

Национальный исследовательский
Томский государственный университет
Биологический институт
Кафедра физиологии растений и биотехнологии
МОО «Микробиологическое общество»
Общество физиологов растений России

**БИОТЕХНОЛОГИЯ, БИОИНФОРМАТИКА И ГЕНОМИКА
РАСТЕНИЙ И МИКРООРГАНИЗМОВ**

**Материалы Всероссийской молодежной
научной конференции с международным участием
26–28 апреля 2016 года**

*Под редакцией
профессора О.В. Карначук*

Томск
Издательский Дом Томского государственного университета
2016

повышения солеустойчивости brassinостероидами // Физиология растений. 2014. Т. 61. С. 778–789.

2. *Deinlein U., Stephan A.B., Horie T., Luo W., Xu G., Schroeder J.I.* Plant salt-tolerance mechanisms // Trends in Plant Science. 2014. Vol. 19. P. 371–379.

3. *Hategan L., Godza B., Szekeres M.* Regulation of brassinosteroid metabolism // Brassinosteroids: a class of plant hormone. Springer Netherlands, 2011. P. 57–81.

4. *Kuznetsov V.I., Shevyakova N.I.* Polyamines and plant adaptation to saline environments // Desert Plants. Heidelberg, Dordrecht, London, New York : Springer-Verlag, 2010. P. 261–298.

5. *Mahajan S., Tuteja N.* Cold, salinity and drought stresses: an overview // Arch Biochem. Biophys. 2005. Vol. 444. P. 139–158.

**ИЗУЧЕНИЕ ИНДУЦИБЕЛЬНОГО ЭФФЕКТА
КСЕНОБИОТИКОВ И ПРИРОДНЫХ СТИМУЛЯТОРОВ
НА АКТИВНОСТЬ ФЕНОЛОКИСЛЯЮЩИХ
ОКСИДОРЕДУТАЗ *LENTINULA EDODES****

Е. В. Плотников, В. А. Ильюшин, Л. Б. Глухова, О. В. Карначук

Национальный исследовательский Томский
государственный университет, Томск, Россия

В связи с увеличением потребности производства и общества в химических предшественниках и медикаментах, экосистемы не способны к эффективной деградации поступающих ксенобиотиков. В последнее время помимо классических загрязнителей (полихлоридные ароматические вещества, полициклические ароматические углеводороды, синтетические красители и взрывчатые вещества), поступающих в экосистемы в значительных количествах, началось массовое исследование микрозагрязнителей (фармацевтические ингредиенты, антипирены, пестициды и др.).

* Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ (соглашение № 16-04-01619/16 от 19.02.2016 г.).

По действию микрзагрязнители относятся к различным группам токсичным веществ, включая канцерогены, ксеноэстрогены и др. Биодegradация микрзагрязнителей затруднена, так как генетический потенциал деструкторов не всегда позволяет разрушать такие соединения. При неполном окислении ксенобиотиков часто формируются более токсичные производные. Значительная доля таких веществ относится к фенольным соединениям.

L. edodes – биотехнологически значимый базидиомицет, широко используемый в фармакологической и пищевой промышленности, характеризующийся продукцией экстрацеллюлярных оксидоредуктаз: лакказ (Lcc, EC 1.10.3.2), марганец зависимых пероксидаз (MnP, EC 1.11.1.13), лигнин пероксидаз (LnP, EC 1.11.1.14), гемсодержащих пероксидаз (Per), способных к окислению ароматических фенольных соединений, включая природные компоненты и ксенобиотики. Экспрессия генов представленных выше экстрацеллюлярных ферментов зависит от специфических условий среды: наличия окислительного стресса, источника углерода и / или азота, а также наличия субстрата для окисления. Ранее было показано, что ванилин может активировать образование Lcc (Tsujiyama et al., 2013). В связи с этим целью нашего исследования стало изучение ферментативной активности фенолоксиляющих ферментов *L. edodes* в присутствии природных и антропогенных стимуляторов фенольной природы.

L. edodes, штамм W4 приобретен в компании «Fungi Perfecti» (Olimpia, WA, USA), анализ последовательности гена 18S rRNA подтвердил принадлежность штамма (Glukhova et al., 2014). Мицелий культивировали на искусственной питательной среде Чапека и на среде, описанной Tsujiyama с соавторами, при отсутствии света на орбитальном шейкере (130 об./мин) при 25°C, длительность культивирования составила 39 суток. В течение роста каждые трое суток измеряли активность лакказ, марганец-пероксидаз и гемсодержащих оксидаз и концентрацию фенольных соединений в культуральной жидкости, на 39-е сутки определяли содержание белка и сухую биомассу.

В качестве природных стимуляторов использовали горячие и холодные экстракты древесных опилок *Prunus padus*, *Populus tremula* и *Betula sp.* Горячую экстракцию проводили в автоклаве при 121°C, давлении 1 атм.

Холодная экстракция осуществлялась при 25°C на шейкере. Все экстракты фильтровали через микробиологические фильтры. В качестве ксенобиотика фенольной природы использовали фенилфенол в концентрациях 0,01 мМ, 0,1 мМ, 1 мМ.

Горячий экстракт *Populus tremula* значительно увеличивал активность МнР с 1,5 нмоль/(мл·мин) до 64 нмоль/(мл·мин) на 21-е сутки. Другие экстракты также увеличивали продукцию Мн-пероксидаз, но в значительно меньшей степени. Активность лакказ во всех экспериментах не превышала значения активности в контроле и снижалась с понижением активности МнР. Активность гемсодержащих пероксидаз не изменялась. По окончании эксперимента концентрация фенольных соединений снижалась, увеличивался прирост биомассы на экстрактах *Populus tremula* и *Prunus padus*.

При выращивании *L. edodes* в погруженной культуре 1 мМ фенилфенол был летален. Ферментативной активности и накопления белка не наблюдали, общий уровень фенольных соединений не изменялся. При более низких концентрациях фенилфенола (0,01–0,1 мМ) в процессе культивирования наблюдалось снижение общего содержания фенольных соединений. Фенилфенол повышал лигнолитическую активность изученных ферментов. При этом фенилфенол в концентрации 0,01–0,1 мМ увеличивал продукцию лакказ, но уровень МнР падал по сравнению с контролем. Максимальное значение активности лакказ наблюдали на 28-е сутки. Пик пероксидаз зафиксировали на 36-е сутки, что совпадало с падением активности полифенолоксидазных ферментов.

Литература

1. *Glukhova L.B., Sokolyanskay L. O., Plotnikov E.V. [et al.]*. Increased mycelial biomass production by *Lentinula edodes* intermittently illuminated by green light emitting diodes // *Biotechnol Lett*. 2014. DOI: 10.1007/s10529-014-1605-3.
2. *Tsujiyama SI, Muraoka T, Takada N*. Biodegradation of 2,4-dichlorophenol by shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) using vanillin as an activator // *Biotechnol Lett*. 2013. Vol. 35 (7). P. 1079-1083. DOI: 10.1007/s10529-013-1179-5.