

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММОВ
*DAEDALEOPSIS CONFRAGOSA*****И.И. Асипенко, 4 курс***Научный руководитель – О.Н. Жук, к.б.н., доцент****Полесский государственный университет***

Проблема биодegradации отходов деревоперерабатывающей промышленности, а именно гидролизного лигнина, стоит остро. Согласно исследованиям [1, с. 100], отходы этого вещества в Беларуси превышают 1678,2 тыс. тонн и в основном сосредоточены в Бобруйске и Речице, где располагается гидролизное производство. Эффективными деструкторами лигнина являются грибы белой гнили, обладающие уникальной системой ферментов – лигнолитическим комплексом, включающим лакказы, марганецпероксидазы, лигнинпероксидазы и другие грибные пероксидазы [2, с. 570]. Изучение штаммов базидиальных грибов белой гнили, к которым относится и *D. confragosa* на предмет продукции разрушающих лигнин ферментов является перспективным направлением в данной области. [3, с. 80].

Цель исследования – оценка лигнолитического потенциала двух штаммов *D. confragosa*.

Материалы и методы. Штаммы 1 и 3 *D. confragosa* выделенные на кафедре биотехнологии ПолесГУ, выращивали в глубинной культуре в колбах объемом 500 мл при 27°C на глюкозо-пептонной среде (ГП) и на указанной среде с внесением гидролизного лигнина – 2 г/л, (ГП/Л) [4, с. 46] в течение 14 сут. Образцы культуральной жидкости отбирали на 3-е, 5-е, 7-е, 9-е, 11-е и 13-е сут и центрифугировали при 10 000 об/мин. Активность марганецпероксидазы определяли через образование Mn^{3+} -тарtratного комплекса при окислении 0.1 мМ $MnSO_4$. Реакционная смесь (2 мл) состояла из 0.1 мМ $MnSO_4$ в 0.1 М Na-тарtratном буфере, pH 5,0, а также 0.1 мМ H_2O_2 в качестве второго субстрата. Ферментативную кинетику измеряли на спектрофотометре в течение 3-х мин при длине волны 238 нм [4, с. 48]. За условную единицу ферментативной активности принимали увеличение оптической плотности реакционной среды на 0,1 в 1 мл за 1 мин. (0,1 ед/мин×мл). Активность лакказы регистрировали при длине волны 410 нм с использованием пирокатехина в качестве хромогенного субстрата. Реакционная смесь состояла из 2 мл раствора 10 мМ пирокатехина в 0,1 М натрий-ацетатном буфере и 50 мкл культуральной жидкости [5, с. 43]. Увеличение оптической плотности регистрировали в течение 3 мин. За условную единицу ферментативной активности принимали увеличение оптической плотности реакционной среды на 0,001 единицу в 1 мл реакционной среды за 1 мин. (0,1 ед/мин×мл). Все эксперименты выполнены трехкратно.

Результаты и их обсуждение. Исследуемые штаммы *D. confragosa* при глубинном культивировании образуют шарики мицелия диаметром 3–4 мм на обоих вариантах сред.

Продукция лакказы и марганецпероксидазы отмечена для обоих штаммов. Установлено, что на активность вырабатываемых ферментов влияет состав питательной среды (рис. 1 и 2).

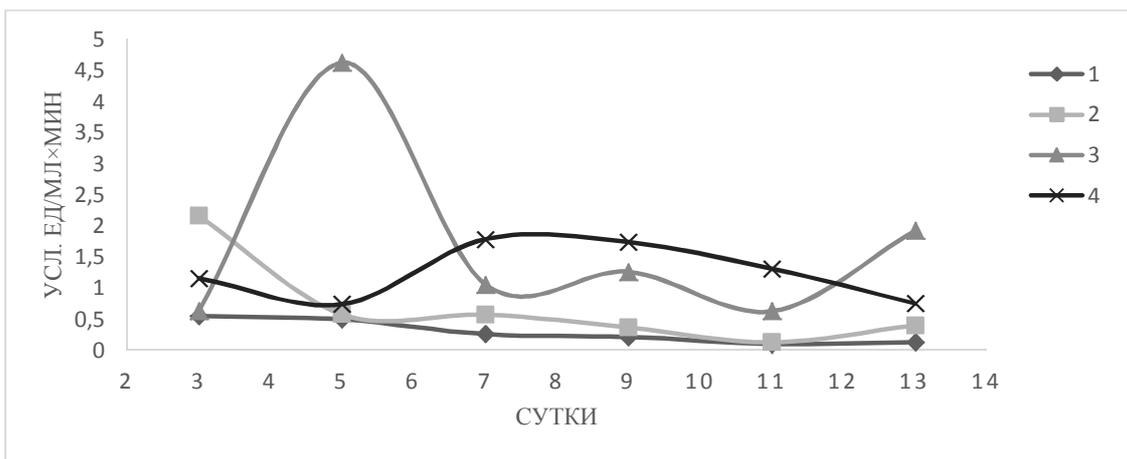


Рисунок 1. – Динамика активности марганецпероксидазы в культуральной жидкости штаммов-продуцентов: 1 – *D. confragosa*, штамм 1 в ГП среде; 2 – *D. confragosa*, штамм 1 в ГП/Л среде; 3 – *D. confragosa*, штамм 3 в ГП среде; 4 – *D. confragosa*, штамм 3 в ГП/Л среде.

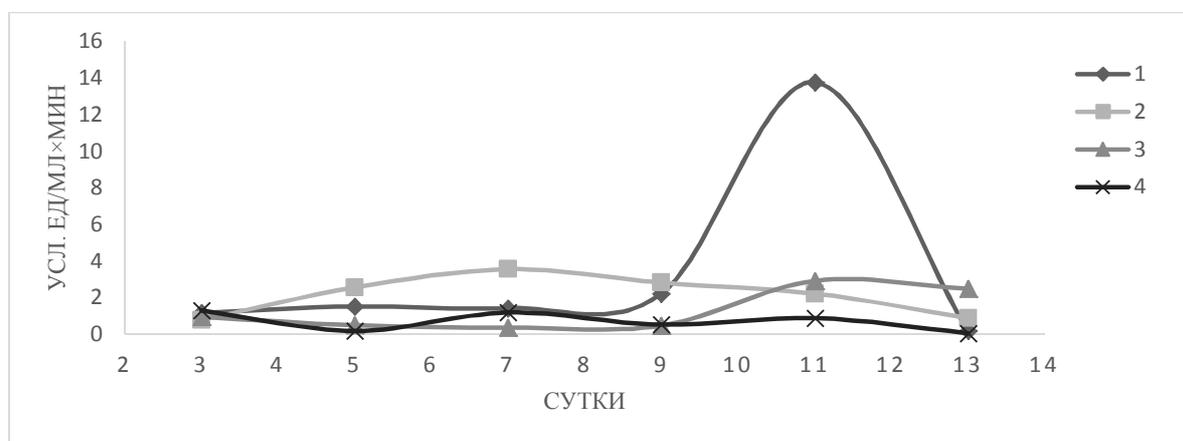


Рисунок 2. – Динамика активности лакказы в культуральной жидкости штаммов-продуцентов: 1 – *D. confragosa*, штамм 1 в ГП среде; 2 – *D. confragosa*, штамм 1 в ГП/Л среде; 3 – *D. confragosa*, штамм 3 в ГП среде; 4 – *D. confragosa*, штамм 3 в ГП/Л среде

Как показано на рис. 1 и 2, ферментативная активность штаммов носит периодический характер. Так при культивировании *D. confragosa* 1 в ГП среде наблюдались два пика активности лакказы: на 7-е и 11-е сут. Марганецпероксидаза в культуральной жидкости *D. confragosa* 3, выращенного на ГП среде, была наиболее активна на 5-е, 9-е и 13 сут. Для ГП среды без добавления лигнина активность ферментов выше, это может быть связано с тем, что лигнин адсорбирует выделяемые грибами ферменты. Периодический характер активности лигнолитических ферментов зависит от выработки вторичных метаболитов в разные фазы роста гриба [6, с. 78].

Максимальная марганецпероксидазная активность (4,62 усл. ед/мл×мин) была отмечена для штамма *D. confragosa* 3 при культивировании в ГП среде и превышала данный показатель при культивировании в среде с добавлением лигнина в 2,1 раза. Максимальная лакказная активность (13,75 усл. ед/мл×мин) наблюдалась при культивировании *D. confragosa* 1 в ГП среде, величина этой активности в 6,5 раз была больше, чем штамма базидиомицета, выращиваемого в среде с добавлением лигнина [7, с. 17].

Заключение. Таким образом, проведенные исследования показали, что штаммы-продуценты *D. confragosa* выделяют в культуральную жидкость лакказу и марганецпероксидазу. Активность этих ферментов более выражена в среде без лигнина. Базидиомицеты рода *Daedaleopsis* в будущем могут хорошим источником энзимов для деструкции лигнина. При дальнейшем их изучении пер-

спективными могут быть исследования по сравнению ферментативной активности грибов данного рода с другими представителями ксилотрофных базидиомицетов.

Список использованных источников

1. Состояние природной среды Беларуси: экологический бюллетень / Е. И. Громадская [и др.]. – Минск: РУП «ЦНИИКИВР», 2021. – 150 с.
2. Сравнительный анализ лигнолитического потенциала базидиальных грибов, принадлежащих к различным таксономическим и экологическим группам / Т. В. Фёдорова [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. – 2013. – Т. 49, № 6 – С. 570–579.
3. Саловарова, В. П. Использование отходов делигнификации для глубинного культивирования ксилотрофных грибов / В. П. Саловарова, В. А. Мелентьев, О. А. Берсенева // Изв. Вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2011. – №1 – С. 80–83.
4. Васина, Д. В. Изучение организации мультигенного семейства лакказ базидиального гриба *Trametes hirsuta* – эффективного деструктора лигнина : дис. ... канд. биол. наук : 03.01.04 / Д. В. Васина. – М., 2015 – 147 с.
5. Глазунова, О. А. Структурно-функциональное исследование лакказ базидиомицетов : дис. ... канд. хим. наук : 03.01.04 / О. А. Глазунова. – М., 2019 – 138 с.
6. Дармов, И. В. Исследование природных изолятов микромицетов *Fusarium spp.* – продуцентов лигнолитических ферментов / И. В. Дармов, Е. И. Горшунова, Т. С. Тарасова // Ученые записки Казанского университета. Серия естественные науки. – 2017. – Т. 159, № 1 – С. 72–84.
7. Биотехнологический потенциал дереворазрушающих грибов для получения биотоплива / В. В. Володин [и др.] // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. – 2021. – Т. 17, № 4 – С. 11–22.