УДК 577.152.321+663.11

КУЛЬТИВУВАННЯ БАЗИДІОМІЦЕТІВ — АКТИВНИХ ПРОДУЦЕНТІВ ЦЕЛЮЛОЗОЛІТИЧНИХ ЕНЗИМІВ

I. Загальна целюлозолітична активність культуральних фільтратів базидіоміцетів

К. Г. Древаль
М. І. Бойко

Донецький національний університет

E-mail: k.dreval@gmail.com

Отримано 06.06.2011

Підібрано умови культивування базидіоміцетів — активних продуцентів целюлозолітичних ензимів за факторами pH живильного середовища (значення pH варіювали від 3 до 9 з інтервалом 1 од) і температури (значення змінювались від 24 до 36 °С з інтервалом 2 °С). Визначали загальну целюлозолітичну активність усіх ензимів комплексу целюлаз відносно фільтрувального паперу. Встановлено, що оптимальне початкове pH живильного середовища для всіх штамів дорівнює 7, температура культивування — 28 °С для штаму Sh-1 *Stereum hirsutum*, 32 °С — для штаму AnSc-1 *Daedaleopsis confragosa* f. *confragosa* та 34 °С — для штамів К-1, А-Дон-02, Д-1 *Irpex lacteus*. У результаті оптимізації умов культивування значення загальної целюлозолітичної активності зросли на 16% для штаму К-1 *Irpex lacteus*, на 19% — для А-Дон-02 *Irpex lacteus*, на 107% — для Sh-1 *Stereum hirsutum* і на 159% — для Д-1 *Irpex lacteus*. Водночас підбір умов культивування дав змогу підвищити питому загальну целюлозолітичну активності штаму Sh-1 *S. hirsutum* на 9%, штаму А-Дон-02 *I. lacteus* — на 23%, штаму AnSc-1 *D. confragosa* f. *confragosa* — на 51%, штаму Д-1 *I. lacteus* — на 143%. Для штаму J-2An *Phellinus pomaceus* активності целюлаз у жодному варіанті досліду не виявлено. Максимальну загальну активність ензимів целюлозолітичного комплексу для культур К-1, А-Дон-02, Д-1 Irpex lacteus та AnSc-1 *D. confragosa* f. *confragosa* встановлено на 7-му добу експерименту, тимчасом як для культури Sh-1 *S. hirsutum* — на 14-ту добу.

Ключові слова: базидіоміцети, целюлозолітичні ензими, температура культивування, pH середовища, оптимізація, *Irpex lacteus*, *Stereum hirsutum*, *Daedaleopsis confragosa* f. *confragosa*, *Phellinus pomaceus*.

У сучасних умовах недостатнього забезпечення України власними паливно-енергетичними ресурсами деревина постає одним із найбільш доступних та перспективних джерел відновлюваної енергії [1, 2]. Водночас біотехнологічна галузь виробництва біопалива відчуває нестачу високопродуктивних штамів грибів, здатних до синтезу ензимів, що гідролізують целюлозу [3, 4]. У процесі попереднього скринінгу активних продуцентів целюлозолітичних ензимів визначено штами вищих базидіальних грибів, що можуть бути перспективними об'єктами біотехнологічного застосування целюлаз [5]. Загальновідомо, що стадія ферментації є основним етапом у біотехнологічному процесі, оскільки під час її перебігу відбувається взаємодія продуцента із субстратом та утворення цільових продуктів [6]. Саме тому умови цієї стадії є одним з основних критеріїв успішності всього процесу. Серед чинників, що найбільшою мірою впливають на організм-продуцент під час ферментації, головну роль відіграють хімічні та фізичні, зокрема pH живильного середовища та температура культивування, відповідно [7–9]. Тому одним із шляхів підвищення біосинтетичної здатності продуцента без зміни його генетичного апарату є визначення оптимальних значень хімічних і фізичних чинників культивування, що впливають на його ензиматичну активність. Підібравши їх оптимальні значення, можна підвищити синтез цільового продукту продуцентами у кілька разів [6].

Метою роботи було визначення оптимальних значень температури та pH живильного середовища для культивування базидіоміцетів — активних продуцентів целюлозолітичних ензимів.

Матеріали і методи

Об'єктами досліджень були 6 штамів вищих базидіальних грибів, що їх на попередньому етапі скринінгу [5] відібрали як активні продуценти целюлозолітичних ензимів: К-1, А-Дон-02 та Д-1 *Irpex lacteus* (Fr.) Fr.; Sh-1 *Stereum hirsutum* (Willd.) Pers.; AnSc-1 *Daedaleopsis confragosa* f. confragosa (Bolton) J. Schrot. та J-2An *Phellinus pomaceus* (Pers.) Maire.

Для дослідження целюлозолітичної активності штами культивували на рідкому середовищі Чапека такого складу (г/л): $NaNO_3$ — 2, K_2HPO_4 — 1, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,5, KCl — 0,5, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,01 [10]. Початкове pH живильного середовища доводили до значень від 3 до 9 з кроком 1 pH за допомогою 10%-х розчинів HCl або NaOH на аналізаторі іонів АІ-123 (Україна). Культивування проводили протягом 14 діб за температури від 24 до 36 °С з інтервалом 2 °С в термостатах ТС-80 та ТС-80-М2 (Росія). Як єдине джерело вуглецю до середовища додавали фільтрувальний папір Whatman №1 у кількості 8 г/л. Загальну активність ензимів целюлозолітичного комплексу (ФПА — FPA — filter paper activity) культуральних фільтратів (КФ) базидіоміцетів визначали відносно фільтрувального паперу Whatman №1, щільність 80 г/м^2. Склад реакційних сумішей при визначенні ензиматичної активності та умови проведення реакцій відповідали рекомендаціям IUPAC [11] та загальноприйнятим методикам [12, 13]. Обчислюючи результати, за одиницю активності (IU) приймали таку кількість ензиму, яка утворювала 1 мкМ редукуючих цукрів протягом 1 хв в умовах досліду (t = 40 °С). Питому активність (IU/mg) знаходили за відношенням загальної активності культурального фільтрату (IU/ml) до вмісту протеїнів у ньому (mg/ml). Редукуючі цукри визначали методом Шомодьї–Нельсона (калібрувальний графік будували за глюкозою) [12–14], вміст протеїну в КФ — спектрофотометричним методом на спектрофотометрі СФ-46 (Росія) [15].

Усі дослідження проводили у трикратній повторності. Статистичну обробку здійснювали методами дисперсійного аналізу, порівняння середніх — методом Дункана [16]. За обраного нами типу графічних зображень програма Excel не дозволяє встановити похибки даних. Однак, статистичну обробку даних проводили, достовірність/недостовірність усіх даних визначали методами двофакторного дисперсійного аналізу, а порівняння середніх здійснювали за Дунканом (рівень значущості = 0,05).

Результати та обговорення

Результати дослідження загальної ФПА культуральних фільтратів базидіоміцетів залежно від температури культивування та значення початкового pH живильного середовища на 7-му та 14-ту добу експерименту подано на рис. 1 і рис. 2 відповідно. З рис. 1, *а* видно, що загальна ФПА КФ штаму К-1 *I. lacteus* має кілька максимумів. Абсолютний максимум ФПА для цього штаму визначено при культивуванні за температури 34 °С та початковому pH 7 живильного середовища. Встановлене за цих умов значення ФПА КФ штаму К-1 *I. lacteus* достовірно вище на 16% від того, що було зафіксовано на попередньому етапі дослідження. Це свідчить про інтенсифікацію синтезу позаклітинних целюлозолітичних ензимів штамом К-1 *I. lacteus* за цих умов. На 14-ту добу культивування загальна ФПА КФ цього штаму (рис. 2, *а*) мала один достовірний максимум, який зсувався в зону меншого значення початкової кислотності живильного середовища (pH 5) та меншої температури культивування (t = 32 °С) порівняно з максимумом ФПА КФ цього штаму на 7-му добу експерименту. Загалом, значення ФПА КФ штаму К-1 *I. lacteus*, визначені на 7-му добу культивування, були вищі, ніж на 14-ту добу, що свідчить про швидку адаптацію продуцента до нових умов зростання, яка виявляється в індукції синтезу целюлозолітичних ензимів. Якщо брати до уваги значення ФПА, більші за 2 IU/ml, то можна побачити, що на 7-му добу культивування целюлозолітична активність цього штаму вища за низьких і високих температур та дещо знижувалась у діапазоні середніх температур експерименту. ФПА майже відсутня за всіх температур культивування при початковому pH живильного середовища на рівні 3 та 9 одиниць, що можна пояснити екстремальними значеннями pH, за яких штам втрачав здатність до росту, а отже, і синтезу целюлозолітичних ензимів.

Для загальної целюлозолітичної активності КФ штаму А-Дон-02 *I. lacteus* як на 7-му (рис. 1, *б*), так і на 14-ту (рис. 2, *б*) добу культивування характерним є те, що максимуми активності зсунуто в діапазон відносно високих значень початкової кислотності живильного середовища (pH 5–8) та високих температур зростання (28–34 °С на 7-му добу експерименту та 28–36 °С — на 14-ту). На 7-му добу культивування ФПА штаму А-Дон-02 *I. lacteus* має один достовірний максимум активності, визначений за температури 34 °С та pH 7, який достовірно перевищує значення ФПА, зафіксоване в процесі скринінгу, на

19%. Водночас, на 14-ту добу культивування штаму його ФПА була в середньому нижчою за аналогічні показники, визначені на 7-му добу експерименту, що може свідчити про високу адаптивну здатність цього продуцента. Як і в разі зі штамом К-1 *I. lateus*, ФПА КФ штаму А-Дон-02 *I. lacteus* була мінімальною при культивуванні на живильних середовищах з pH 3 та 9.

Під час культивування штаму Д-1 *I. lacteus* під дією різних градацій хімічних і фізичних чинників на 7-му добу експерименту (рис. 1, *в*) виявлено один чіткий пік активності за температури 34 °С і pH 7. Встановлена величина активності перевищувала значення ФПА, визначене за неоптимізованих умов культивування, у 2,59 раза, що свідчить про значну інтенсифікацію синтезу позаклітинних целюлозолітичних ензимів. На 14-ту добу проведення експерименту (рис. 2, *в*) значення ФПА КФ були достовірно (висновок про достовірність зроблено на основі порівняння середніх методом Дункана) менші від значень, встановлених на 7-му добу, і мали кілька піків. При цьому 3 із 4 встановлених піків припадали на початкове значення pH живильного середовища, яке дорівнювало 7. Культуральний фільтрат штаму Д-1 *I. lacteus* на 7-му та 14-ту добу культивування не виявляв ФПА за початкового pH живильного середовища на рівні 3,6 та 9. На 7-му добу культивування штам не виявляв ФПА при температурі 30 та 36 °С за всіх значень початкового pH живильного середовища, а на 14-ту добу експерименту — при 26 та 34 °С.

Для культури Sh-1 *S. hirsutum* є характерною особливість, що відрізняє її від усіх інших досліджуваних культур — максимум ФПА визначено на 14-ту добу культивування. Це вказує на те, що ця культура довше за

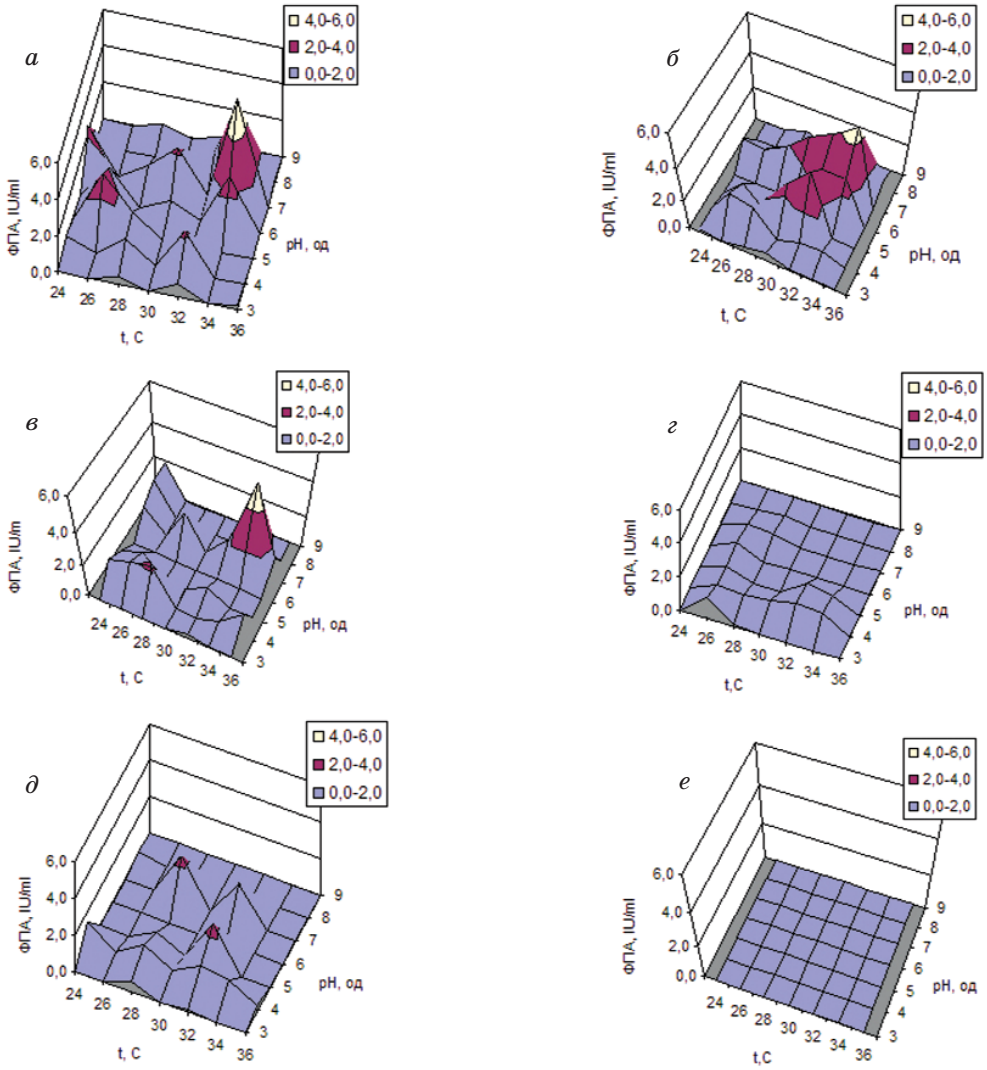

Рис. 1. **Загальна целюлозолітична активність ензимів культуральних фільтратів штамів К-1, А-Дон-02 та Д-1 *Irpex lacteus* (*а, б* і *в* відповідно); Sh-1 *Stereum hirsutum* (*г*); AnSc-1 *Daedaleopsis confragosa* f. *confragosa* (*д*) та J-2An *Phellinus pomaceus* (*е*) залежно від умов культивування на 7-му добу експерименту**

інші пристосовувалась до нових умов культивування. На 7-му добу культивування цей штам виявляв незначну ФПА (рис. 1, *г*), а на 14-ту добу встановлено 2 піки активності, які достовірно відрізнялись один від одного (рис. 2, *г*). Абсолютний максимум ФПА зафіксовано при культивуванні на живильному середовищі з pH 7 та за температури 28 °С. Оптимізоване значення ФПА перевищує величину, встановлену під час вирощування за неоптимізованих умов, на 107%. На 14-ту добу культивування штам Sh-1 *S. hirsutum* майже не виявляв ФПА за культивування при температурі 24, 26, 30 та 36 °С, на середовищах з pH 6,8 та 9. Це свідчить про те, що в цього штаму температурний і pH-оптимуми для синтезу целюлозолітичних ензимів дуже вузькі.

Для культури AnSc-1 *D. confragosa* f. *confragosa* характерними є 3 чітких піки ФПА на 7-му добу культивування, які достовірно не відрізняються між собою (рис. 1, *д*) та майже повна відсутність ФПА на 14-ту добу проведення експерименту (рис. 2, *д*). На 7-му добу культивування мінімальна ФПА цього штаму спостерігається за умов культивування при температурі 26, 30, 34 та 36 °С та pH 6,8 і 9 живильного середовища.

Досліджуючи ФПА культури J-2An *P. pomaceus* за умов дії різних хімічних і фізичних чинників (хімічних — це різні градації pH живильного середовища, а фізичні — різні температури культивування) не виявили здатності до гідролізу фільтрувального паперу в усіх варіантах досліду (рис. 1, *е* та 2, *е*). Зважаючи на те, що в умовах експерименту з дослідження впливу фізико-хімічних чинників в усіх варіантах досліду в КФ цього штаму не фіксували достовірної різниці за вмістом редукуючих цукрів та протеїнів порівняно з контролем (як на 7-му, так і на 14-ту добу), нормальний ріст штаму в куль-

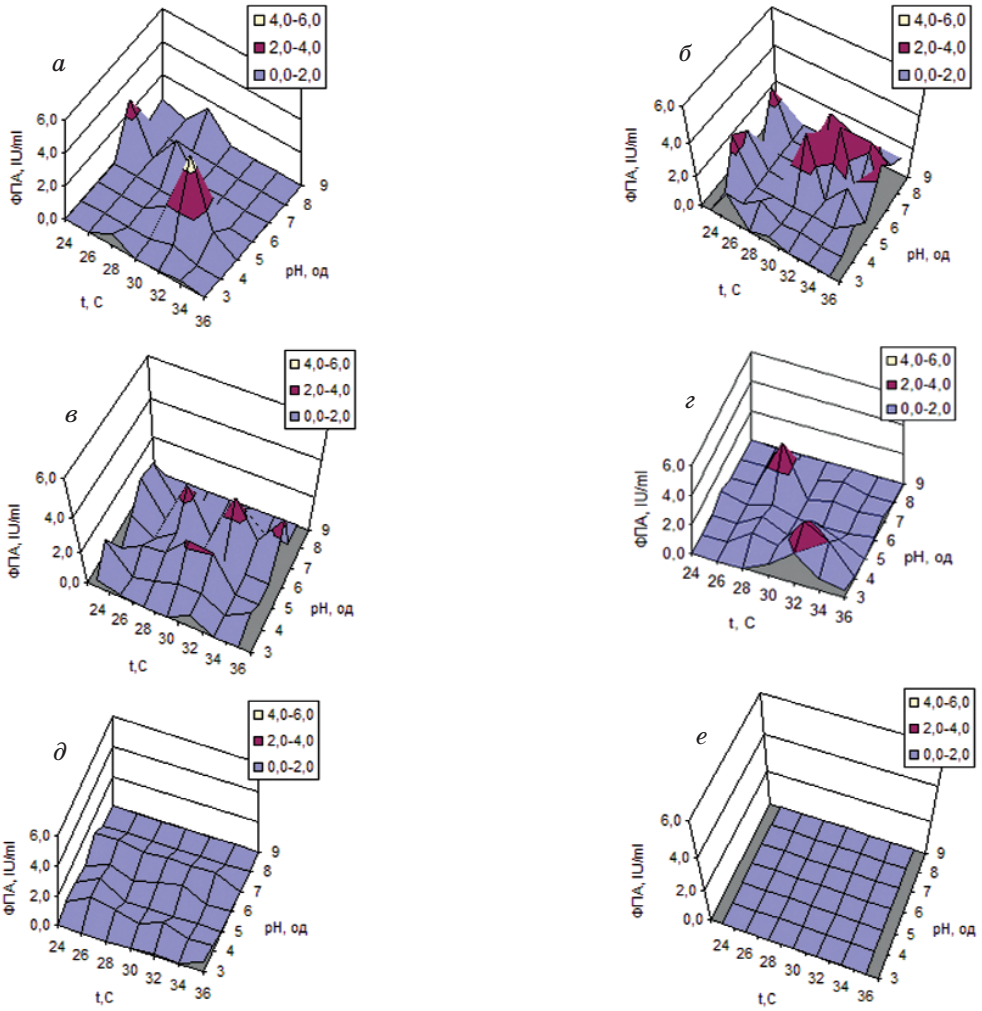

Рис. 2. **Загальна целюлозолітична активність ензимів культуральних фільтратів штамів К-1, А-Дон-02 і Д-1 *Irpex lacteus* (*а, б* та *в* відповідно); Sh-1 *Stereum hirsutum* (*г*); AnSc-1 *Daedaleopsis confragosa* f. *confragosa* (*д*) та J-2An *Phellinus pomaceus* (*е*) залежно від умов культивування на 14-ту добу експерименту**

турі на картопляно-глюкозному середовищі, на середовищі Чапека з додаванням глюкози як джерела вуглецю (8 г/л) та накопичення в КФ екзогенних протеїнів у цьому разі, наявність ФПА у штаму J-2An *P. pomaceus* на попередньому етапі досліджень можна розглядати як артефакт, адже дані не відтворено при повторному проведенні експерименту.

Паралельно з дослідженням ФПА розраховували питому ФПА (ПФПА). Результати розрахунків на 7-му і 14-ту добу культивування наведено на рис. 3 та 4 відповідно. Розраховані значення ПФПА були вищими за встановлені значення ФПА, що може бути відображенням змін у накопиченні протеїнів у КФ за експериментальних умов культивування. Залежність ПФПА від хімічних і фізичних умов культивування відмінна від залежності ФПА, що вказує на варіювання рівня накопичення протеїнів у КФ базидіоміцетів за умов дії різних фізико-хімічних чинників.

ПФПА штаму К-1 *I. lacteus* вирізнялась тим, що мала два максимуми — на 7-му та 14-ту добу культивування, достовірної різниці між якими не виявлено (рис. 3, *а* та 4, *а*). Беручи до уваги те, що загальна ФПА цього штаму за оптимізованих умов культивування вища за значення, отримане за неоптимізованих умов, а дані ПФПА достовірно між собою не відрізняються, можна зробити припущення, що за оптимізованих умов культивування підвищується також екскреція протеїнів у КФ цим штамом.

На 7-му добу культивування штаму А-Дон-02 *I. lacteus* ПФПА не мала чіткого максимуму (рис. 3, *б*), значення, отримані на живильному середовищі з pH 6 за температури 32 °С, достовірно не відрізнялись від показника, визначеного при культивуванні на середовищі з pH 7 за температури 34 °С. На 14-ту добу культивування чітко виявляються зони з мінімальною ПФПА

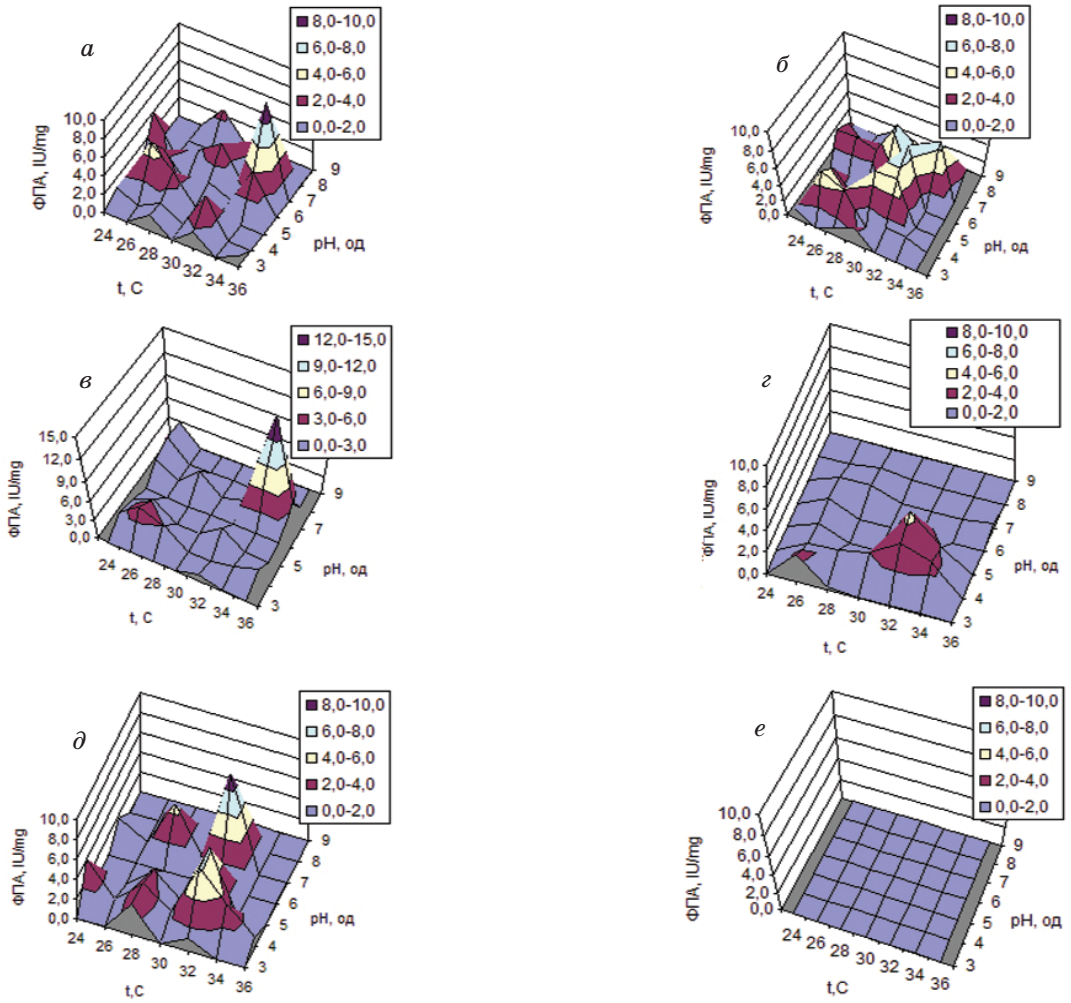

Рис. 3. **Питома целюлозолітична активність ензимів культуральних фільтратів штамів К-1, А-Дон-02 і Д-1 *Irpex lacteus* (*а, б* та *в* відповідно); Sh-1 *Stereum hirsutum* (*г*); AnSc-1 *Daedaleopsis confragosa* f. *confragosa* (*д*) та J-2An *Phellinus pomaceus* (*е*) залежно від умов культивування на 7-му добу експерименту**

(t = 26–28 °С при pH від 5 до 9 та за умов культивування при pH від 3 до 5 за t = 28–36 °С), що відображено на рис. 4, *б*. У разі вирощування штаму А-Дон-02 *I. lacteus* в оптимізованих умовах культивування значення ПФПА на 23% вище, ніж у неоптимізованих умовах.

ПФПА штаму Д-1 *I. lacteus* мала один достовірний максимум, зафіксований на 7-му добу (рис. 3, *в*). Значення ПФПА при культивуванні за оптимізованих умов на 143% перевищували ПФПА, визначене за неоптимізованих умов. Так само, як ФПА штаму Д-1 *I. lacteus* за умов вирощування під дією різних фізико-хімічних чинників — сукупна дія різних градацій pH живильного середовища (хімічних) та температури культивування (фізичних) — ПФПА на 14-ту добу культивування не має значних піків активності (рис. 4, *в*).

ПФПА штаму Sh-1 *S. hirsutum* поступово зростала із 7-ї на 14-ту добу культивування. На відміну від значень, встановлених на 7-му добу експерименту з одним чітким піком активності (рис. 3, *г*), на 14-ту добу культивування чітко виділялись 2 піки питомої активності, які достовірно між собою не відрізнялись (рис. 4, *г*). При цьому значення ПФПА штаму Sh-1 *S. hirsutum* в разі культивування в оптимізованих умовах перевищували ПФПА за неоптимізованих умов на 9%.

Для значень ПФПА штаму AnSc-1 характерна аналогічна динаміка до значень ФПА, встановлених за культивування в умовах дії хімічних і фізичних чинників різної інтенсивності. На 7-му добу культивування виявлено один чіткий максимум активності (рис. 3, *д*), який перевищував значення ПФПА, встановлене за умов вирощування в неоптимізованих умовах культивування, на

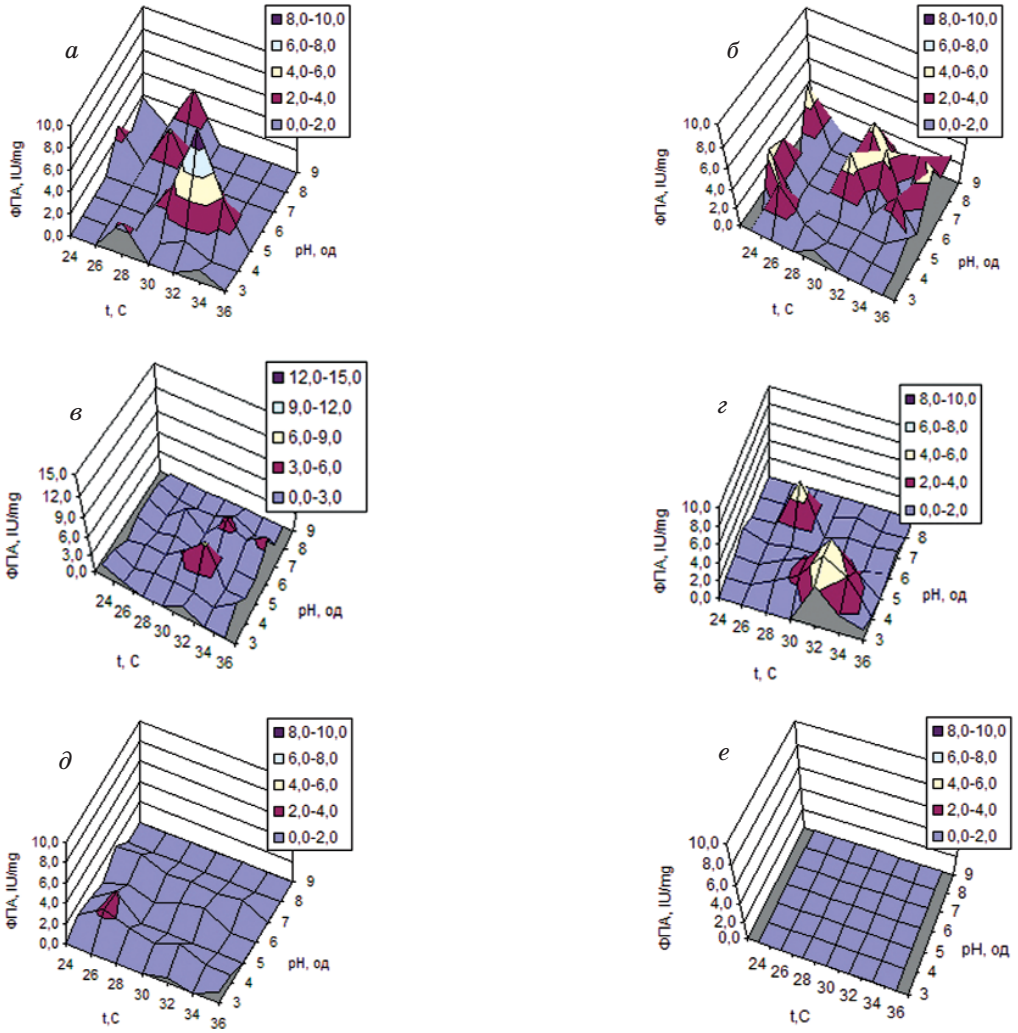

Рис. 4. **Питома целюлозолітична активність ензимів культуральних фільтратів штамів К-1, А-Дон-02 і Д-1 *Irpex lacteus* (*а, б* та *в* відповідно); Sh-1 *Stereum hirsutum* (*г*); AnSc-1 *Daedaleopsis confragosa* f. *confragosa* (*д*) та J-2An *Phellinus pomaceus* (*е*) залежно від умов культивування на 14-ту добу експерименту**

51%. На 14-ту добу культивування відбувалося зниження ПФПА цього штаму (рис. 4, *д*).

З рис. 3, *е* та 4, *е* видно, що ПФПА штаму J-2An *P. pomaceus* не виявлено за умов культивування при різних значеннях pH живильного середовища та температури вирощування.

Отже, в результаті проведеної роботи оптимізовано умови культивування базидіоміцетів — активних продуцентів целюлозолітичних ензимів з метою підвищення їхньої здатності до гідролізу фільтрувального паперу. В результаті оптимізації умов культивування значення загальної целлюлозолітичної активності зросли на 16–159%, а питомої — на 9–143% у різних штамів грибів. Встановлено, що для всіх штамів максимальна ФПА проявляється за культивування на живильному середовищі з pH 7. При цьому слід було очікувати зростання активності ензимів в умовах вирощування грибів на живильних середовищах з pH вище 7, за яких відбувається частковий гідроліз фільтрувального паперу, що слугує джерелом вуглецю у процесі культивування, однак за лужних умов спостерігалось пригнічення росту базидіоміцетів. Загальною тенденцією для всіх культур було й те, що за високих температур культивування обмежувальним чинником росту та синтезу целюлозолітичних ензимів стає саме температура, оскільки при різних значеннях початкового pH живильного середовища активність ензимів відносно фільтрувального паперу була однаковою (крім культури А-Дон-02 *I. lacteus* на 14-ту добу культивування).

Таким чином, для досягнення більшого виходу в середовище целюлозолітичних ензимів базидіоміцети слід культивувати за таких умов: штами К-1, А-Дон-02 та Д-1 *I. lacteus* — за температури 34 °С, pH 7; штам Sh-1 *S. hirsutum* — за температури 28 °С, pH 7; штам AnSc-1 *D. confragosa* f. *confragosa* — за температури 32 °С, pH 7. Максимальне значення загальної целюлозолітичної активності культуральних фільтратів відносно фільтрувального паперу за оптимізованих умов культивування виявляється у штамів К-1, А-Дон-02 та Д-1 *I. lacteus* та AnSc-1 *D. confragosa* f. confragosa — на 7-му добу культивування, а для штаму Sh-1 *S. hirsutum* — на 14-ту добу.

Роботу проведено за спонсорської підтримки громадської організації «Развитие» (Росія).

ЛІТЕРАТУРА

1. *Адаменко О., Височанський В., Льотко В. та ін.* Альтернативні палива та інші нетрадиційні джерела енергії. — Івано-Франківськ: ІМЕ, 2001. — 428 с.
2. *Кухар В. П.* Біоресурси — потенційна сировина для промислового органічного синтезу // Біотехнологія. — 2008. — Т. 1, № 1. — С. 12–27.
3. *Bhat M. K.* Cellulases and related enzymes in biotechnology // Biotech. adv. — 2000. — N 18. — P. 355-383.
4. *Xing-hua L., Hua-jun Y., Bhaskar R. et al.* The most stirring technology in future: Cellulase enzyme and biomass utilization // Afr. J. Biotech. — 2009. — V. 8 (11). — P. 2418–2422.
5. *Древаль К. Г., Бойко М. І.* Нові продуценти целюлозолітичних ензимів серед вищих базидіальних грибів // Біотехнологія. — 2011. — Т. 4, № 1. — С. 87-92.
6. *Волова Т. Г.* Биотехнология. — Новосибирск: Изд-во Сиб. отделения Рос. Акад. Наук, 1999 — 252 с.
7. *Ферментные* системы высших базидиомицетов / Под ред. Даниляк Н. И., Семичаевский В. Д., Дудченко Л. Г. и др. — К.: Наук. думка, 1989. — 280 с.
8. *Ларина Л. Н., Павлова Н. М., Шишкова Э. А. и др.* Оптимизация биосинтеза ксиланазы микроскопическим грибом *Trichoderma viridae* // Биотехнология. — 2005. — № 4. — С. 29–37.
9. *Калюжин В. А.* Влияние экологически значимых факторов на биокинетические показатели микроорганизмов: Автореф. дис. … докт. биол. наук.: 03.02.08. / Томский гос. ун-т, 2010. — 26 с.
10. *Билай В. И.* Методы экспериментальной микологии. — К.: Наук. думка, 1973. — 243 с.
11. *Ghose T. K.* Measurement of cellulase activity // Pure Appl. Chem. — 1987. — V. 59, N 2. — P. 257–268.
12. *Синицын А. П., Черноглазов В. М., Гусаков А. В.* Методы изучения и свойства целлюлозолитических ферментов // Итоги науки и техники. Сер. Биотехнология. — 1993. — Т. 25. — 152 с.
13. *Синицын А. П., Гусаков А. В., Черноглазов В. М.* Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов: Уч. пособие. — М.: Изд-во МГУ, 1995. — 224 с.
14. *Nelson N.* A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of sugars. // J. Biol. Chem. — 1944. — V. 153, N 2. — P. 375–379.
15. *Дарбре А.* Практическая химия белка: Пер. с англ. — М.: Мир, 1989. — 623 с.
16. *Приседський Ю. Г.* Статистична обробка результатів біологічних експериментів: Навч. посібник. — Донецьк: Кассіопея, 1999. — 210 с.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ БАЗИДИОМИЦЕТОВ — АКТИВНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИЧЕСКИХ ЭНЗИМОВ
I. Общая целлюлозолитическая активность культуральных фильтратов базидиомицетов

К. Г. Древаль
М. И. Бойко

Донецкий национальный университет

E-mail: k.dreval@gmail.com

Подобраны условия культивирования базидиомицетов — активных продуцентов целлюлозолитических энзимов по факторам pH питательной среды (значения pH изменялись от 3 до 9 с интервалом 1 ед) и температуры (значения варьировали от 24 °С до 36 °С с интервалом 2 °С). Определяли общую целлюлозолитическую активность всех энзимов комплекса целлюлаз по отношению к фильтровальной бумаге. Установлено, что оптимальное начальное pH питательной среды для всех штаммов равно 7, а температура культивирования — 28 °С для штамма Sh-1 *Stereum hirsutum*, 32 °С для штамма AnSc-1 *Daedaleopsis confragosa* f. *confragosa* и 34 °С для штаммов К-1, А-Дон-02, Д-1 *Irpex lacteus*. В результате оптимизации условий культивирования значения общей целлюлозолитической активности возросли на 16% для штамма К-1 *Irpex lacteus*, на 19% — для штамма А-Дон-02 *Irpex lacteus*, на 107% — для штамма Sh-1 *Stereum hirsutum* и на 159% — для штамма Д-1 *Irpex lacteus*. В то же время подбор условий культивирования позволил повысить удельную общую целлюлозолитическую активность штамма Sh-1 *S. hirsutum* на 9%, штамма А-Дон-02 *I. lacteus* — на 23%, штамма AnSc-1 *D. confragosa* f. *confragosa* — на 51% и штамма Д-1 *I. lacteus* — на 143%. Для штамма J-2An *Phellinus pomaceus* активность целлюлаз ни в одном варианте опыта не выявлена. Максимальная общая активность энзимов целлюлозолитического комплекса для культур К-1, А-Дон-02, Д-1 *Irpex lacteus* и AnSc-1 *D. confragosa* f. *confragosa* установлена на 7-е сутки эксперимента, в то время как для культуры Sh-1 *S. hirsutum* — на 14-е сутки.

Ключевые слова: базидиомицеты, целлюлозолитические энзимы, температура культивирования, pH среды, оптимизация, *Irpex lacteus*, *Stereum hirsutum*, *Daedaleopsis confragosa* f. *confragosa*, *Phellinus pomaceus*.

CULTIVATION OF BASIDIOMYCETES WHICH ARE ACTIVE PRODUCERS OF CELLULOLYTIC ENZYMES
I. Total cellulolytic activity of basidiomycetes cultural liquids

K. G. Dreval
M. I. Boyko

Donetsk National University

E-mail: k.dreval@gmail.com

Selection of the cultivation conditions for basidiomycetes which are active producers of cellulolytic enzymes was particular in initial pH of nutrient medium (the factor ranged 1 pH apart from 3 to 9 pH) and cultivation temperature (the factor ranged 2 °C apart from 24 to 36 °C). We determined the overall cellulolytic activity of all enzymes cellulase complex towards filter paper. It was determined that optimal initial pH of the nutrient medium for all strains was equal 7, and cultivation temperature was 28 °C for strain Sh-1 *Stereum hirsutum*, 32 °C for strain AnSc-1 *Daedaleopsis confragosa* f. confragosa and 34 °C for strains К-1, А-Дон-02, Д-1 *Irpex lacteus*. As a result of optimization the values of total cellulolytic activity increased by 16% for strain К-1 *Irpex lacteus*, 19% for strain А-Дон-02 *Irpex lacteus*, 107% for strain Sh-1 *Stereum hirsutum* and 159% for strain Д-1 *Irpex lacteus*. At the same time, as a result of selection of cultivation conditions specific cellulolytic activity of strain Sh-1 *S. hirsutum* increased by 9%, А-Дон-02 *I. lacteus* — by 23%, AnSc-1 *D. confragosa* f. confragosa — by 51% and Д-1 *I. lacteus* — by 143%. In strain J-2An phellinus pomaceus cellulase activity was not found.in any variant of the experiment. Maximal total cellulolytic activity of enzymes was found in cultural liquids for К-1, А-Дон-02, Д-1 *Irpex lacteus* and AnSc-1 *D. confragosa* f. on the 7th day of the experiment, while Sh-1 *S. hirsutum* — on the 14th day.

Key words: basidiomycetes, cellulolytic enzymes, cultivation temperature, acidity of nutrient medium, optimization, *Irpex lacteus*, *Stereum hirsutum*, *Daedaleopsis confragosa* f. *confragosa*, *Phellinus pomaceus*.