

Использование каталазы для стимуляции роста мицелиальных и дрожжевых грибов после криоконсервации

И.С. ВАЖИНСКАЯ, А.В. КАНТЕРОВА, Г.И. НОВИК, И.В. МОРОЗ

Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск

Use of Catalase to Stimulate Growth of Mycelial and Yeast Fungi after Cryopreservation

I.S. VAZHINSKAYA, A.V. KANTEROVA, G.I. NOVIK, I.V. MOROZ

Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

В Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов одним из обязательных методов хранения культур различной таксономической принадлежности является криоконсервация. Для сохранения максимальной выживаемости клеток и их способности к активному росту нами изучались и оптимизировались условия, от которых зависели эти показатели. Однако у отдельных штаммов грибов, хранившихся при -70°C , после отогрева (как после медленного, так и быстрого) отмечалась низкая скорость роста колоний по сравнению с субкультивированием. В научной литературе представлены многочисленные данные об использовании антиоксидантного металлофермента каталазы (КФ 1.11.1.6) как индуктора, способного быстро вернуть микроорганизмы в активное культивируемое состояние. Однако нам не удалось в доступной литературе найти сведения об изучении участия каталазы в процессах активизации восстановления грибов после нахождения в стрессовом состоянии.

В настоящей работе представлены результаты использования разработанного в лаборатории ферментов Института микробиологии НАН Беларуси ферментного препарата «Каталаза» (продукт – штамм *Penicillium piceum* БИМ F-371) с активностью 15000 ед/мл в качестве агента, стимулирующего возврат к активному росту грибов, длительно находившихся в условиях стресса, прекращающего процессы, связанные с ростом и размножением.

Объектами исследований служили промышленно-ценные культуры вида *Pleurotus ostreatus* (5 штаммов), *Ganoderma lucidum* (3 штамма), *Metchnikowia krissii* (1 штамм) и *Bulleromyces albus* (2 штамма) после 4-х лет хранения при -70°C (протектор – обезжиренное молоко). После отогрева при 37°C мицелиальные и дрожжевые грибы культивировали 4 суток на сусло-агаре. Ферментный препарат (500, 1000 и 1500 ед на чашку Петри) вводили в питательные среды перед посевом тестируемых микроорганизмов. Контроль выращивали на среде без добавления фермента.

Стимулирующий эффект препарата (500 ед на чашку Петри) отмечен у культуры вида *G. lucidum*, диаметр колоний опытных образцов в 2,0–2,5 раза превышал контрольные показатели. Не отмечено какого-либо увеличения скорости роста колоний на средах со всеми вариантами концентрации ферментного препарата у штаммов вида *P. ostreatus*, *M. krissii* и *B. albus*.

Таким образом, переход грибов *G. lucidum* в активное культивируемое состояние после замораживания стимулируется наличием в питательной среде антиоксидантного фермента каталазы. Что касается других культур, то для успешного возврата к интенсивному росту для каждой из них необходим подбор специфических компонентов сред.

In Byelorussian collection of non-pathogenic microorganisms one of mandatory methods to store the cultures of different taxonomic belonging is cryopreservation. To preserve maximum survival rate of cells and their ability to active growth we have studied and optimized the conditions on which these indices were dependent. However, in certain strains of fungi, stored at -70°C , after thawing (both after slow and rapid ones) there was found a low rate of colony growth if compared with subculturing. In scientific literature there are presented numerous data about using antioxidant enzyme catalase (EC 1.11.1.6) as an inducer capable to turn the microorganisms rapidly into an active culturing state. However, in an available literature we did not manage to find the data on investigating the involvement of catalase into the processes of activation of fungi recovery after being in a stress state.

In this work there are presented the results of using the designed at laboratory of enzymes of the Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus of enzyme preparation 'catalase' (producer – strain *Penicillium piceum* BIM F-371) with the activity of 1500 units/ml as an agent stimulating the coming back to active growth of fungi, being during long time under stress conditions, ceasing the processes related to the growth and reproduction.

The research objects were industrially valuable cultures of *Pleurotus ostreatus* species (5 strains), *Ganoderma lucidum* (3 strains), *Metchnikowia krissii* (1 strain) and *Bulleromyces albus* (2 strains) after 4 year-long storage at -70°C (skimmed milk as a protectant). After thawing at 37°C mycelial and yeast fungi were cultured for 4 days with wort agar. Enzyme preparation (500, 1000 and 1500 units per Petri dish) was introduced into nutritive media prior to seeding of the microorganisms to be tested. The control was grown on the medium with no enzyme adding.

Stimulating effect of the preparation (500 units per Petri dish) was noted in the culture of *G. lucidum* species, diameter of colonies of the experimental samples in 2–2.5 times exceeded the control indices. No increase in the growth rate of colonies on the media with all the concentration variants of enzyme preparation in the strains of *P. ostreatus*, *M. krissii* and *B. albus* was found.

Thus the recovery of *G. lucidum* fungi for active culture state after freezing is stimulated by the presence in nutritive medium of antioxidant enzyme catalase. As for other cultures then for successful coming back to intensive growth for each of them the selection of specific components of the media is necessary.