

УДК 577.151.54

ВЛИЯНИЕ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ НА ПРОДУКЦИЮ ЛАККАЗЫ ГРИБОМ БЕЛОЙ ГНИЛИ *Pleurotus ostreatus* D1

© 2011 г. Н. Н. Позднякова, С. В. Никифорова, О. Е. Макаров, О. В. Турковская

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, 410049

e-mail: nataliapozdnyakova@yahoo.com; ecbio@ibppm.sgu.ru

Поступила в редакцию 28.12.2010 г.

Исследовано влияние полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) на динамику продукции лакказы грибом *Pleurotus ostreatus* D1 в условиях погруженного культивирования на среде Кирка. Показано, что фенантрен, флуорантен, пирен и хризен активно индуцировали этот фермент, тогда как флуорен и антрацен влияли в меньшей степени. Дополнительное внесение ионов Mn^{2+} в среду культивирования увеличивало активность лакказы в 2 и более раз в присутствии всех исследованных ПАУ. Электрофорез в неденатурирующих условиях показал индукцию ксенобиотиками дополнительных форм лакказы. Активности лигнинолитических пероксидаз в данных условиях обнаружено не было.

Грибы белой гнили — наиболее активные деструкторы лигнина в природе. Процесс деградации лигнина катализирует внеклеточный ферментный комплекс этих грибов, включающий лигнинпероксидазу (КФ 1.11.1.14), Mn-пероксидазу (КФ 1.11.1.13), гибридную Mn-пероксидазу (КФ 1.11.1.16) и лакказу (КФ 1.10.3.2). Состав лигнинолитического ферментного комплекса у разных видов грибов белой гнили варьирует, однако наиболее широко распространены Mn-пероксидазы и лакказы [1]. Именно последние считаются самыми важными среди лигнинолитических ферментов [2].

Две наиболее вероятные биологические функции, приписываемые грибным лакказам — их участие вместе с лигнинолитическими пероксидазами в деградации лигнина и их участие в вирулентности гриба как ключевого агента в патогенезе по отношению к растению-хозяину [3]. Кроме того, считают, что грибы белой гнили секретируют лакказу для удаления токсичных фенолов, образующихся при деградации лигнина или различных ксенобиотиков ароматической природы [4–6].

Как было показано, лакказы у многих грибов могут быть как конститутивными, так и индуцибельными [3]. Индукторами лакказ обычно являются вещества, сходные по структуре с субстратами этого фермента, а также соединения, аналогичные природным ростовым субстратам грибов [3]. Так, например, Скоробогатько с соавт. [7] показали увеличение продукции лакказы в 10 раз в присутствии известного лакказного субстрата — синрингальдазина. Галловая и феруловая кислоты

со структурой, подобной модельным соединениям лигнина, также являются индукторами этого фермента [3]. В лабораторных экспериментах для увеличения продукции лакказы часто используют 2,5-ксилидин [8]. Ряд веществ, индуцирующих активность лакказы, все время пополняется, некоторые ксенобиотики и ионы металлов могут выступать в роли индукторов [9–11].

Грибы белой гнили изначально исследовались как активные деструкторы лигнина. Позднее было обнаружено, что, кроме лигнина, они способны деградировать широкий спектр ксенобиотиков ароматической природы, включая полихлорированные фенолы, нитро- и аминзамещенные фенолы, синтетические красители и полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) [2, 12–14]. Участие лакказ в деградации ПАУ обсуждается многими авторами [14, 15]. Показано, что чистый фермент может катализировать окисление ПАУ с образованием соответствующих хинонов [14, 16, 17]. Однако до настоящего времени роль лакказы в деградации ПАУ точно не определена. Сведения о влиянии этих ксенобиотиков на продукцию лигнинолитических пероксидаз и лакказ все еще ограничиваются выявлением их активности в процессе деградации ПАУ [18, 19].

Цель работы — исследование влияния ПАУ на продукцию внеклеточных лигнинолитических ферментов грибом белой гнили *Pleurotus ostreatus* D1.

МЕТОДИКА

Pleurotus ostreatus D1 был получен из Лаборатории микробиологии и микологии ИБФРМ РАН [20]. Для получения инокулята гриб культивировали на богатой среде для базидиомицетов, pH 6.0

Сокращения: ПАУ — полициклические ароматические углеводороды; АБТС — диаммонийная соль 2,2'-азино-бис-3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты; ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография.

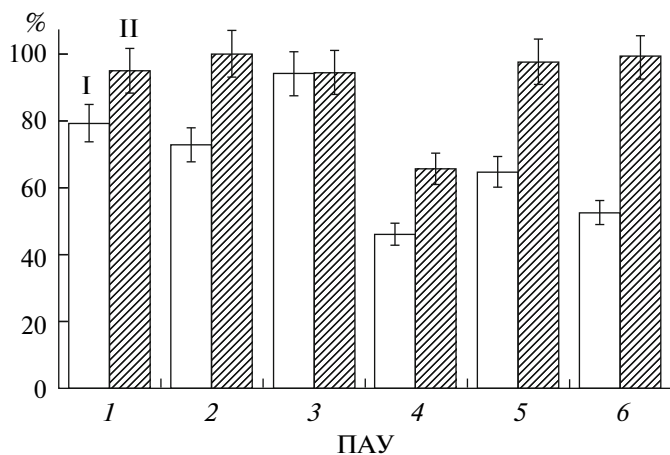


Рис.1. Убыль (%) ПАУ через 14 сут культивирования на среде Кирка при pH 4.5 (I) и pH 6.0 (II): 1 – фенантрен, 2 – антрацен, 3 – флуорен, 4 – пирен, 5 – хризен, 6 – флуорантен.

[21], при 26°C и постоянной аэрации на качалке при 150 об/мин. Исследование влияния ПАУ на продукцию ферментов проводили на среде Кирка [22]; pH среды поддерживали Na,K-фосфатным буфером (pH 6.0) или Na-титратным буфером (pH 4.5). В качестве ростового субстрата использовали 2%-ную мальтозу; в качестве ПАВ – 0.2%-ный Tween-80. Культивирование осуществляли в 250 мл колбах со 100 мл среды при 26°C в условиях постоянной аэрации на качалке при 150 об/мин. ПАУ вносили на 3 сут в 200 мкл хлороформа до конечной концентрации 50 мг/л, в контрольные варианты (без ПАУ) добавляли 200 мкл хлороформа. Mn^{2+} вносили в виде водного раствора $MnCl_2$ также на 3 сут культивирования до конечной концентрации 0.1 мМ. Активность ферментов измеряли ежедневно в течение 25 сут. Для каждого варианта были проведены 3 отдельных эксперимента, каждый эксперимент был в трех повторностях, ошибка не превышала 7%.

Остаточные ПАУ экстрагировали из среды культивирования трижды равным объемом этилацетата. Экстракты объединяли и упаривали до минимального объема. Убыль ПАУ анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) (Spectra Series P200, “Spectra-Physics Analytical, Inc.”, США) на колонке Spherisorb S5 РАН с детектором Spectra Series UV 100 (“Thermo Separation Products”, США) [23]. Продукты деградации ПАУ анализировали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах Silufol UV-254 (“Kavalier”, Чехия) в системе бензол–этанол (9 : 1) и методом газовой хроматографии (Shimadzu 2010, Япония) на колонке Equity-1 (“Supelco”, США) с пламенно-фотометрическим детектором [23]. Перед проведением газовой хроматографии метаболиты метилировали CH_3COCl [24].

Продукцию лакказы тестировали по окислению диаммонийной соли 2,2'-азино-бис-3-этилбензотиазолин-6-сульфоновой кислоты (АБТС) при 436 нм ($\epsilon = 29300 M^{-1} cm^{-1}$) согласно Нику-Паавола с соавт. [25]. Активность лигнинолитических пероксидаз измеряли по реакции окисления 2,6-диметоксифенола в присутствии Mn^{2+} (Mn-пероксидаза) и без Mn^{2+} (гибридная Mn-пероксидаза) и рассчитывали, как разницу между реакциями в присутствии H_2O_2 и без H_2O_2 [26].

За единицу активности принимали количество фермента, катализирующего образование 1 мкмоль продукта в 1 мин и выражали в условных единицах – мкмоль/мин мл ферментного препарата (ед./мл).

Электрофорез в неденатурирующих условиях проводили согласно методу Лэммли в 12%-ном полиакриламидном геле [27] с исключением из растворов додецилсульфата натрия и β -меркаптоэтанола и последующим окрашиванием геля о-дианизидином (для выявления активности лакказы) и о-дианизидином в присутствии 100 мкМ H_2O_2 и 100 мкМ $MnSO_4$ (для выявления активности пероксидаз).

Диаммонийная соль АБТС и 2,6-диметоксифенол – производства “Sigma-Aldrich” (Германия); фенантрен, антрацен, флуорен, пирен, флуорантен и хризен – производства “Fluka” (Швейцария). Остальные реактивы – “Реахим” (Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами было исследовано влияние 3- и 4-кольцевых ПАУ на продукцию лигнинолитических ферментов на среде Кирка. Эту среду часто используют для изучения метаболизма лигнина и ксенобиотиков ароматической природы, а также исследования продукции лигнинолитических ферментов [23, 28]. *P. ostreatus* D1 относится к группе грибов белой гнили, продуцирующих Mn-пероксидазу, гибридную Mn-пероксидазу и лакказу. Лигнинпероксидаза у грибов, относящихся к этому роду, до настоящего времени не обнаружена [29]. Оптимумы этих ферментов находятся в кислом диапазоне pH, поэтому на первом этапе исследований нами была использована среда Кирка с pH 4.5.

В этих условиях гриб метаболизировал все исследованные ПАУ. Использование методов ВЭЖХ, ТСХ и газовой хроматографии позволило нам выявить и идентифицировать ряд образующихся метаболитов [23, 30, 31]. К 14 сут культивирования убыль (рис. 1) составляла от 46 (для пирена) до 94% (для флуорена). Дегградация ПАУ сопровождалась продукцией лакказы в течение всего времени эксперимента, активностей лигнинолитических пероксидаз обнаружено не было. В контрольном варианте (без ПАУ) не было выявлено ни лакказы, ни пероксидаз (рис. 2а). Макси-

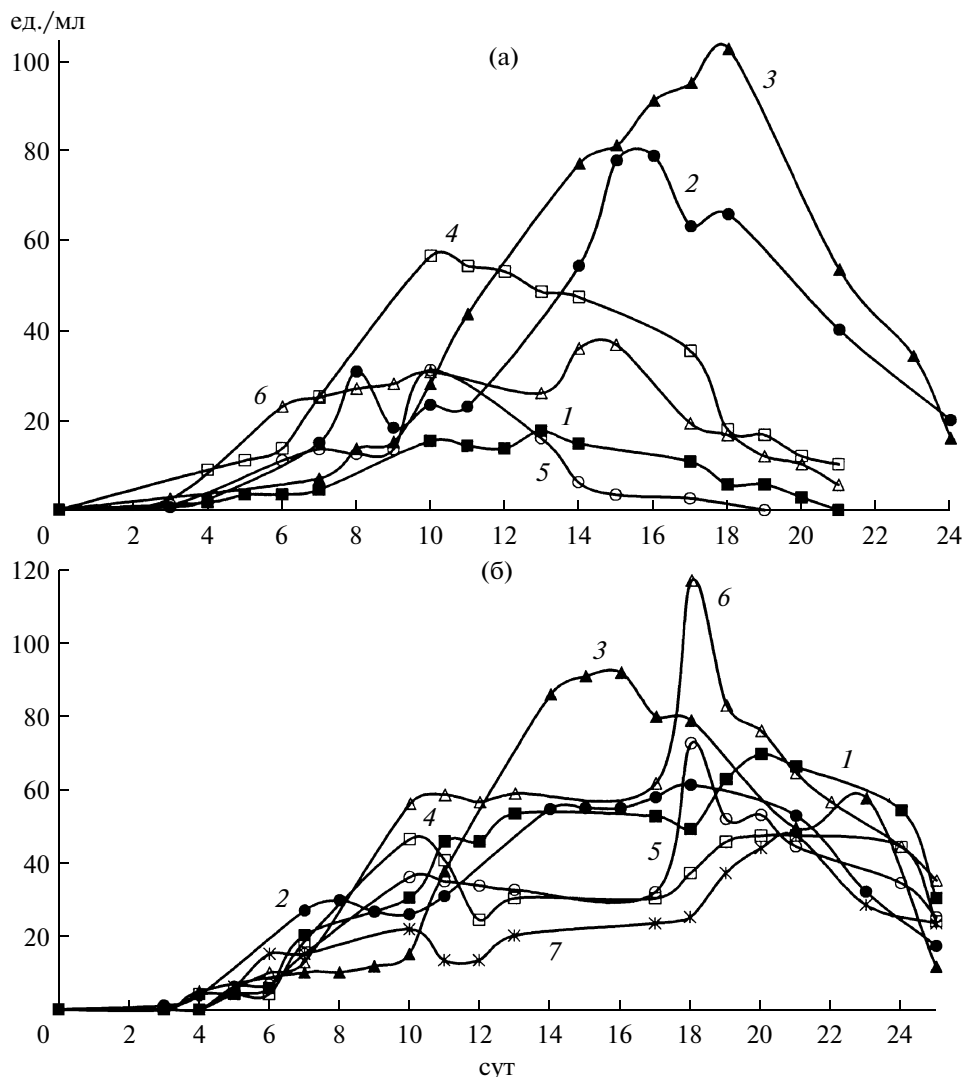


Рис. 2. Динамика продукции лакказы (ед./мл) на среде Кирка без Mn^{2+} при pH 4.5 (а) и pH 6.0 (б): 1 – фенантрен, 2 – антрацен, 3 – флуорен, 4 – пирен, 5 – хризен, 6 – флуорантен, 7 – контроль (без ПАУ).

мальная активность лакказы и время ее достижения зависели от использованного ПАУ. Наиболее активными индукторами лакказы оказались 3-кольцевые флуорен (102.5 ед./мл) и антрацен (78.7 ед./мл). В то же время активность лакказы, выявленная в присутствии фенантрена, не превышала 18.0 ед./мл. Из 4-кольцевых ПАУ наиболее активным оказался пирен, в присутствии которого активность лакказы достигала максимума 56.4 ед./мл на 10 сут (рис. 2а).

По нашим данным [23, 30–32], при культивировании гриба *P. ostreatus* D1 на богатой среде для базидиомицетов при pH 6.0 деградация ПАУ проходила более активно и сопровождалась продукцией двух лигнинолитических ферментов – лакказы и гибридной Mn-пероксидазы. Поэтому на следующем этапе мы исследовали деградацию ПАУ и продукцию внеклеточных ферментов на

среде Кирка при pH 6.0. Эти условия оказались более пригодными для деградации ПАУ: практически 100% исходно добавленных субстратов было разрушено уже к 7 сут культивирования. Исключение составил только пирен, убыль которого достигала 65.6% к 14 сут (рис. 1). В контрольном варианте (без ПАУ), в отличие от варианта с pH 4.5, обнаружена продукция лакказы (рис. 2б). Активность лакказы при pH 6.0 незначительно увеличивалась, а в присутствии некоторых ПАУ (пирен) даже уменьшалась по сравнению с соответствующими значениями активности лакказы при pH 4.5. Однако время продукции этого фермента увеличивалось. Активность лакказы при pH 4.5 к 21 сут снижалась (рис. 2а), в то время как активность при pH 6.0 была значительно выше и, в присутствии фенантрена, пирена и хризена, достигала третьего пика к 18–20 сут (рис. 2б). Вме-

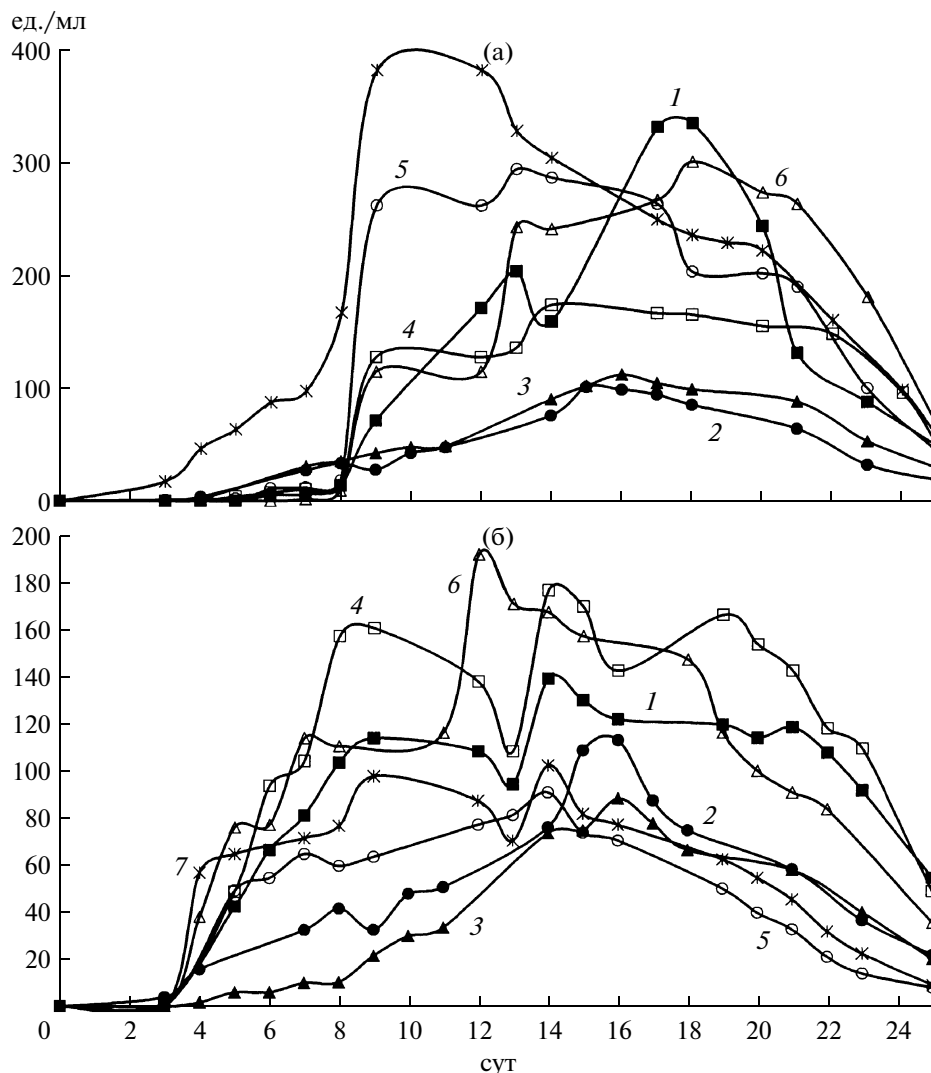


Рис. 3. Динамика продукции лакказы (ед./мл) на среде Кирка в присутствии Mn^{2+} при pH 4.5 (а) и pH 6.0 (б): 1 – фенантрен, 2 – антрацен, 3 – флуорен, 4 – пирен, 5 – хризен, 6 – флуорантен, 7 – контроль (без ПАУ).

сте с тем в этих условиях, так же, как и при pH 4.5, нами не было обнаружено продукции Mn-пероксидазы и(или) гибридной Mn-пероксидазы.

Наши предварительные исследования показали, что в условиях продукции и лакказы, и гибридной Mn-пероксидазы деградация ПАУ проходила без накопления соответствующих ПАУ-хинонов с образованием метаболитов, включающихся в основной обмен [23, 30, 31]. Принимая во внимание эти данные, мы посчитали целесообразным исследовать возможность индукции и лакказы, и лигнинолитических пероксидаз в ходе деградации ПАУ на среде Кирка. В качестве возможного индуктора был использован Mn^{2+} , который, как известно, может индуцировать продукцию не только лигнинолитических пероксидаз, но и лакказ у ряда грибов белой гнили [10].

Показано, что добавление ионов Mn^{2+} в среду культивирования увеличивало активность лакказы, однако пероксидазной активности при этом не обнаружено. Продукция лакказы увеличивалась в 2 и более раз по сравнению с вариантом без добавления Mn^{2+} со всеми исследуемыми ПАУ. Увеличивалась скорость достижения максимума и количество пиков активности. Первый пик активности смещался на более ранние сроки – 9 сут и достигал максимального значения в присутствии хризена 261.3 ед./мл (рис. 3а). Второй приходился на 13–14 сут и достигал максимального значения также в присутствии хризена 293.7 ед./мл (рис. 3а). Третий пик фиксировался на 17–18 сут и достигал максимума в присутствии фенантрена 334.7 ед./мл (рис. 3а). Однако следует отметить, что все эти значения были ниже, чем в контрольном варианте (без ПАУ), из чего можно предположить, что одновре-

менное присутствие ПАУ и Mn^{2+} в среде культивирования снижало продукцию лакказы.

Так же, как при pH 4.5, добавление ионов Mn^{2+} в среду культивирования с pH 6.0 значительно увеличивало активность лакказы и количество пиков ее активности до 5. Активности пероксидазы при этом не было обнаружено. Активность лакказы в присутствии флуорантена (рис. 3б) возросла почти в 2 раза по сравнению с контролем, и это было максимальное значение в данных условиях (191.7 ед./мл). Ферментативная активность в присутствии пирена (рис. 3б) увеличивалась в 1.5 раза по сравнению с соответствующим контролем и в 3.5 раза — по сравнению с вариантом без добавления ионов Mn^{2+} и составляла 176.5 ед./мл. Это значение было максимальным по сравнению с соответствующими показателями активности в других условиях в присутствии этого ПАУ. Активность фермента в присутствии фенантрена и антрацена (рис. 3б) увеличивалась незначительно по сравнению с контролем. Хризен и флуорен ингибировали продукцию лакказы в данных условиях (рис. 3б).

В доступной нам литературе обнаружены лишь единичные сообщения о влиянии ПАУ на продукцию лигнинолитических ферментов. Так, Безалел с соавт. показали, что продукция лакказы другим штаммом гриба *P. ostreatus* не зависела от наличия в среде культивирования фенантрена, а флуорен увеличивал продукцию этого фермента примерно в 1.5 раза [19]. Флуорен также стимулировал продукцию лакказы *Trametes versicolor* в 4.3 раза [18]. На богатой среде для базидиомицетов *P. ostreatus* продуцировал лакказу независимо от наличия в среде культивирования пирена, а флуорантен и бенз[а]пирен примерно в 1.5 раза ингибировали ее продукцию [19]. В то же время другие авторы показали, что бенз[а]пирен не оказывал сколько-нибудь заметного влияния на продукцию лакказы грибами *Fusarium solani* и *F. oxysporum* [33] и *T. versicolor* [18]. Во всех этих исследованиях активность лакказы тестировалась в определенные моменты времени и динамика активности этого фермента не выявлялась. В недавно опубликованной нами работе представлена динамика продукции лакказы и гибридной Mn-пероксидазы в процессе деградации ПАУ *P. ostreatus* D1, однако в этом случае культивирование гриба проводили на богатой среде [32].

Лакказы в основном синтезируются как ряд изоферментов, которые кодируются семейством генов. В ответе на индукторы экспрессия лакказных генов у разных грибов варьирует. Например, в случае *Fomes annosus*, *Pholiota mutabilis*, *P. ostreatus*, и *T. versicolor* лакказы, выделенные из культур, индуцированных ксилитином, заметно отличались от неиндуцированных форм. В каждой индуцированной культуре этих грибов появлялась только одна форма индуцированного фермента, независимо от количе-

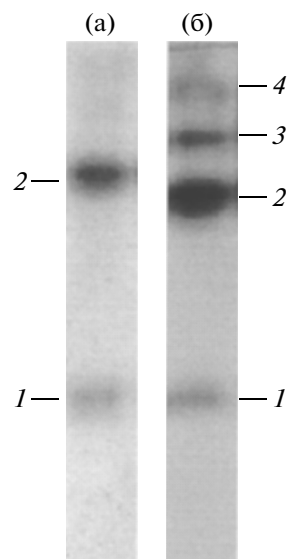


Рис. 4. Электрофореграмма лакказ (1–4), продуцируемых *P. ostreatus* D1, при культивировании на среде Кирка при pH 6.0: а – контроль (без ПАУ), б – в присутствии ПАУ (фенантрен).

ства конститутивных. Индуцированные формы лакказы из *F. annosus*, *P. ostreatus* и *T. versicolor* мигрировали в геле быстрее, чем конститутивные, тогда как индуцированный фермент из *P. mutabilis* мигрировал медленнее, чем его конститутивная форма. Вместе с тем новые формы лакказы не появлялись в индуцированных культурах *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia praticola* и *Podospora anserine* [8]. Наличие двух форм лакказы было показано в присутствии феруловой и 4-гидроксибензойной кислот, п-гидроксibenзальдегида, вератровой кислоты, $CuSO_4$ и ксилитина у гриба *Volvariella volvacea*, тогда как без добавления индуктора фермент не продуцировался [34].

Нами был проведен электрофоретический анализ ферментов, продуцируемых *P. ostreatus* D1 в ходе деградации ПАУ. На протяжении всего времени культивирования, независимо от использованного ПАУ и(или) Mn^{2+} , обнаружена активность только лакказы. Дополнительное окрашивание геля о-дианизидином в присутствии Mn^{2+} и H_2O_2 не выявило наличия дополнительных полос, что также подтверждало отсутствие Mn-пероксидазы и(или) гибридной Mn-пероксидазы в данных условиях.

Показано, что в контрольном варианте при pH 6.0 гриб продуцировал 2 формы лакказы (рис. 4а). Внесение в среду культивирования ПАУ и(или) Mn^{2+} приводило к появлению двух дополнительных форм (независимо от pH среды), мигрирующих в геле медленнее конститутивных (рис. 4б). Аналогичные данные были получены нами при электрофоретическом исследовании лакказ, про-

дуцируемых грибом на богатой среде. В этом случае присутствие ПАУ в среде культивирования также приводило к появлению дополнительной формы лакказы [32].

Таким образом, наши исследования показали, что, независимо от использованного рН среды, деградация ПАУ сопровождалась продукцией только лакказы на протяжении всего времени культивирования. Максимальная активность, время достижения пика активности фермента, а также количество пиков зависели от использованного ПАУ и условий культивирования (рН среды и наличие Mn^{2+}). Присутствие ПАУ и(или) Mn^{2+} в среде культивирования гриба индуцирует продукцию нескольких форм лакказы, по меньшей мере, четырех. Продукции лигнинолитических пероксидаз в данных условиях выявлено не было.

Авторы благодарят В.Е. Никитину (ИБФРМ РАН) за предоставленный штамм гриба *Pleurotus ostreatus* D1.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Wong D.W.S. // Appl. Biochem. Biotechnol. 2009. V. 157. № 1. P. 174–209.
2. Field J.A., de Jong E., Feijoo-Costa G., de Bont J.A.M. // Trends Biotechnol. 1993. V. 11. № 1. P. 44–49.
3. Baldrian P. // FEMS Microbiol. Rev. 2006. V. 30. № 2. P. 215–242.
4. Rama R., Mougin C., Boyer F.-D., Kollmann A., Malosse G., Sigoillot J.-C. // Biotechnol. Lett. 1998. V. 20. № 9. P. 1101–1104.
5. Jolivat C., Raynal A., Caminade E., Kokel B., Le Coffic F., Mougin C. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1999. V. 51. № 5. P. 676–681.
6. Mougin G., Boyer F.-D., Caminade E., Rama R. // J. Agric. Food Chem. 2000. V. 48. № 10. P. 4529–4534.
7. Скоробогатько О.В., Степанова Е.В., Гаврилова В.П., Ярополов А.И. // Прикл. биохимия и микробиология. 1996. Т. 32. № 6. С. 524–528.
8. Bollag J.-M., Leonowicz A. // Appl. Environ. Microbiol. 1984. V. 48. № 4. P. 849–854.
9. Lee I.-Y., Jung K.-K., Lee C.-K., Park Y.-H. // Biotechnol. Lett. 1999. V. 21. № 11. P. 965–968.
10. Scheel T., Hofer M., Ludwig S., Holker U. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2000. V. 54. № 5. P. 686–691.
11. Crowe J.D., Olsson S. // Appl. Environ. Microbiol. 2001. V. 67. № 5. P. 2088–2094.
12. Reddy C.A. // Curr. Opin. Biotechnol. 1995. V. 6. № 3. P. 320–328.
13. Wesenberg D., Buchon F., Agathos S.N. // Biotechnol. Lett. 2002. V. 24. № 12. P. 989–993.
14. Pickard M.A., Roman R., Tinoco R., Vazquez-Duhalt K. // Appl. Environ. Microbiol. 1999. V. 65. № 9. P. 3805–3809.
15. Cajthaml T., Erbanova P., Kollmann A., Novotny G., Sasek V., Mougin C. // Folia Microbiol. 2008. V. 53. № 4. P. 289–294.
16. Majcherczyk A., Johannes C., Huttermann A. // Enzyme Microb. Technol. 1998. V. 22. № 5. P. 335–341.
17. Pozdnyakova N., Rodakiewicz-Nowak J., Turkovskaya O., Haber J. // Enzyme Microb. Technol. 2006. V. 39. № 6. P. 1242–1249.
18. Mougin C., Kollmann A., Jolivat C. // Biotechnol. Lett. 2002. V. 24. № 2. P. 139–142.
19. Bezalel L., Hadar Y., Cerniglia C.E. // Appl. Environ. Microbiol. 1996. V. 62. № 1. P. 292–295.
20. Никитина В., Маринина Н., Болдырев В., Озеров П. // Бюллетень ботанического сада Саратовского государственного университета. 2003. Т. 2. С. 169–176.
21. Bezalel L., Hadar Y., Fu P.P., Freeman J.P., Cerniglia C.E. // Appl. Environ. Microbiol. 1996. V. 62. № 7. P. 2547–2553.
22. Kirk T.K. // Holzforschung. 1975. V. 29. № 2. S. 99–107.
23. Pozdnyakova N.N., Nikiforova S.V., Makarov O.E., Chernyshova M.P., Pankin K.E., Turkovskaya O.V. // World J. Microbiol. Biotechnol. 2010. V. 26. № 1. P. 205–211.
24. Горяев М.И., Евдакова Н.А. Справочник по газовой хроматографии органических кислот. Алма-Ата: “Наука” Казахской ССР, 1977. 552 с.
25. Niku-Paavola M.-L., Karhunen E., Salola P., Paunio V. // Biochem. J. 1988. V. 254. № 6. P. 877–883.
26. Heinfling A., Martinez M.J., Martinez A.T., Bergbauer M., Szewzyk U. // FEMS Microbiol. Lett. 1998. V. 165. № 1. P. 43–50.
27. Laemmli U.K. // Nature (London). 1970. V. 227. № 5259. P. 680–685.
28. Morgan P., Lewis T., Watkinson R.J. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 1991. V. 34. № 5. P. 693–696.
29. Ruiz-Duenas F.J., Camarero S., Perez-Boada M., Martinez M., Martinez A. // Biochem. Soc. Transact. 2001. V. 29. № 2. P. 116–122.
30. Никифорова С.В., Позднякова Н.Н., Макаров О.Е., Чернышова М.П., Турковская О.В. // Микробиология. 2010. Т. 79. № 4. С. 481–485.
31. Позднякова Н.Н., Турковская О.В., Макаров О.Е., Никитина В.Е. // Труды междунар. конф. “Грибы в природных и антропогенных экосистемах”, Россия, Санкт-Петербург, 2005. Т. 2. С. 87–92.
32. Pozdnyakova N., Nikiforova S., Turkovskaya O. // Cent. Eur. J. Biol. 2010. V. 5. № 1. P. 83–94.
33. Verdin A., Sahraoui A.L.-H., Durand R. // Int. Biodeteriorat. Biodegradat. 2004. V. 53. P. 65–70.
34. Chen S., Ma D., Ge W., Buswell J.A. // FEMS Microbiol. Lett. 2003. V. 218. № 1. P. 143–148.

Effect of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Laccase Production by White Rot Fungus *Pleurotus ostreatus* D1

N. N. Pozdnyakova, S. V. Nikiforova, O. E. Makarov, and O. V. Turkovskaya

Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Saratov, 410049 Russia

e-mail: nataliapozdnyakova@yahoo.com, ecbio@ibppm.sgu.ru

Received December 28, 2010

Abstract—The effect of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on the dynamics of laccase production by the fungus *Pleurotus ostreatus* D1 under conditions of submerged cultivation on Kirk's medium has been studied. It has been shown that phenanthrene, fluoranthene, pyrene, and chrysene actively induce this enzyme, whereas fluorene and anthracene had a smaller effect. Addition of Mn^{2+} ions to cultivation medium elevates the laccase activity twofold and more in the presence of all the studied PAHs. Electrophoresis under non-denaturing conditions demonstrates induction of additional laccase species by xenobiotics. Ligninolytic peroxidase activities are undetectable under the conditions used.