

### ВЛИЯНИЕ ИСТОЧНИКОВ УГЛЕРОДА И АЗОТА НА РОСТ И ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ОПЕНКА ЛЕТНЕГО

Н.И. Федоров, Н.И. Стайченко,  
Л.М. Неустроева, Н.Г. Воронкова

(Белорусский технологический институт им. С.М. Кирова)

Грибы являются ценным продуктом питания, а также сырьем для получения различных физиологически активных веществ. Поэтому их искусственное выращивание и получение устойчивых круглогодичных урожаев имеет большое хозяйственное значение.

Нами было изучено влияние различных источников углерода и азота на накопление биомассы мицелия и активность внеклеточных ферментов опенка летнего в культуре. Мицелий гриба был выделен из плодового тела, выросшего на березовом пне.

Для исследования потребности опенка летнего в источниках питания мицелий в течение месяца выращивали на жидкой синтетической среде [1] на качалке в колбах (250 мл) при комнатной температуре. В колбы заливалось по 50 мл питательной среды. Через месяц мицелий отделяли и высушивали до постоянного веса. В культуральной жидкости определяли рН и активность ферментов: активность пероксидазы определяли по методу Гудковой и Дегтярь [2]; лакказы – по методу Равина и Харварда [3]; целлюлазы – по методу Нельсона и Сомоджи [4]; протеолитическую активность – по аминному азоту [5]; пектолитическую – объемным иодометрическим методом [6]. Повторность опыта была пятикратная.

Как видно из табл. 1, различные источники углерода усваивались опенком по-разному. На среде, где отсутствовал источник углерода, рост мицелия был незначительный. Лучший рост наблюдался при выращивании гриба на средах с гексозами – декстрозой и фруктозой. Накопление биомассы мицелия при росте на средах с маннозой и сорбозой было в 2 раза ниже. Из пентоз большее накопление биомассы происходило при использовании рамнозы. Все испытываемые дисахариды усваивались мицелием гриба: мицелиальной массы было в пять раз больше, чем в колбах без углеродного источника. Из гекситов лучший рост был на манните и сорбите.

Таблица 1. Рост опенка летнего на синтетической среде с разными источниками углерода

Источники углеродного питания	pH начальное	pH конечное	Вес сухого мицелия, мг на 100 мл среды
L - арабиноза	6,05	4,25	28,5
D - ксилоза	5,8	4,1	31,9
L - рамноза	6,3	6,87	48,8
D - декстроза	6,15	4,0	51,3
D - манноза	6,1	3,8	18,8
D - галактоза	6,0	4,3	30,0
D - фруктоза	5,85	3,85	40,8
L - сорбоза	5,15	4,45	19,2
Мальтоза	6,0	4,35	34,1
Сахароза	6,15	4,4	30,3
Лактоза	6,3	3,75	36,4
Крахмал	5,9	4,3	14,4
Маннит	6,25	5,7	32,9
Дульцит	6,25	5,9	14,7
D - сорбит	6,25	3,9	26,0
Глицерин	6,3	4,45	22,2
Яблочная кислота	4,6	-	0
Адипиновая "	4,5	-	0
Шавелевая "	4,7	-	0
Молочная "	4,5	-	0
Фумаровая "	4,5	4,6	28,5
Янтарная "	4,5	4,45	24,5
Лимонная "	4,5	-	0
Винная "	4,6	-	0
Натрий лимоннокислый	6,6	-	0
Натрий уксуснокислый	6,3	7,1	12,7
Железо лимоннокислое	6,5	-	0
Опилки березовые	5,6	4,2	-
Без источника углерода	6,2	6,0	6,6

Данные по накоплению биомассы мицелия опенка на жидкой синтетической среде с разными источниками азотного питания представлены в табл.2. В метаболизме *Ph. mutabilis* углерод занимает более важное место по сравнению с азотом. Вес сухого мицелия в контроле, где нет источника углеродного пи-

Таблица 2. Рост опенка летнего на синтетической среде с различными источниками азота

Наименование источников азотного питания	pH начальное	pH конечное	Вес сухого мицелия, мг/на 100мл среды
Органические соединения			
DL- $\alpha$ - аланин	6,2	4,5	33,4
DL- $\beta$ - аланин	6,4	5,3	11,0
Глицин	6,15	4,5	25,4
DL- лейцин	5,95	4,7	15,2
DL- изолейцин	5,95	4,9	8,6
DL- серин	6,15	5,4	12,0
DL- треонин	6,0	4,9	9,0
L- цистеин	4,1	-	0
DL- метионин	6,25	5,9	66,0
DL- норвалин	6,15	4,3	29,8
DL- норлейцин	6,1	4,7	21,0
Аспарагиновая кислота	5,1	6,1	24,6
L- глутаминовая кислота	6,7	6,3	15,8
DL- аспарагин	5,95	4,8	19,6
DL- аргинин	6,4	6,3	10,6
L- аргинин HCl	6,05	4,3	22,8
DL- орнитин HCl	5,7	4,5	18,2
DL- лизин HCl	5,65	4,2	13,0
Фенил - $\alpha$ - аланин	6,1	5,4	14,0
DL- тирозин	6,0	4,7	63,4
DL- триптофан	6,25	6,2	5,0
L- гистидин	5,4	4,8	14,4
L- оксипролин	6,2	4,1	19,4
DL- пролин	6,3	4,0	16,6
Мочевина	6,6	7,5	11,6
Тиомочевина	6,2	6,2	15,0
Пептон	6,1	4,2	77,4
Неорганические соли			
Азотистокислый натрий	6,3	6,3	0
Азотнокислый "	6,35	4,5	21,6
Азотнокислый калий	6,35	4,5	18,6
Фосфорнокислый аммоний 1 замеш.	5,65	5,4	7,6
Фосфорнокислый аммоний 2 замеш.	6,4	5,9	27,6

## Продолжение

1	2	3	4
Азотнокислый аммоний	6,0	4,2	19,8
Молибденовокислый аммоний	5,1	5,0	30,0
Хлористый аммоний	5,75	5,4	6,4
Сернокислый аммоний	5,9	5,0	11,6
Железо-аммонийные квасцы	5,3	3,4	19,6
Азотнокислый магний	6,1	4,3	9,2
Хромовокислый аммоний	6,4	7,4	163,8
Азотнокислый	5,1	6,7	9,0
Березовые опилки	6,05	4,6	-
Контроль без источника азота	6,15	5,0	17,8

гания, но присутствует азот, был почти в 3 раза ниже, чем на среде с углеродом, но без источника азотного питания.

Результаты показали, что опенок летний усваивал почти все испытанные источники азота, кроме цистеина и азотистокислого натрия. Однако питательная ценность различных источников азота была разная: самое большое накопление биомассы мицелия из органических источников азота происходило на среде с мочевиной; на втором месте находился мицелий, выросший на среде с пептоном. Хорошим ростом обладал гриб на средах с метионином и тирозином.

Из исследованных неорганических источников азота наибольшее накопление биомассы мицелия наблюдалось при внесении в среду аммония хромовокислого, что в 9 раз превышало контроль. Накопление мицелиальной массы на средах с другими неорганическими солями было значительно ниже.

Результаты определения активности экзоферментов опенка летнего при выращивании на средах с разными источниками углеродного питания показали, что гриб продуцирует в среду различные ферменты, наличие и активность которых варьирует в зависимости от состава питательных сред и интенсивности роста мицелия. Летний опенок способен синтезировать пероксидазу и лакказу при выращивании на средах с большинством из испытанных источников углерода, за исключением некоторых органических кислот (табл. 3). Эти кислоты вызывали ингибирование активности пероксидазы. Самая большая активность ее наблюдалась при выращивании гриба на средах с декстрозой, мальтозой, сорбитом и натрием уксуснокислым. Несколько понижена активность пероксидазы при выращивании гриба на сре-



Таблица 3. Активность экзоферментов опенка летнего на синтетической среде с разными источниками углерода

Источники углеродного питания	Пироксидаза, на 100 мл среды	Лакказа, на 10 мл реакционной смеси	Сх-фермент, мг/мл глюкозы	Пектолитическая активность, единицы активности
L- арабиноза	0,71	0,073	0,142	600,7
D- ксилоза	0,5	0,169	-	536,1
L- рамноза	1,14	0,102	-	791,8
D- декстроза	1,09	0,158	-	499,9
D- манноза	0,31	0,013	-	185,6
D- галактоза	0,92	0,093	-	329,9
D- фруктоза	0,42	0,318	-	-
L- сорбоза	0,82	0,174	-	639,2
Мальтоза	1,16	0,325	-	453,6
Сахароза	0,23	0,04	-	-
Лактоза	0,85	0,128	-	556,7
Крахмал	0,37	0,118	-	-
Маннит	0,26	0,035	0,076	-
Дульцит	0,1	0,048	0,059	-
D- сорбит	1,34	0,124	-	873,8
Глицерин	0,46	0,047	0,007	655,3
Яблочная кислота	-	-	-	-
Адипиновая "	-	-	-	-
Шавелевая "	-	-	-	-
Молочная "	-	-	-	-
Фумаровая "	0,24	0,041	0,169	122,8
Янтарная "	0,46	0,071	-	-
Лимонная "	-	-	-	-
Винная "	-	-	-	-
Натрий лимоннокислый	-	-	-	-
Натрий уксуснокислый	1,45	0,078	0,075	1310,8
Железо лимоннокислое	-	-	-	-
Опилки березовые	0,01	0,067	0,043	316,8
Без источника углерода	0,04	0,05	0,005	333,2

дах с галактозой и арабинозой. На остальных средах активность была невысокой, а без источника углерода слабой. Наиболее высокая активность лакказы наблюдалась на мальтозе, фруктозе, декстрозе, сорбозе и ксилозе. При выращивании гри-

Таблица 4. Активность экзоферментов опенка летнего на синтетической среде с разными источниками азота

Источник азотного питания	Пероксидаза, на 100 мл среды	Лакказа, в 10мл реакционной смеси	С-х фермент, мг/мл реакционной смеси	Пектолитическая активность	Протеолитическая активность
DL- $\alpha$ -аланин	2,4	0,048	0	0	5,208
DL- $\beta$ -аланин	5,4	0,114	0	0	0
Глицин	1,5	0,023	0	404,1	0
DL-лейцин	2,5	0,116	0	0	15,583
DL-изолейцин	1,6	0,061	0	0	0,833
DL-серин	1,5	0,019	0	0	0,958
DL-треонин	1,0	0,052	0,063	228,3	0,375
L-цистеин	-	-	-	-	-
DL-метионин	0	0,085	0,103	0	0,916
DL-норвалин	1,7	0,009	0	0	1,2916
DL-норлейцин	2,2	0,067	0,152	0	0
Аспарагиновая кислота	1,5	0,022	0,025	72,8	22,583
L-глутаминовая "	1,6	0,039	0	0	0
DL-аспарагин	1,8	0,077	0	0	0
DL-аргинин	0,1	0	0	182,9	0,473
L-аргинин HCl	1,0	0,087	0	1280,7	9,041
DL-орнитин HCl	1,7	0,342	0	101,6	0
DL-лизин HCl	1,1	0,068	0	0	1,083
Фенил- $\alpha$ -аланин	3,8	0,124	0,017	0	0,791
DL-тирозин	1,1	0,03	0,027	304,9	9,333
DL-триптофан	0,2	0,015	0	101,6	0,16
L-гистидин HCl	0,5	0,026	0	345,5	0,916
L-оксипролин	0,1	0,021	0	0	0
DL-пролин	0,3	0,014	0,405	101,6	0
Мочевина	0	0,036	0	851,8	0
Тиомочевина	0	0	0,048	39,6	0
Пептон	14,2	1,37	0,194	118,8	0
Азотистокислый натрий	-	-	-	-	-
Азотнокислый "	0,2	0,011	0	101,6	0
Фосфорнокислый аммоний					
1 замещенный	0,1	0,019	0	0	1,791
Фосфорнокислый аммоний					
2 замещенный	0,9	0,097	0	548,8	0

## Продолжение

1	2	3	4	5	6	
Азотнокислый аммоний	0,3	0,077	0	467,5	0	
Молибденовокислый аммоний	0	0,006	0	60,9	0	
Сернокислый	"	0,7	0,074	0	0	
Хлористый	"	0,5	0,016	0	182,9	0,708
Железоаммонийные квасцы	0	0	0,065	264,2	0	
Азотнокислый магний	0	0,025	0,061	435,8	0	
Хромовокислый аммоний	0	0,017	0,048	435,8	3,541	
Азотнокислый алюминий	0	0,016	0,194	673,5	3,75	
Березовые опилки	0,7	0,016	0,048	0	0	
Контроль без азота	0,4	0,045	0	316,8	0	

ба на средах с маннозой, сахарозой, маннитом, дульцитом, глициерином, фумаровой кислотой продукция лакказы ингибируется по сравнению с контролем.

Не все источники углеродного питания способствовали синтезу С-фермента, играющего большую роль в разложении полисахаридной части древесины. Наиболее высокая активность С-фермента наблюдалась при выращивании мицелия на среде с фумаровой кислотой. При выращивании на среде, где в качестве источника углерода были опилки, активность С-фермента была в 8 раз выше контрольной.

Пектолитическая активность проявлялась почти во всех случаях роста мицелия на испытанных средах с разными источниками углерода. Наибольшая активность отмечена при выращивании гриба на среде с уксуснокислым натрием. Затем шли среды с сорбитом, сорбозой, рамнозой, арабинозой.

Приведенные в табл. 4 данные активности ферментов опенка летнего при выращивании на средах с разными источниками азота свидетельствуют о том, что несмотря на невысокое накопление биомассы (за исключением некоторых источников) активность пероксидазы была довольно высокой при выращивании мицелия на аланинах, лейцине, норлейцине. Самая высокая активность пероксидазы наблюдалась при росте мицелия на среде с пептоном. Активность пероксидазы в контроле без источника азота была выше в 10 раз по сравнению с активностью пероксидазы у культуры, выросшей без источника углерода.

Самая высокая активность лакказы наблюдалась при выращивании мицелия на среде с пептоном - в 30 раз выше контрольной. На втором месте были культуры, выращенные с DL-

аргинином (в 7 раз выше контрольных), затем шли DL- $\beta$ -аланин, DL-лейцин, фенил- $\alpha$ -аланин.

Активность С<sub>x</sub>-фермента также изменялась в зависимости от источников азота в среде. Наибольшая активность фермента наблюдалась при выращивании мицелия на средах с пролином, пептоном, азотнокислым алюминием, норлейцином и метионином. В 3 - 4 раза меньшая активность отмечена на средах с треонином, железоаммонийными квасцами, азотнокислым магнием, хромовокислым аммонием, березовыми опилками (вместо источника азота).

Пектолитическая активность мицелия летнего опенка проявлялась на большем количестве сред с разными источниками азотного питания. На первом месте по эффективности выработки фермента находился мицелий, выросший на среде с солянокислым аргинином и пролином. Затем шли среды с такими источниками азота, как глицин, фосфорнокислый аммоний двузамещенный, азотнокислый аммоний, хромовокислый аммоний, азотнокислый алюминий.

Протеолитическая активность летнего опенка зависела от источника азота в среде. Так, в контроле, где отсутствовал азот, она не была зафиксирована, а наибольшая протеолитическая активность наблюдалась на средах с аспарагиновой кислотой, лейцином, тирозином.

Проведенные исследования показывают, что различные источники углерода и азота оказывают неодинаковое влияние на интенсивность ростовых процессов и активность экзоферментов летнего опенка. Полученные данные будут использованы при разработке оптимального состава питательной среды для искусственного выращивания плодовых тел летнего опенка.

#### Л и т е р а т у р а

1. Торев А., Запрянов И. Образование плодовых тел у *Panus tigrinus* (Fr.) Sing. путем инокуляции мицелием, выращенным в погруженной культуре. - "Микология и фитопатология". Т.7, вып. 1. Л., 1973.
2. Гудкова Л.В., Дегтярь Р.Г. Метод определения активности пероксидазы. - "Ферменты в медицине пищевой промышленности и сельском хозяйстве". Киев, 1968.
3. Ravin H.A., Harvard M.D. Rapid test for hepatolenticular degeneration. *The Lancet*, 726, London, 1956.
4. Родионова Н.А., Тиунова Н.А., Фениксова Р.В. Методы определения целлюлазной активности. При-



кладная биохимия и микробиология, т.2, М., 1966. 5. Woiwood A.I. Colorimetric determination of aminonitrogen. Biochem., 1, 45, 3, Washington, 1949. 6. Херсонова Л.А. Определение активности пектирасщепляющих ферментных препаратов. - "Спиртовая промышленность", №7, М., 1963.

## САНИТАРНЫЕ РУБКИ И ИХ ЭФФЕКТИВНОСТЬ В ЗАРАЖЕННЫХ КОРНЕВОЙ ГУБКОВОЙ НАСАЖДЕНИЯХ

Н.И. Федоров, Е.С. Раптунович, Г.С. Снигирев

(Белорусский технологический институт им. С.М. Кирова)

Лесохозяйственное производство нуждается в конкретных указаниях по осуществлению санитарных рубок в насаждениях, пораженных корневой губкой. Регламентируемые в "Технических указаниях" (1964) правила и нормы не учитывают особенности заболевания и поэтому не удовлетворяют требованиям производства. Назрела необходимость изучить и обобщить имеющийся опыт по проведению санитарных рубок в различных насаждениях (по возрасту, лесорастительным условиям, степени расстроенности заболеванием и пр.). В основу разработок по проведению различных видов и приемов санитарных рубок должны быть положены материалы, учитывающие как лесозащитный эффект, так и данные экономической целесообразности их проведения.

Наши исследования по изучению эффективности различных видов санитарных рубок в сосновых насаждениях, пораженных корневой губкой, проводились в Слуцком, Барановичском, Осиповичском, Пуховичском и Минском лесхозах БССР.

Наиболее распространенным лесохозяйственным мероприятием в Белоруссии являются выборочные санитарные рубки, при которых вырубается усохшие, усыхающие и сильноослабленные деревья. Это способствует некоторому снижению интенсивности усыхания деревьев в результате уменьшения численности стволовых вредителей.

Своевременная вырубка пораженных заболеванием деревьев является крайне необходимой мерой. Однако во многих лесхозах выборочные санитарные рубки проводятся с опозданием, когда молодое поколение стволовых вредителей, покинув отработанные деревья, распространяется в глубь здоровой части насаждения. Кроме того, во время рубок часто ликвидируется