

УДК 632.4:57.03

ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИЕ СВОЙСТВА СИБИРСКИХ ШТАММОВ *FOMITOPSIS PINICOLA* (SW.) P. KARST.

© Ю.А. Литовка^{1,2*}, И.Н. Павлов¹, Т.В. Рязанова², А.В. Газизулина², Н.А. Чупрова²

¹Институт леса им. В.Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук, ФИЦ КНЦ СО РАН, Академгородок, 50-28, Красноярск, 660036 (Россия), e-mail: litovkajul@rambler.ru

²Сибирский государственный университет науки и технологий им. академика М.Ф. Решетнёва, пр. Мира, 82, Красноярск, 660049 (Россия)

Fomitopsis pinicola (Sw.) P. Karst. благодаря высокой скорости роста *in vitro*, широкому применению в медицине и образованию ферментов, расщепляющих растительные полимеры, может считаться одним из наиболее перспективных ксилотрофных базидиомицетов для биотехнологии, включая биоконверсию растительных отходов. В работе представлены результаты исследования дереворазрушающих свойств сибирских штаммов *F. pinicola*, изолированных в чистую культуру из плодовых тел, произраставших на древесине *Abies sibirica* Ledeb, *Pinus sylvestris* Ledeb, *Pinus sibirica* Du Tour и *Larix sibirica* Ledeb в хвойных лесах Емельяновского района Красноярского края (56°09' – 56°22' С; 92°10' – 92°58' В).

Проведен скрининг культур по ростовым параметрам и динамике ферментативной активности при культивировании на целлюлозосодержащих средах: радиальная скорость роста грибов составляет 1,1–3,3 мм/сут.; ростовой коэффициент – 10–42; активность ферментов, гидролизующих натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы, находится в диапазоне 0,05–0,39 ед./мл с максимумом на 7–9-е сутки культивирования. Максимальная дереворазрушающая активность *F. pinicola* при твердофазной ферментации растительных отходов отмечена на древесине сосны обыкновенной и лиственницы сибирской – убыль массы субстратов составила, соответственно, 16 и 20%. На опилках *Pinus sylvestris* сумма полисахаридов уменьшилась в 1,2 раза в большей степени за счет ферментализации трудногидролизуемой фракции; содержание лигнинных веществ существенно не изменилось. На опилках *Larix sibirica* содержание полисахаридов уменьшилось в 1,3 раза; количество лигнинных веществ – в 1,2 раза по сравнению с исходным субстратом.

Ключевые слова: *Fomitopsis pinicola*, биодеструкция, ксилотрофные базидиомицеты, лигноуглеводный комплекс, растительные субстраты, твердофазное культивирование, целлюлолитическая активность.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Красноярского края в рамках научного проекта № 16-44-242145 р_офи_м.

Введение

Базидиальные дереворазрушающие грибы являются неотъемлемой частью лесных экосистем раз-

личного генезиса, выполняя широкий спектр функций, включая перераспределение энергии за счет биоконверсии природных полимеров. Одним из ведущих механизмов биодegradации лигноцеллюлозных субстратов является действие сложного мультиэнзимного комплекса преимуще-

ственно с участием гидролитических и окислительно-восстановительных ферментов, что открывает широкие возможности практического исполь-

зования ксилотрофных макромицетов в качестве деструкторов сложных природных биополимеров или синтетических токсикантов и обуславливает

поиск новых активных продуцентов [1–4].

Литовка Юлия Александровна – доцент кафедры химической технологии древесины и биотехнологии, кандидат биологических наук, e-mail: litovkajul@rambler.ru

Павлов Игорь Николаевич – заведующий лабораторией лесных культур, микологии и фитопатологии, доктор биологических наук, профессор, e-mail: forester24@mail.ru

Рязанова Татьяна Васильевна – профессор кафедры химической технологии древесины и биотехнологии, доктор технических наук, e-mail: tatyana-htd09@mail.ru

Газизулина Алена Владимировна – магистр кафедры химической технологии древесины и биотехнологии, e-mail: gazizulina2017@mail.ru

Чупрова Нелли Александровна – доцент кафедры химической технологии древесины и биотехнологии, кандидат технических наук, e-mail: tatyana-htd09@mail.ru

* Автор, с которым следует вести переписку.

Грибы рода *Fomitopsis* являются ксилотрофами-космополитами, осуществляющими биодеструкцию различных древесных пород, особенно активно в насаждениях сосны и пихты. *Fomitopsis pinicola* (трутовик окаймленный) начинает свой жизненный цикл как возбудитель мягкой бурой гнили на ослабленных живых деревьях, после чего продолжает расти сапротрофно на пнях, сухостое и валежной древесине в различной стадии разложения. Дереворазрушающие свойства гриба обусловлены наличием широкого спектра целлюлолитических ферментов, участвующих в деструктивном разложении древесины за счет гидролиза полисахаридной составляющей. Разложение лигнина ограничено деметилированием, в связи с чем лишь незначительная его часть может окисляться до CO_2 [5–9].

В настоящее время грибные целлюлазы находят все более широкое применение в технологиях переработки отходов лесопромышленного комплекса, текстильной, целлюлозно-бумажной и пищевой отраслях промышленности. Относительно высокая скорость роста *F. pinicola*, выгодно отличающая его от других базидиальных грибов, и наличие ферментов целлюлолитического комплекса позволяют рассматривать представителей этого вида как потенциальных продуцентов ферментов для эффективной конверсии разнообразных растительных отходов [1, 2, 5, 10, 11]. В связи с чем целью данного исследования являлась оценка способности сибирских штаммов *F. pinicola* продуцировать целлюлолитические ферменты и биодеструктировать древесину хвойных пород при твердофазном культивировании.

Экспериментальная часть

Объектом исследования служили сибирские штаммы макроскопического гриба *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst., выделенные в чистую культуру из плодовых тел, произраставших на древесине *Abies sibirica*, *Pinus sylvestris*, *Pinus sibirica* и *Larix sibirica*. Выделение чистых культур осуществляли методом накопления во влажной камере с последующим пересевом на агаризованные среды [12]. Микроморфологические особенности грибов изучали методами фазово-контрастной и светопольной микроскопии в витальных препаратах и микрокамерах Ван-Тигема [12, 13]. Ростовые параметры (радиальная скорость роста и ростовой коэффициент) [13] определяли при температуре 24 °С на натуральной (морковный агар) и синтетической (Норкранс-агар) средах, среде Гетчинсона с целлюлозой в качестве единственного источника углеродного питания, а также на измельченных растительных субстратах.

Твердофазное культивирование осуществляли на опилках *Abies sibirica*, *Larix sibirica*, *Pinus sibirica*, *Pinus sylvestris* и *Populus tremula* при влажности субстратов 70% и температуре 24 °С в течение 14 суток. Исходным объектом исследований служили растительные субстраты, высушенные до воздушно-сухого состояния и проходящие через сито с отверстием 3 мм. Для определения биохимических характеристик субстратов до и после культивирования использовали методы, принятые в химии древесины [14].

Для количественного определения целлюлазной активности осуществляли поверхностное жидкофазное культивирование грибов при температуре 24 °С в течение 11 суток на жидкой модифицированной среде Норкранс (г/л): глюкоза – 1, $(\text{NH}_4)_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ – 1, KH_2PO_4 – 1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5, микрокристаллическая целлюлоза – 5; $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$ – 5 мг, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 4,4 мг, MnSO_4 – 5 мг, CaCl_2 – 55,5 мг, витамин B_1 – 40 мг. В качестве инокулюма использовали агаровые блоки диаметром 13 мм предварительно выращенной семисуточной культуры гриба из расчета 10 блоков на колбу объемом 250 мл. Активность карбоксиметилцеллюлозы определяли методом Нельсона-Шомоди, основанном на измерении скорости образования восстанавливающих сахаров при ферментативном гидролизе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ). За единицу КМЦ-азной активности принимали начальную скорость гидролиза КМЦ, равную 1 микромолю восстанавливающих сахаров в глюкозном эквиваленте, образующихся за 1 мин при 50 °С и рН 5,0 (0,05М Na-ацетатный буфер) [15].

Обсуждение результатов

Штаммам, изолированным из плодовых тел, в лабораторных условиях на питательных средах присущи макро- и микроморфологические особенности, характерные для вида *F. pinicola*. Воздушный мицелий пушистый, ватообразный, цвет белый, реверс не окрашен; запах слабый грибной. Мицелий септированный, боковые гифы формируются быстро под прямым и острым углом; толщина гиф – 1,0–3,5 мкм. Частота формирования анастомозов умеренная; пряжки многочисленные (рис. 1 А, Б). По мере старения культуры образуются мицелиальные вздутия различной формы, содержимое клеток быстро вакуолизируется, формируются внеклеточные игловидные и ромбовидные кристаллы. На твердых и жидких средах (рис. 1В) формируются колонии с хорошо развитым ватообразным воздушным мицелием белого цвета.

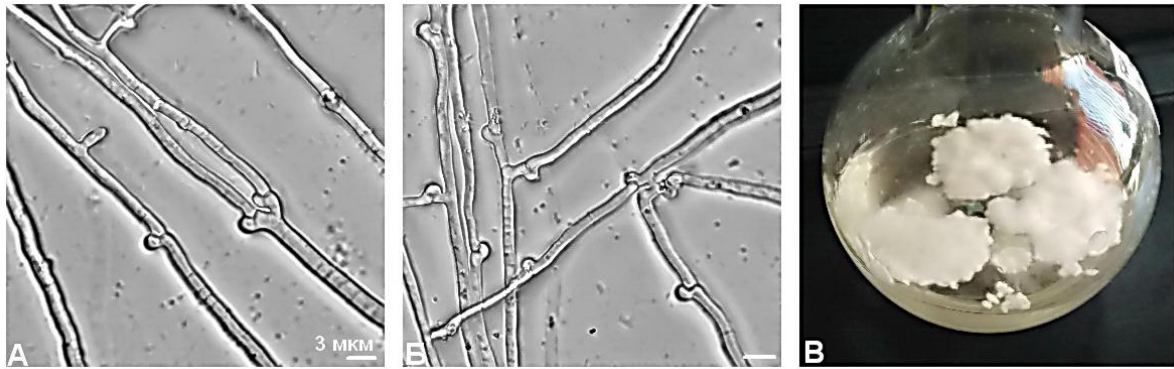


Рис. 1. Микроструктуры в витальных препаратах (А, Б) и морфология колонии *Fomitopsis pinicola* на березовом соке

Культивирование штаммов *F. pinicola* на питательных средах позволило установить, что наиболее благоприятными для их роста являются среды на основе натуральных компонентов (сусловый и морковный агар). Средняя радиальная скорость роста варьировала в пределах 4,7–5,6 мм/сут.; ростовой коэффициент составил 91–120, что характеризует штаммы как быстрорастущие. Максимальная скорость роста на этих средах отмечена на 7-е сутки культивирования. При смене натуральной среды на синтетическую происходит замедление ростовых процессов более чем в два раза и изменение морфологии (высота мицелия, плотность и структура колонии), что свидетельствует о различной адаптации грибов к составу ростового субстрата. Радиальная скорость роста на среде Норкранс составила 2,2–2,8 мм/сут.; значения ростового коэффициента варьировали в диапазоне 40–56, что характеризует штаммы как медленно- и среднерастущие. В связи с чем хранение культур в лабораторных условиях и получение инокулята для биоконверсии растительных субстратов целесообразно осуществлять на натуральных питательных средах.

Для скрининга штаммов с максимальной дереворазрушающей активностью провели их культивирование на среде Гетчинсона с целлюлозой в качестве единственного источника углерода, а также измельченных опилках осины, лиственницы, пихты, сосны обыкновенной и сосны сибирской (табл. 1). Установлено, что скорость колонизации поликомпонентных лигноуглеводных субстратов варьирует в пределах 1,6–3,3 мм/сут. при значениях ростового коэффициента 10–42; на целлюлозосодержащей агаризованной среде скорость роста ниже в среднем в 1,5 раза (1,1–2,3 мм/сут.) при аналогичных значениях ростового коэффициента. Максимальные ростовые параметры на всех изученных субстратах характерны для штамма Fr5-15: радиальная скорость роста составила 2,3–3,3 мм/сут.; ростовой коэффициент – 21–43 с наибольшими показателями на древесине сосны сибирской и обыкновенной, а также среде Гетчинсона (40–42).

Скрининг культур по целлюлолитической активности осуществляли при жидкофазном культивировании на модифицированной среде Норкранс с целлюлозой в течение 11 суток (рис. 2). У всех изученных штаммов обнаружена КМЦ-азная активность, начиная с третьих суток культивирования, значения которой варьировали от 0,05 до 0,39 ед./мл с максимумом на 7–9-е сутки. Максимальной ферментативной активностью характеризуется штамм Fr5-15 (пределы варьирования – 0,17–0,39 ед./мл; средний показатель – 0,31 ед./мл).

Таблица 1. Ростовые параметры сибирских штаммов *Fomitopsis pinicola* на целлюлозосодержащих субстратах

Штамм	Среда Гетчинсона с целлюлозой	Измельченные опилки				
		<i>Abies sibirica</i>	<i>Larix sibirica</i>	<i>Pinus sibirica</i>	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Populus tremula</i>
Fr1-15	<u>1,1±0,07*</u>	<u>1,9±0,08</u>	<u>2,2±0,14</u>	<u>2,1±0,15</u>	<u>2,2±0,15</u>	<u>1,6±0,11</u>
	10	11	12	16	17	10
Fr2-15	<u>1,5±0,04</u>	<u>2,5±0,11</u>	<u>2,5±0,18</u>	<u>2,5±0,18</u>	<u>2,6±0,12</u>	<u>2,5±0,14</u>
	12	14	14	18	20	26
Fr3-15	<u>1,9±0,14</u>	<u>2,6±0,11</u>	<u>2,6±0,11</u>	<u>2,7±0,18</u>	<u>2,8±0,11</u>	<u>2,5±0,18</u>
	35	17	20	25	25	28
Fr4-15	<u>1,7±0,11</u>	<u>2,3±0,18</u>	<u>2,5±0,11</u>	<u>2,5±0,07</u>	<u>2,4±0,14</u>	<u>2,2±0,11</u>
	33	15	14	20	23	20
Fr5-15	<u>2,3±0,11</u>	<u>2,6±0,11</u>	<u>2,9±0,07</u>	<u>3,2±0,15</u>	<u>3,3±0,15</u>	<u>2,9±0,14</u>
	40	25	34	42	40	33

Примечание. *В числителе – радиальная скорость роста, X_{cp}±m (мм/сут.); в знаменателе – ростовой коэффициент.

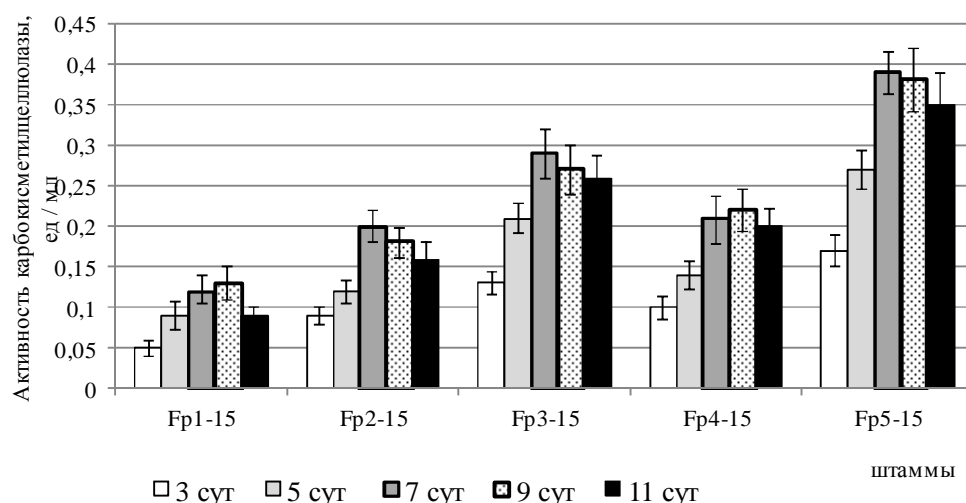


Рис. 2. Динамика ферментативной активности сибирских штаммов *Fomitopsis pinicola* на целлюлозосодержащей среде Норскранс

По совокупности ростовых параметров на целлюлозосодержащих субстратах и способности к ферментативному гидролизу натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы штамм Fp5-15 *F. pinicola* был отобран для дальнейшего исследования дереворазрушающей активности при твердофазной ферментации растительных субстратов.

Для оценки способности *F. pinicola* биодеструктировать лигноуглеводный комплекс древесины в первую очередь осуществляли его культивирование на опилках *P. sylvestris* и *P. sibirica*, исходя из большей приуроченности вида к этим древесным породам, с последующим определением биохимических характеристик субстрата до и после культивирования.

Результаты определения химического состава исходного сырья показали, что в древесине *P. sibirica* содержание водорастворимых веществ в 2,4 раза выше, чем в древесине *P. sylvestris*. По остальным определяемым параметрам количественный состав практически идентичен: сумма полисахаридов – 57–59% от общего количества абсолютно сухого субстрата; доля трудногидролизующих полисахаридов – 39–42%; легкогидролизующих полисахаридов – 17–18%. В целом, на долю лигноуглеводного комплекса приходится 92,3 и 91,2% соответственно для сосны сибирской и сосны обыкновенной, что свидетельствует о перспективности их применения для биологической конверсии (табл. 2).

При твердофазном культивировании штамма Fp5-15 *F. pinicola* на опилках сосны обыкновенной и сибирской в течение 14 суток отмечена общая тенденция снижения количества полисахаридов, в большей степени за счет трудногидролизующей фракции. Максимальная дереворазрушающая активность отмечена на опилках сосны обыкновенной – убыль массы субстрата составила 16% на фоне значительного увеличения концентрации водорастворимых веществ (в 3,5 раза). Сумма полисахаридов уменьшилась в 1,2 раза в сравнении с исходным субстратом, в основном за счет ферментализации трудногидролизующих полисахаридов, количество которых сократилось в 1,4 раза. Содержание лигниновых веществ изменилось несущественно, что характерно для возбудителей бурой гнили, гидролизующих преимущественно целлюлозную составляющую древесины.

Таблица 2. Химический состав древесины сосны до и после биодеструкции штаммом Fp5-15 *Fomitopsis pinicola*

Наименование показателя	Содержание, % а.с.с. с учетом убыли массы образца			
	исходный субстрат		субстрат после биодеструкции	
	<i>Pinus sibirica</i>	<i>Pinus sylvestris</i>	<i>Pinus sibirica</i>	<i>Pinus sylvestris</i>
Водорастворимые вещества	5,9	2,5	6,6	8,7
Легкогидролизующие полисахариды	16,7	18,2	13,5	15,4
Трудногидролизующие полисахариды	41,9	38,6	31,9	28,5
Сумма полисахаридов	58,6	56,8	45,4	43,9
Негидролизующий остаток	33,7	34,4	31,9	33,6
Лигноуглеводный комплекс	92,3	91,2	77,3	77,5
Убыль массы, %	–	–	12,2	16,2

Аналогичные исследования были проведены на опилках *Abies sibirica* и *Larix sibirica*, поскольку эти древесные породы также являются естественной средой обитания *F. pinicola* и подвержены значительной биодеструкции под действием ферментных систем гриба. Определение химического состава исходного сырья выявило существенные различия в количественном содержании отдельных компонентов. В древесине лиственницы сибирской содержание водорастворимых веществ и легкогидролизуемых полисахаридов выше в 2,9 и 1,2 раза соответственно, а количество трудногидролизуемых полисахаридов ниже в 1,2 раза по сравнению с древесиной пихты сибирской (табл. 3). На долю лигноуглеводного комплекса приходится 90,7 и 89,9% от общего количества абсолютно сухого субстрата для пихты и лиственницы соответственно, что также позволяет считать их перспективными субстратами для биоконверсии дереворазрушающими базидиомицетами.

При твердофазной ферментации опилок пихты и лиственницы отмечена различная дереворазрушающая активность исследуемого штамма. Максимальная степень биоконверсии характерна для лиственничного субстрата: убыль массы составила 20%, что в 1,3 раза превышает аналогичный показатель на сосновых опилках. Сумма полисахаридов уменьшилась в среднем в 1,3 раза за счет относительно равномерного сокращения доли легко- и трудно гидролизуемых полисахаридов. Содержание водорастворимых веществ достоверно не изменилось, количество лигниновых веществ уменьшилось в 1,2 раза, что соответствует данным ряда исследователей, сообщающих о наличии у *F. pinicola* лигнин-разрушающих ферментов [16, 17].

Таким образом, в ходе проведенного скрининга был отобран штамм Fp5-15 базидиального гриба *F. pinicola*, характеризующийся максимальными ростовыми показателями на целлюлозосодержащих субстратах и активностью карбоксиметилцеллюлозы. Штамм способен биодеструктировать опилки хвойных пород, отдавая предпочтение полисахаридной фракции, включая трудногидролизуемые полисахариды. Процессы биологической конверсии эффективнее протекают на опилках сосны обыкновенной и лиственницы сибирской, что позволяет рассматривать эти субстраты как наиболее перспективные для разработки технологии утилизации растительных отходов древесных пород дереворазрушающими базидиомицетами *F. pinicola*.

Таблица 3. Химический состав древесины лиственницы и пихты до и после биодеструкции штаммом Fp5-15 *Fomitopsis pinicola*

Наименование показателя	Содержание, % а.с.с. с учетом убыли массы образца			
	исходный субстрат		субстрат после биодеструкции	
	<i>Abies sibirica</i>	<i>Larix sibirica</i>	<i>Abies sibirica</i>	<i>Larix sibirica</i>
Водорастворимые вещества	2,9	8,3	4,2	7,6
Легкогидролизуемые полисахариды	15,4	18,1	15,2	13,1
Трудногидролизуемые полисахариды	43,0	35,1	35,9	27,6
Сумма полисахаридов	58,4	53,2	51,1	40,7
Негидролизуемый остаток	32,3	36,7	34,7	31,6
Лигноуглеводный комплекс	90,7	89,9	85,8	72,3
Убыль массы, %	–	–	3,5	20,1

Заключение

Сибирские штаммы *Fomitopsis pinicola* с различной скоростью колонизируют целлюлозосодержащие ростовые субстраты: радиальная скорость роста составила 1,1–3,3 мм/сут. при значениях ростового коэффициента 10–42. Максимальные ростовые параметры характерны для штамма Fp5-15 с наибольшими показателями на древесине *Pinus sylvestris* и *Pinus sibirica*, а также агаризованной среде Гетчинсона. Все изученные культуры синтезируют внеклеточные целлюлолитические ферменты, гидролизующие натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы, со схожей динамикой ферментативной активности с максимумом на 7–9-е сутки. Наиболее активным является штамм Fp5-15: активность КМЦ-азы составляет 0,39 ед/мл на 7-е сутки жидкофазного культивирования.

Максимальная дереворазрушающая штамма Fp5-15 *F. pinicola* активность отмечена на древесине сосны обыкновенной и лиственницы сибирской – убыль массы субстратов составила 16 и 20% соответственно. На опилках *P. sylvestris* сумма полисахаридов уменьшилась в среднем в 1,2 раза в большей степени за счет ферментализации трудногидролизуемых полисахаридов; содержание лигниновых веществ существенно не изменилось. На опилках *Larix sibirica* общее содержание полисахаридов уменьшилось в 1,3 раза; количество лигниновых веществ – в 1,2 раза по сравнению с исходным субстратом.

Список литературы

1. Куликова Н.А., Кляйн О.И., Степанова Е.В., Королёва О.В. Использование базидиальных грибов в технологиях переработки и утилизации техногенных отходов: фундаментальные и прикладные аспекты // Прикладная биохимия и микробиология. 2011. Т. 47, №6. С. 619–634.
2. Биоконверсия отходов агропромышленного комплекса / под ред. В.Ю. Барштейна. Новосибирск, 2016. 88 с.
3. Tsujiyama S., Okada A. Biodegradation of polyvinyl alcohol by a brown-rot fungus *Fomitopsis pinicola* // Biotechnol Lett. 2013. Vol. 35, N11. Pp. 1907–1911. DOI: 10.1007/s10529-013-1281-8.
4. Шевкопляс В.Н., Вовк Н.В., Мезенцева Т.В., Бойко М.И. Физиологические особенности базидиомицетов – разрушителей хвойной древесины // Промышленная ботаника. 2004. Вып. 4. С. 256–262.
5. Ильин Д.Ю., Ильина Г.В., Лыков Ю.С. Ферментативная активность ксилотрофных базидиомицетов при твердофазном культивировании // Нива Поволжья. 2012. №2. С. 26–31.
6. Shin K., Kim Y., Marimuthu J., Lee J.-K., Kim Y.-S. Purification and characterization of a thermostable cellobiohydrolase from *Fomitopsis pinicola* // J. Microbiol. Biotechnol. 2010. Vol. 20, N12. Pp. 1681–1688. DOI: 10.4014/jmb.1008.08009.
7. Shin K., Marimuthu J., Lee J.-K., Kim Y.-S. Purification and characterization of a thermostable xylanase from *Fomitopsis pinicola* // J. Microbiol. Biotechnol. 2010. Vol. 20, N10. Pp. 1415–1423. DOI: 10.4014/jmb.1003.03031.
8. Joo A.R., Jeya M., Lee K.M., Sim W.I., Kim J.S., Kim I.W., Kim Y.S., Oh D.K., Gunasekaran P., Lee J.K. Purification and characterization of a beta-1,4-glucosidase from a newly isolated strain of *Fomitopsis pinicola* // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2009. Vol. 83, N2. Pp. 285–294. DOI: 10.1007/s00253-009-1861-7.
9. Shin K., Kim T.-J., Kim Y.-K., Kim Y.-S. Immobilization of cellulases from *Fomitopsis pinicola* and their changes of enzymatic characteristics // Journal of the Korean Wood Science and Technology. 2010. Vol. 38, N3. Pp. 251–261. DOI 10.5658/WOOD.2010.38.3.251.
10. Рязанова Т.В., Чупрова Н.А., Литовка Ю.А. Биоконверсия вегетативной части топинамбура микро- и макроскопическими грибами // Системы. Методы. Технологии. 2016. №1. С. 147–151. DOI: 10.18324/2077-5415-2016-1-147-151.
11. Соболева С.В., Литовка Ю.А. Переработка послеэкстракционного остатка коры осины с получением кормовых продуктов // Химия растительного сырья. 2011. №2. С. 83–86.
12. Методы экспериментальной микологии / под ред. В.И. Билай. Киев, 1982. 550 с.
13. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. Киев, 1988. 144 с.
14. Riazanova T.V., Chuprova N.A., Isaeva E.V. Wood Chemistry. LAP LAMBERT Academic Publishing, 2012. 428 p.
15. Сеницын А.П., Гусаков А.В., Черноглазов В.М. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов. М., 1995. 224 с.
16. Park N., Park S.-Sh. Purification and characterization of a novel laccase from *Fomitopsis pinicola* mycelia // International journal of biological macromolecules. 2014. Vol. 70. Pp. 583–589. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2014.06.019.
17. Шевченко Е.А., Бессолицына Е.А., Дармов И.В. Выявление генов, кодирующих лигнолитические ферменты, у природных изолятов базидиомицетов // Прикладная биохимия и микробиология. 2013. Т. 49, №3. С. 285–291.

Поступило в редакцию 22 июля 2017 г.

После переработки 5 октября 2017 г.

Litovka Y.A.^{1,2*}, Pavlov I.N.¹, Ryzanova T.V.², Gazizulina A.V.², Chuprova N.A.² WOOD-DESTROYING PROPERTIES OF FOMITOPSIS PINICOLA (SW.) P. KARST. FROM MIDDLE SIBERIA

¹Forest Institute V.N. Sukachev, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Akademgorodok, 50-28, Krasnoyarsk, 660036 (Russia), e-mail: litovkajul@rambler.ru

²Siberian State University of Science and Technology Academician M.F. Reshetnev, Mira ave., 82, Krasnoyarsk, 660049 (Russia)

Presents the results of a research of wood-destroying properties of the basidiomycete *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst. The strains were isolated in pure culture from fruiting bodies that grew on the *Abies sibirica* Ledeb, *Pinus sylvestris* Ledeb, *Pinus sibirica* Du Tour and *Larix sibirica* Ledeb in the forests of the Krasnoyarsk Territory (56°09'–56°22' N; 92°10'–92°58' E). The cultures screened for growth parameters and the dynamics of enzymatic activity during cultivation on cellulose-containing media. The radial growth rate of Siberian strains on the agar medium and plant substrates is 1,1–3,3 mm / day; the growth coefficient is 10–42. All studied cultures synthesize extracellular cellulolytic enzymes that hydrolyze the sodium salt of carboxymethylcellulose. The enzymatic activity is in the range 0,05–0,39 U / ml with a maximum of 7–9 days. The most active strain of Fp5-15 *F. pinicola* used for bioconversion of coniferous plant substrates under solid-phase culture conditions. The maximum wood-destroying activity observed on pine and larch wood – the mass loss of substrates was 16 and 20%, respectively. On *Pinus sylvestris* sawdust, the total content of polysaccharides decreased by 1,2 times due to the fermentolysis of the hardly hydrolyzable fraction (a decrease of 1,4 times); the content of lignin substances did not change significantly. On the sawdust of *Larix sibirica*, the amount of polysaccharides decreased by 1,3 times in comparison with the initial substrate; lignin – in 1,2 times.

Keywords: *Fomitopsis pinicola*, biodegradation, cellulase activity, lignocarbohydrate complex, solid-state cultivation, waste wood, wood-destroying (xylotrophic) fungi.

References

1. Kulikova N.A., Kliain O.I., Stepanova E.V., Koroleva O.V. *Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiya*, 2011, vol. 47, no. 6, pp. 619–634. (in Russ.).
2. *Biokonversiya otkhodov agropromyshlennogo kompleksa*. [Bioconversion of agro-industrial waste] Ed. V.Iu. Barshtein. Novosibirsk, 2016, 88 p. (in Russ.).
3. Tsujijama S., Okada A. *Biotechnol Lett.*, 2013, vol. 35, no. 11, pp. 1907–1911. DOI: 10.1007/s10529-013-1281-8.
4. Shevkoplias V.N., Vovk N.V., Mezentseva T.V., Boiko M.I. *Promyshlennaia botanika*, 2004, no. 4, pp. 256–262. (in Russ.).
5. Il'in D.Iu., Il'ina G.V., Lykov Iu.S. *Niva Povolzh'ia*, 2012, no. 2, pp. 26–31. (in Russ.).
6. Shin K., Kim Y., Marimuthu J., Lee J.-K., Kim Y.-S. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2010, vol. 20, no. 12, pp. 1681–1688. DOI: 10.4014/jmb.1008.08009.
7. Shin K., Marimuthu J., Lee J.-K., Kim Y.-S. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2010, vol. 20, no. 10, pp. 1415–1423. DOI: 10.4014/jmb.1003.03031.
8. Joo A.R., Jeya M., Lee K.M., Sim W.I., Kim J.S., Kim I.W., Kim Y.S., Oh D.K., Gunasekaran P., Lee J.K. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2009, vol. 83, no. 2, pp. 285–294. DOI: 10.1007/s00253-009-1861-7.
9. Shin K., Kim T.-J., Kim Y.-K., Kim Y.-S. *Journal of the Korean Wood Science and Technology*, 2010, vol. 38, no. 3, pp. 251–261. DOI: 10.5658/WOOD.2010.38.3.251.
10. Ryzanova T.V., Chuprova N.A., Litovka Iu.A. *Sistemy. Metody. Tekhnologii*, 2016, no. 1, pp. 147–151. DOI: 10.18324/2077-5415-2016-1-147-151. (in Russ.).
11. Soboleva S.V., Litovka Iu.A. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2011, no. 2, pp. 83–86. (in Russ.).
12. *Metody eksperimental'noi mikologii*. [Methods of experimental mycology]. Ed. V.I. Bilai. Kiev, 1982, 550 p. (in Russ.).
13. Bukhalo A.S. *Vysshie s'edobnye bazidiomitsety v chistoi kul'ture*. [Higher edible basidiomycetes in pure culture]. Kiev, 1988, 144 p. (in Russ.).
14. Ryzanova T.V., Chuprova N.A., Isaeva E.V. *Wood Chemistry*. LAP LAMBERT Academic Publishing, 2012. 428 p.
15. Sinitsyn A.P., Gusakov A.V., Chernoglazov V.M. *Biokonversiya lignocelluloznykh materialov*. [Bioconversion of lignocellulosic materials]. Moscow, 1995, 224 p. (in Russ.).
16. Park N., Park S.-Sh. *International journal of biological macromolecules*, 2014, vol. 70, pp. 583–589. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2014.06.019.
17. Shevchenko E.A., Bessolitsyna E.A., Darmov I.V. *Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiya*, 2013, vol. 49, no. 3, pp. 285–291. (in Russ.).

Received July 22, 2017

Revised October 5, 2017

* Corresponding author.

