

ВЛИЯНИЕ ХЛОРИДА КАДМИЯ (II) *IN VITRO* НА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ВЕШЕНКИ ОБЫКНОВЕННОЙ

Д.С. Лавренюк, 3 курс

Научный руководитель – **И.А. Ильючик**, к.б.н., доцент

Полесский государственный университет

Съедобный гриб вешенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*) является ценным источником питательных веществ и биологически активных соединений, в том числе белков, жиров, углеводов, минеральных солей, витаминов, аминокислот (восемь из них незаменимые), что открывает возможности ее использования в различных отраслях [1, с. 275]. Вешенка обладает разнообразным набором протеолитических ферментов. Из гриба были выделены сериновая протеиназа с функционально значимыми HS-группами и два металлоэнзима, содержащие цинк, а из ее культуральной жидкости – экстрацеллюлярная сериновая протеиназа. Протеиназы регулируют физиологические процессы мицелия гриба, такие как рост, развитие, и обеспечивают его необходимыми питательными веществами – пептидами и аминокислотами [2, с. 60].

В настоящее время кадмий – один из самых распространенных и наиболее токсичных загрязнителей окружающей среды. Ежегодно в мире выбрасывается в воздух до 100 т кадмия [3, с. 143]. Наряду с другими тяжелыми металлами он может накапливаться в организмах растений, животных, попадая в пищевые цепи, и представляет опасность для человека, вызывая тяжелые заболева-

ния. Токсичность кадмия вызвана способностью замещать цинк в различных биохимических процессах, что приводит к нарушению работы ферментов, участвующих в белковом, нуклеиновом и других обменах. Металл способствует образованию активных форм кислорода, которые повреждают клеточные мембраны, белки и ДНК, вызывая окислительный стресс [4, с. 154].

Вешенка способна накапливать кадмий из окружающей среды, но как данный металл влияет на активность протеиназ данного гриба, вопрос еще остается актуальным.

Цель работы – выявить влияние ионов кадмия *in vitro* на протеолитическую активность гомогенатов мицелия вешенки обыкновенной.

Для исследования использовали культуру «дикого» штамма *P. ostreatus*, выращенную на агаризованной картофельно-сахарозной питательной среде при температуре 27 °С. Мицелий гриба массой 0,1 г гомогенизировали на льду с добавлением 0,5 мл дистиллированной воды в течение 2-х минут. Хлорид кадмия (II) вносили к гомогенату в соотношении 1:1 в концентрациях 10^{-8} – 10^{-3} М. В контрольный образец соль кадмия не добавляли.

Протеолитическую активность гомогенатов определяли по расщеплению казеина и желатина в тонком слое агарового геля. Концентрация белков и агара – по 10 г/л. Растворителем желатина послужил буферный раствор трис-НСl 0,05 М, pH 7,4, для казеина – раствор NaCl 0,15 М, pH 7,4. Объем наносимого образца на готовые пластины – 10 мкл. Белок-агаровые пластины инкубировали при 37 °С в течение 20 часов. Зоны лизиса визуализировали обработкой пластин 1 н хлорной кислотой [5, с.70].

Исследования проводили восьмикратно. Полученные результаты обработаны статистически с вычислением t-критерия Стьюдента ($P \leq 0,05$).

Полученные результаты свидетельствуют о способности внутриклеточных протеиназ вешенки в нейтральной среде расщеплять желатин и казеин как при добавлении кадмия (Cd^{2+}), так и без него (таблица).

Таблица – Площади зон расщепления казеина и желатина протеиназами вешенки обыкновенной в присутствии хлорида кадмия (II) *in vitro*, n = 8

Концентрация соли CdCl_2 , М	Площадь зон расщепления, мм ²	
	Желатина	казеина
Контроль	69,50 ± 3,20	48,92 ± 2,90
10^{-8}	103,80 ± 3,56*	98,65 ± 4,64*
10^{-7}	74,16 ± 3,54*	71,88 ± 5,95*
10^{-6}	58,30 ± 2,17	63,84 ± 3,67*
10^{-5}	56,90 ± 2,73	47,43 ± 4,34
10^{-4}	57,10 ± 2,95	37,10 ± 2,87
10^{-3}	29,46 ± 2,36	26,84 ± 0,80

Примечание: * – изменения статистически достоверны при $P \leq 0,05$

В присутствии хлорида кадмия во всех концентрациях, кроме 10^{-8} и 10^{-7} М, наблюдалось снижение желатинолитической активности в сравнении с контрольным образцом. При максимальной концентрации соли (10^{-3} М) она снизилась на 58%, а при концентрациях 10^{-6} – 10^{-4} М на 16–18% по отношению к контролю. При минимальной концентрации соли кадмия (10^{-8} М) желатинолитическая активность приросла на 50%, а при 10^{-7} М – практически не изменилась по отношению к контролю.

Угнетение казеинолитической активности протеиназ вешенки происходило при концентрациях соли 10^{-4} – 10^{-3} М на 45 и 24% соответственно в сравнении с контрольным образцом. Во всех остальных случаях, кроме концентрации 10^{-5} М (площадь расщепления аналогична контролю), наблюдалось увеличение казеинолитической активности: при концентрации CdCl_2 10^{-8} М – на 102%, при 10^{-7} М – на 47% и при 10^{-6} М – на 30% по отношению к контролю.

Показатели желатинолитической и казеинолитической активности также различались между собой. В контроле расщепление желатина происходило активнее, чем казеина в 1,4 раза, что можно объяснить различной природой растворителей при одном значении pH.

Данные показывают, что разная концентрация хлорида кадмия по-разному влияет на активность ферментов, расщепляющих желатин и казеин. Различия указывают на то, что разные протеазы по-разному реагируют на кадмий. Возможно, кадмий влияет на специфические ферменты, расщепляющие желатин, сильнее, чем на те, которые расщепляют казеин.

Следует также отметить, что с увеличением концентрации соли кадмия наблюдается линейное снижение протеолитической активности на обоих субстратах и достигает максимума при 10^{-3} М, что указывает на сильное ингибирующее действие кадмия на протеазы вешенки и о нарушении белкового метаболизма гриба.

Ранее нами [5] были получены данные о подавлении желатинолитической активности протеиназ *P. ostreatus* при концентрации хлорида кадмия 10^{-3} М. внесенного *in vivo*. Также были замечены негативные последствия влияния высоких концентраций кадмия на рост, и накопление белка культурой, в то же время при самой низкой концентрации соли наблюдался рост вешенки.

Хлорид кадмия, внесенный *in vitro*, отрицательно влияет на желатинолитическую и казеинолитическую активность протеиназ гомогенатов тела вешенки обыкновенной. Выявлена линейная зависимость протеолитической активности от концентрации эффектора – чем выше концентрация ионов кадмия, тем ниже активность протеиназ вешенки, расщепляющих казеин и желатин.

Список использованных источников

1. Величко Н. А., Берикашвили З. Н. Химический состав плодового тела гриба *Pleurotus ostreatus* (Fr) Kumm // Вестник КрасГАУ. 2008. №4. – С. 274-278.
2. Кульгавеня, А.Д. О pH-зависимости протеиназ гриба вешенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*) при глубинном культивировании // А. Д. Кульгавеня; науч. Рук. В.Н. Никандров // Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси: материалы XIII международной молодежной научно-практической конференции, Пинск, 5 апреля 2019 г.: в 3-х ч. / Министерство образования Республики Беларусь [и др.]; редкол.: К.К. Шебеко [и др.]. – Пинск: ПолесГУ, 2019. – Ч. 3. – С. 60-62.
3. Дьякова, Н. А. Фармацевтическая экология: учебник для вузов / Н. А. Дьякова, С. П. Гапонов, А. И. Сливкин. – 6-е изд., стер. – Санкт-Петербург, 2025. — 288 с.
4. Егоров, В. В. Бионеорганическая химия / В. В. Егоров. — 4-е изд., стер. – Санкт-Петербург, 2023. – 412 с.
5. Влияние ионов кадмия на накопление биомассы, белка и желатинолитическую активность *Pleurotus ostreatus* при глубинном культивировании/ И. А. Ильичик, Д. С. Лавренюк, А. Г. Ковалюк, В. Н. Никандров // Пинские чтения : материалы II международной научно-практической конференции, приуроченной к 927-летию основания города Пинска, Пинск, 3 октября 2024 г. / Министерство образования Республики Беларусь [и др.] ; редкол.: В. И. Дунай (гл. ред.), И. Э. Бученков. – Пинск: ПолесГУ, 2024. – С. 69-72.