терминальным β -связанным остаткам маннозы. По мнению некоторых авторов [9], присутствие двух и более энзимов, атакующих один и тот же субстрат, может вызывать антисинергизм действия из-за конкуренции за субстрат, что значительно снижает гидролитическую эффективность комплекса. В тоже время, все наиболее активные штаммы микромицетов и актинобактерий проявляли как β -маннаназную, так и α -галактозидазную активность. Следует отметить, что маннан-деградирующая активность культуры в значительной степени зависит от субстратной специфичности α -галактозидазы к типу расщепляемой связи. Максимально эффективным гидролиз галактоманнана будет проходить в присутствии α -галактозидазы, специфично отщепляющей α -1,6-связанную галактозу.

Таким образом, пищевые, растительные, древесные отходы и места их накопления могут служить наиболее перспективными местами выделения активных штаммов-продуцентов гемицеллюлаз, и, в частности, маннаназ. Получение путем микробиологического синтеза маннан-деградирующих энзимов и их использование имеет безусловный биотехнологический потенциал для использования в пищевой, целлюлозно-бумажной, химической, текстильной промышленности, а также для решения проблемы загрязнения окружающей среды, получения биотоплива и дешевых источников энергии.

Авторы выражают искреннюю благодарность сотрудникам кафедры микробиологии и общей иммунологии ННЦ «Институт биологии» Киевского национального университета им. Тараса Шевченко к.б.н. В.В. Шепелевич, П.П. Зеленой, Ю.М. Юминой, зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и биотехнологии Одесского национального университета проф. В.А. Иванице за предоставленные культуры микроорганизмов.

Н.В. Борзова, Л.Д. Варбанець, І.М. Курченко, Л.Т. Наконечна

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна*

СКРИНІНГ ПРОДУЦЕНТІВ МАННАН-ДЕГРАДУВАЛЬНИХ ЕНЗИМІВ

Резюме

Метою досліджень було вивчення розповсюдженості комплексу маннан-деградувальних ензимів серед колекційних та свіжовиділених культур мікроміцетів, актинобактерій та бактерій. Було показано, що продуценти β -маннаназ переважно виділяються з джерел, багатих рослинними залишками. Нами виявлені штами *Penicillium aculeatum*, *P. tardum* і *P. rugulosum*, що продукують комплекс із β -маннанази та α -галактозидази. Також були виявлені штами термофільних мі-

кроміцетів видів *Corynascus sepedonium*, *Scytalidium thermophilum* та *Rhizomucor tauricus*, у культуральній рідині яких відмічали високу мананазну активність (10–130 од/мл). Два штами *P. aculeatum* та *P. tardum* проявляли β-мананазну, β-манозидазну й α-галактозидазну активності. Був показаний високий потенціал актинобактерій, оскільки мананазну активність проявляли 70 % усіх досліджених штамів; їх активність склала від 2 до 55 од/мл. Серед бактеріальних культур найбільш активними теж були представники ґрунтової мікробіоти *Bacillus circulans*, *B. subtilis*, *B. mesentericus*, а серед штамів, виділених із морської води, активних продуцентів мананаз виявлено не було.

Ключові слова: β-мананаз, α-галактозидаза, β-манозидаз, скринінг.

N.V. Borzova, L.D. Varbanets, I.M. Kurchenko, L.T. Nakonechna

*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of National Academy of Sciences of Ukraine,
154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, 03143, Ukraine*

SCREENING OF MANNANE-DEGRADING ENZYMES PRODUCERS

Summary

The aim of research was to investigate the prevalence of complex mannan-degrading enzymes among museum and freshly isolated cultures of micromycetes, actinobacteria and bacteria. It has been shown that the producers of β-mannanases mostly extracted from sources that are rich in plant residues. We detected strains of *Penicillium aculeatum*, *P. tardum* and *P. rugulosum* which produce a complex of β-mannanases and α-galactosidase activity. Also, strains of thermophilic micromycetes species *Corynascus sepedonium*, *Scytalidium thermophilum* and *Rhizomucor tauricus* with high mannanase activity in culture liquid were detected (10–130 U/ml). Two strains of *P. aculeatum* and *P. tardum* showed β-mannanase, β-mannosidase and α-galactosidase activity. Actinobacteria was shown high potential, 70 % of all tested strains showed mannanase activity; their activity ranged from 2 to 55 U/ml. Among the most active bacterial cultures were representatives of soil microflora: *Bacillus circulans*, *B. subtilis*, *B. mesentericus*, where as among the strains isolated from sea water the active mannanases producers were not found.

Key words: β-mannanase, α-galactosidase, β-mannosidase, screening.

1. Варбанець Л.Д., Борзова Н.В. Глікозидази мікроорганізмів і методи їх дослідження – Київ: Наук. думка, 2010. – 437 с.
2. Методы селекции продуцентов антибиотиков и ферментов – Л.: «Медицина», 1978. – 160 с.
3. Chaplin M.E., Kennedy J.E. Carbohydrate analysis – Oxford: Washington: IRL Press, 1986. – 228 p.
4. Dotsenko G.S., Semenova M.V., Sinitsyna O.A., Hinz S.W., Wery J., Zorov I.N., Kondratieva E.G., Sinitsyn A.P. Cloning, purification, and characterization of galactomannan-degrading enzymes from *Myceliophthora thermophila* // Biochemistry (Mosc). – 2012. – 77, N 11. – P. 1303–11.
5. Hah Y.Y., Pradeep G.C., Seung W.K., Don H.P., Yun H.C., Joo W.S., Jin C.Y. A novel low-molecular weight alkaline mannanase from *Streptomyces tendae* // Biotech. and Bioproc. Engineer. – 2015. – 20, N 3. – P. 453–461.
6. Kansoh A.L., Nagieb Z.A. Xylanase and mannanase enzymes from *Streptomyces galbus*

NR and their use in biobleaching of softwood kraft pulp // Antonie Van Leeuwenhoek. – 2004. – 85, N 2. – P. 103–114.

7. Kumar L., Awasthi G., Singh B. Extremophiles: a novel source of industrially important enzymes // Biotechnology. – 2011. – 10, 2. – P. 121–135.
8. Liao H., Li S., Zheng H., Wei Z., Liu D., Raza W., Shen Q., Xu Y. A new acidophilic thermostable endo-1,4- β -mannanase from *Penicillium oxalicum* GZ-2: cloning, characterization and functional expression in *Pichia pastoris* // BMC Biotechnol. – 2014. – 14. – P. 90–101.
9. Malgas S., van Dyk J.S., Pletschke B.I. A review of the enzymatic hydrolysis of mannans and synergistic interactions between β -mannanase, β -mannosidase and α -galactosidase // World J Microbiol. Biotechnol. – 2015. – 31, N 8.– P. 1167–75.
10. Moreira L.R.S., Filho E.X.F. An overview of mannan structure and mannan-degrading enzyme systems // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2008. – 79, N 2. – P. 165–178.
11. Olaniyi O., Igbe F., Ekundayo T., Ayantola K. Screening Of Bacterial Strains For Beta-Mannanases Production In Solid State Fermentation // Nature and Science – 2013. – 11, N 5. – P. 133–140.
12. Rattanasuk S., Ketudat-Cairns M. *Chryseobacterium indologenes*, novel mannanaseproducing bacteria // S. J. of Sci. and Technol.– 2009. – 31, N 4. – P. 395–399.
13. Zhang H., Sang Q. Production and extraction optimization of xylanase and β -mannanase by *Penicillium chrysogenum* QML-2 and primary application in saccharification of corn cob // Biochem. Eng. J. – 2015. – 97. – P. 101–110.

Отримано 19.04.2016