

УДК 579.22:579.69:577.152.1

Л.А. Жуковская, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.

(Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск);

М.В. Мунтянова, магистрант биологического факультета

(Белорусский государственный университет, г. Минск);

Т.В. Семашко, доц., канд. биол. наук, вед. науч. сотр.

(Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск)

ВЛИЯНИЕ pH ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА РОСТ И ОБРАЗОВАНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ХОЛЕСТЕРОЛОКСИДАЗЫ ГРИБАМИ РОДА *PENICILLIUM*

Среди различных физических параметров концентрация водородных ионов (pH) оказывает существенное влияние на жизнедеятельность микроорганизмов. Данный показатель может воздействовать на растворимость и поглощение микроорганизмами питательных веществ, морфологию клеточной мембраны, активность синтезируемых ими ферментов [1].

Холестеролоксидаза (ХО) (КФ 1.1.3.6.) – мономерный бифункциональный флавинадениндинуклеотид (ФАД) зависимый фермент, принадлежащий к классу оксидоредуктаз, катализирующий окисление холестерина, используя кислород в качестве акцептора [2].

Известно, что для большинства бактериальных штаммов, продуцирующих ХО, оптимальное начальное значение pH питательной среды находится в диапазоне 6,0-8,0 [3]. Что касается мицелиальных грибов, продуцирующих данный фермент, то литературные данные, касающиеся этого вопроса, отсутствуют.

Цель работы – изучить влияние начального pH питательной среды на рост грибов рода *Penicillium* и образование ими внеклеточной холестеролоксидазы.

Ранее нами был проведен скрининг мицелиальных грибов, продуцирующих внеклеточные ХО, и отобраны наиболее активные штаммы [4].

В ходе эксперимента использовались: *Penicillium canescens*, *P. chrysogenum*, *P. kapuscinskii*, *P. roquefortii*. Глубинное культивирование отобранных штаммов осуществляли с использованием глюкозо-пептонной питательной среды с начальными значениями pH 5,0-9,0 (*P. kapuscinskii*) и pH 6,0-10,0 (*P. canescens*, *P. chrysogenum*, *P. roquefortii*). Активность внеклеточной ХО определяли спектрофотометрически [5]. Белок анализировали по методу Bradford, pH – потенциометрически.

Показано, что в процессе культивирования всех отобранных штаммов происходит снижение конечного рН питательной среды на 0,12-4,08. Конечное значение рН варьировало от 4,69 до 8,01 в зависимости от штамма и начального рН среды (рисунок 1).

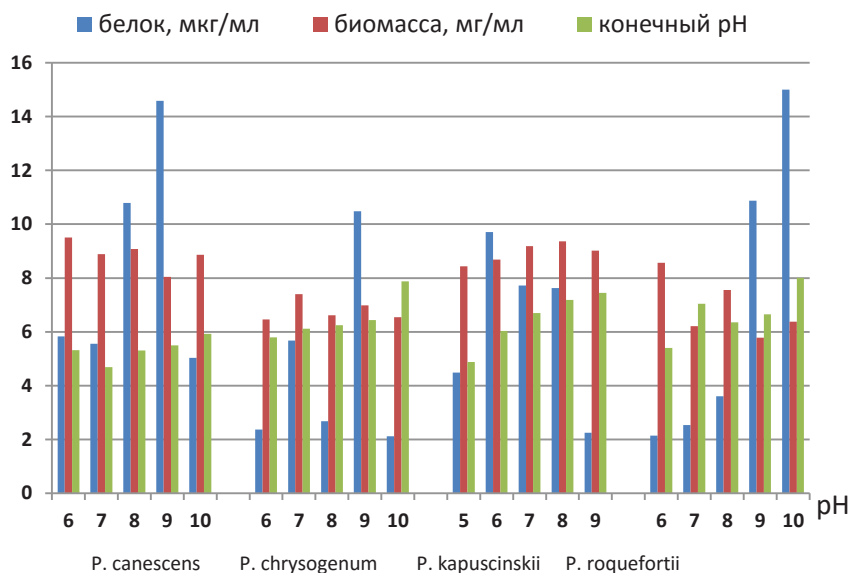


Рисунок 1 – Характеристика роста грибов рода *Penicillium* на средах с различным значением рН питательной среды

Установлено, что изучаемые штаммы по окончании культивирования накапливали 5,78-9,51 мг/мл биомассы. Оптимальное значение рН для роста *P. canescens* – 6,0 (9,51 мг/мл), *P. chrysogenum* – рН 7,0 (7,4 мг/мл), *P. kapuscinskii* – рН 8,0 (9,36 мг/мл) и для *P. roquefortii* рН – 6,0 (8,57 мг/мл). Что касается количества белка, то его значение варьировало в пределах 2,11-15,0 мкг/мл. Наибольшие показатели получены у *P. canescens* (14,59 мкг/мл) при начальном рН питательной среды 9,0 и для *P. roquefortii* (15,0 мкг/мл) при рН 10,0.

Также в процессе анализа уровня синтеза внеклеточной ХО отобранными штаммами установлено, что начальный рН влиял на образование ими фермента. Наилучшие результаты получены для *P. canescens* (0,047 ед/мл) при рН 8,0, для *P. chrysogenum* (0,028 ед/мл) – рН 7,0, для *P. kapuscinskii* (0,055 ед/мл) – рН 6,0 и для *P. roquefortii* (0,042 ед/мл) рН – 9,0 (рисунок 2).

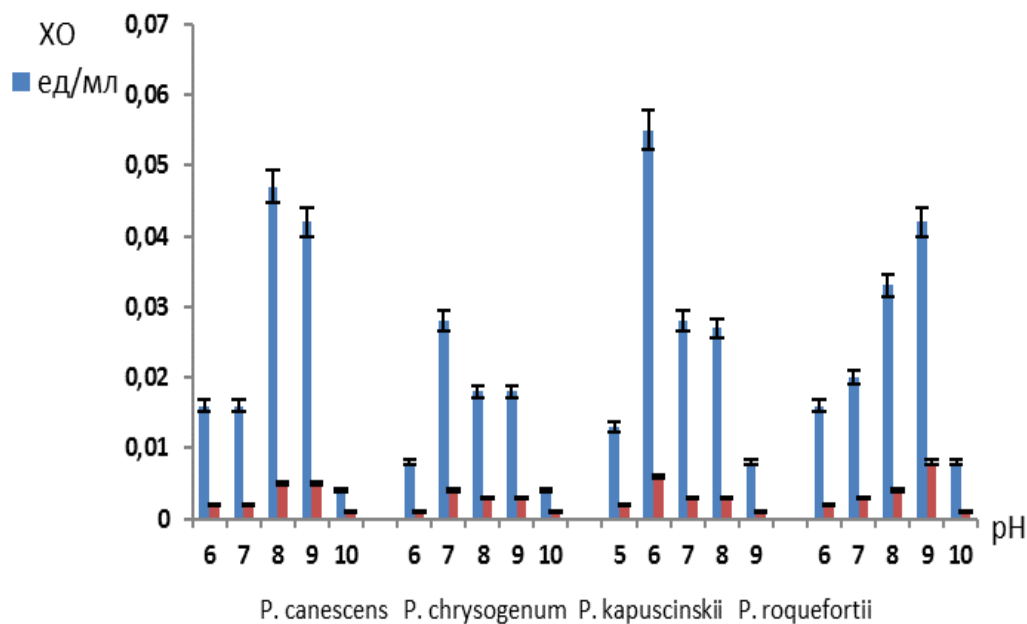


Рисунок 2 – Зависимость образования внеклеточной ХО грибами рода *Penicillium* от значения начального рН питательной среды

ЛИТЕРАТУРА

1. Noriyuki, D. Characteristics and biotechnological applications of microbial cholesterol oxidases / D. Noriyuki // *Appl Microbiol Biotechnol.* –2009. –Vol. 83. –P. 825-837.
2. Kumari, L. Purification and Characterization of an Extracellular Cholesterol Oxidase of *Bacillus subtilis* Isolated from Tiger Excreta / L. Kumari, S.S Kanwar // *Appl Biochem Biotechnology.* –2016. –Vol. 178. – P.353-367.
3. Moradpour, Z. Isolation, molecular identification and statistical optimization of culture condition for a new extracellular cholesterol oxidase producing strain using response surface methodology / Z. Moradpour, A. Ghasemian, A. Safari, M. Mohkam, Y. Ghasemi // *Ann Microbiol.* – 2013. –Vol. 63. –P. 941-950.
4. Zhukouskaya L.A., Semashko T.V., Muntsianava M.V. Fungi as potential producers of cholesterol oxidases // National scientific symposium with international participation: Modern biotechnologies – solutions to the challenges of the contemporary world, Moldova, Chisinau 2021, May 20-21. – P. 162.
5. Enzymatic Assay of Cholesterol Oxidase [электронный ресурс]. – 2020. – Режим доступа: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/protocols/biology/enzymatic-assay-of-cholesterol-oxidase>. – Дата доступа: 01.04.2020.