

## ДЕГИДРОГЕНАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛОЖНОГО ОСИНОВОГО ТРУТОВИКА

Н. И. СТАЙЧЕНКО

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

В разрушительной деятельности грибов, вызывающих разложение древесины, важную роль играют ферменты, которые участвуют в процессах биологического окисления органических субстратов. Начало окислительного процесса связано с воздействием дегидрогеназ, которые активируют водород окисляемого органического соединения и переносят его на другое соединение.

Активность дегидрогеназ некоторых дереворазрушающих грибов: *Schizophyllum commune*, *Merulius niveus*, *M. tramellosus*, *M. confluens*, *Fomes annosus* изучалась рядом исследователей (Dennen, Nicdergruem, 1965, 1967; Vitucci, Pallares, Nord, 1945).

Нами исследовалась активность дегидрогеназ на различных субстратах окисления в процессе роста мицелия *Phellinus tremulae* (Bond.) Bond. et Boriss в чистой культуре и в плодовых телах. Для этого использовалось количественное определение окрашенного водонерастворимого трифенилформаза (ТФФ), образующегося из бесцветной соли 2-3-5-трифенилтетразолиум-хлорида (ТТХ) в присутствии дегидрогеназ (Шмидт, 1964). Предварительно была построена калибровочная кривая, отражающая линейную зависимость между количеством окраски и оптической плотностью (Мороз, 1962).

Культура ложного осинового трутовика выращивалась на 8%-ном пивном сусле при комнатной температуре на качалке. Через каждые 7 дней в течение месяца определялась активность дегидрогеназ в воздушном и погруженном мицелии.

В плодовых телах дегидрогеназы определялись в гимениальном слое и многолетнем мицелии. Определенная навеска гриба растиралась с фосфатным буфером рН 7,6 из расчета 10 мл буфера на 1 г мицелия, выдерживалась на холоде в течение 30 мин, затем центрифугировалась. К 1 мл полученного экстракта приливались 1,5 мл фосфатного буфера с рН 7,6; 1 мл 0,1 М растворов различных субстратов и 0,5 мл 0,5%-ного раствора ТТХ. Смесь взбалтывалась и инкубировалась при 25° в течение суток. Затем извлекался образовавшийся ТФФ шестью миллилитрами ледяной уксусной кислоты. Далее формаза экстрагировался из уксуснокислого раствора пятью миллилитрами толуола при сильном встряхивании. Закрытые пробирки отстаивались, и толуоловый слой колориметрировался при 485 мкм. В качестве субстратов дегидрирования применялись моносахариды (Д-глюкоза и Д-фруктоза); многоатомные спирты (маннит и глицерин); аминокислоты (цистеин и аспарагин); органические кислоты (яблочная, янтарная и лимонная).

В качестве контроля было проведено эндогенное дегидрирование, т. е. в реакцию смесь не добавлялся субстрат.

Полученные результаты показывают, что ложный осиновый трутовик обладает высокой дегидрогеназной активностью. Самая высокая актив-

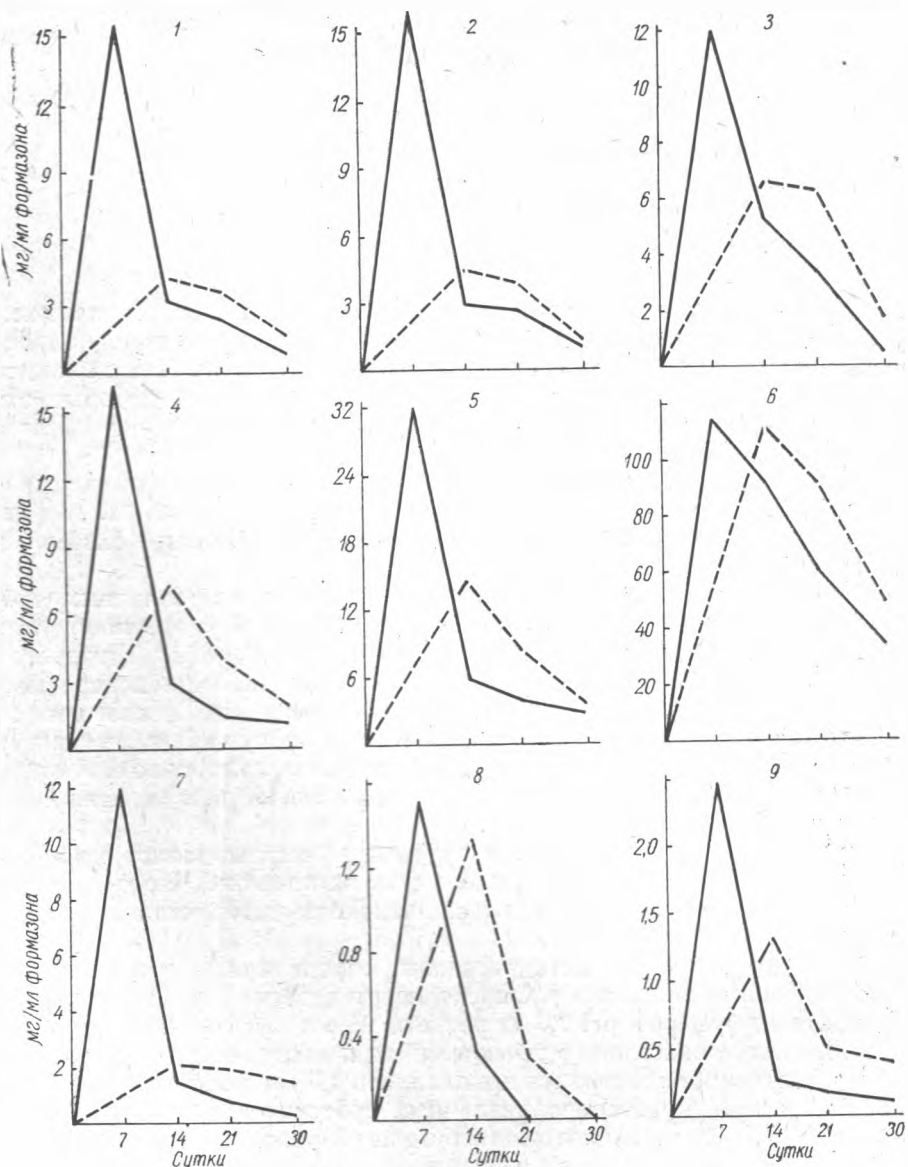


Рис. 1. Активность дегидрогеназ ложного осинового трутовика на разных субстратах окисления:  
1 — глюкоза; 2 — фруктоза; 3 — маннит; 4 — глицерин; 5 — аспарагин; 6 — цистеин; 7 — яблочная кислота; 8 — янтарная кислота; 9 — лимонная кислота.

ность у 7-суточного погруженного мицелия на всех проверенных субстратах окисления, несмотря на слабый рост (рис. 1). Затем наблюдается резкий спад активности фермента, которая к 30 суткам выращивания гриба была совсем незначительной на всех субстратах, кроме цистеина.

Проверка дегидрогеназной активности воздушного мицелия начиналась после 14 суток выращивания гриба, так как к этому сроку на стенках колб появлялся налет мицелия, достаточный для проведения анализа. С этого времени активность дегидрогеназ у воздушного мицелия выше, чем у погруженного, на всем протяжении исследования. При испытании общей энергии дыхания наблюдалась эта же картина: воздушный мицелий был активнее погруженного и максимумы активности наблюдались при тех же сроках выращивания гриба.

При выборе субстратов окисления мы исходили из данных, полученных при испытании способности ложного осинового трутовика усваивать различные источники углеродного и азотного питания. Лучший рост гриба наблюдался на среде с глюкозой, фруктозой, маннитом, аспарагином и цистеином. На этих субстратах отмечена наиболее высокая активность дегидрогеназ. Лучшим субстратом окисления оказался цистеин. Активность дегидрогеназ на нем достигала 114 мкг/мл формазана в 7-суточной культуре, затем активность постепенно снижалась, но все равно оставалась высокой на всем протяжении исследования. Возможно, что на повышение активности дегидрогеназ влияет сульфгидральная группа, имеющаяся в молекуле цистеина. На втором месте по окисляемости стоит аспарагин, затем глюкоза, фруктоза, маннит, глицерин, между которыми существенной разницы в активности не наблюдается. Активность дегидрогеназ янтарной, лимонной и особенно яблочной кислот была низкой.

Гимениальный слой плодовых тел обладал более высокой дегидрогеназной активностью на всех субстратах по сравнению с многолетним мицелием из плодовых тел (табл. 1). Самая высокая активность наблюдалась также на цистеине, затем на глюкозе и фруктозе. Низкой активностью окисления обладали органические кислоты.

Таблица 1

Активность дегидрогеназ плодовых тел ложного осинового трутовика

Субстрат окисления	Активность дегидрогеназы, г/мл формазана	
	гименофор	многолетний мицелий
Глюкоза . . . . .	7,5	1,8
Фруктоза . . . . .	7	1,65
Маннит . . . . .	4,4	1,4
Глицерин . . . . .	2,3	1,1
Аспарагин . . . . .	3,3	0,96
Цистеин . . . . .	79,5	67,2
Яблочная кислота . . . . .	0,05	0
Янтарная кислота . . . . .	0,75	0,25
Лимонная кислота . . . . .	0,05	0

Проведенные исследования позволили сделать следующие выводы:

1. Ложный осиновый трутовик обладает дегидрогеназной активностью на глюкозе, фруктозе, манните, глицерине, цистеине, аспарагине, яблочной, янтарной и лимонной кислотах.

2. У воздушного мицелия активность дегидрогеназ была выше, чем у погруженного мицелия.

3. Максимум активности был на цистеине. Органические кислоты слабо окислялись.

4. Гимениальный слой был активнее многолетнего мицелия плодовых тел ложного осинового трутовика.

#### Л и т е р а т у р а

- Мороз А. Ф. 1962. Дегидразная, каталазная и пероксидазная активности в культурах стафилококков, приобретших устойчивость к антибиотикам неомитиновой группы. «Антибиотики», № 2. Шмидт Э. Ф. 1964. Дифференциация штаммов клубеньковых бактерий на основании данных по определению активности бесубстратных дегидраз. Микробиология, т. 33, вып. 2. М. Dennen D. W., Niederpruem D. J. 1965. Control of glutamate dehydrogenase in the basidiomycete *Schizophyllum commune*. „Life Sci“, t. 4, № 1. Dennen D. W., Niederpruem D. J. 1967. Regulation of glutamate dehydrogenases during morphogenesis of *Schizophyllum commune*. J. Bacteriol., т. 93, № 3. Vitucci J. C., Pallares E. S., Nord F. F. 1945. On the mechanism of enzyme action. Part. 28, Application of Resazurin to the study of dehydrogenation by certain *Merulii* and *Fomes annosus*. Arch. of Biochemistry, т. 9, № 3.