

## Fe<sup>3+</sup> ūtaka mikromicetø fenoloksidaziniam aktyvumui

Vita Raudonienė,  
Regina Varnaitė

Botanikos institutas,  
Paliøjø eperø g. 49,  
LT-08406 Vilnius, Lietuva

Ištirta Fe<sup>3+</sup> ūtaka mikromicetø *Galactomyces geotrichum*, *Myrothecium verrucaria*, *Mortierella verticillata*, *Dipodascus armillariae*, *Dipodascus albidus*, *Geotrichum candidum*, *Oedocephalum albidum*, *Mortierella hyalina*, *Hormonema prunorum*, *Papularia sphaerosperma*, *Aspergillus repens*, *Sporotrichum pruinosum* biomasės augimui, jø fenoloksidaziø – peroksidazės, lakazės ir tirozinazės – aktyvumui.

Nustatyta, kad 0,005 M koncentracijos FeCl<sub>3</sub> Ėapeko terpėje sumažino visø tirtø mikromicetø biomasės kiekā, išskyrus *Oedocephalum albidum*. Didesnė (0,01 M) geležies koncentracija sumažino visø tirtø mikromicetø biomasės kiekā nuo 1,76 iki 6,87 karto, palyginus su kontrole.

Tiriant peroksidazinio aktyvumo kitimā mikromicetams augant buvo pastebėta, kad ūis aktyvumas standartiniėje Ėapeko terpėje buvo nedidelis ir pasireiðkė vėlesnėse jø augimo fazėse. Daugumos mikromicetø didžiausias peroksidazinis aktyvumas buvo nustatytas 21-ā kultivavimo parā (nuo 0,16 iki 2,78 a.v./ml).

0,005 M koncentracijos FeCl<sub>3</sub> slopino tirtøjø mikromicetø peroksidazinā aktyvumā. ūis aktyvumas buvo nustatytas tik 4-ā ir 8-ā parā po mikromicetø *Mortierella hyalina*, *Papularia sphaerosperma*, *Myrothecium verrucaria*, *Geotrichum candidum*, *Hormonema prunorum*, *Aspergillus repens* ir *Sporotrichum pruinosum* kultivavimo. Tolesnio kultivavimo eigoje ūis aktyvumas nebuvo aptiktas.

Peroksidazinis aktyvumas dël 0,01 M FeCl<sub>3</sub> ūtakos visai nepasireiðkė, išskyrus *Mortierella verticillata* po 8-iø (1,72) ir 18-os (1,56 a.v./ml) kultivavimo parø.

0,005 M koncentracijos FeCl<sub>3</sub> Ėapeko terpėje padidino visø tirtø mikromicetø tirozinazinā aktyvumā nuo 14 kartø iki 387,5 karto palyginus su kontrole. Daugumos mikromicetø aktyvumo maksimumas buvo nustatytas 13-ā jø kultivavimo parā. Didžiausiu tirozinaziniu aktyvumu išsiskyrė *Sporotrichum pruinosum* (271,95 sāl. v./ml), *Oedocephalum albidum*, *Papularia sphaerosperma*, *Myrothecium verrucaria* (atitinkamai 234,72; 231,02; 211,67 sāl. v./ml).

Āterpus ā terpæ 0,01 M FeCl<sub>3</sub>, visø tirtø mikromicetø tirozinazinis aktyvumas buvo skatinamas, palyginus su kontrole, nuo 11,8 iki 65,2 karto.

Āterpus ā terpæ 0,005 M FeCl<sub>3</sub>, po 4-iø kultivavimo parø daugumos tirtø mikromicetø lakazinis aktyvumas sumažėjo, palyginus su kontrole.

Tolimesnio kultivavimo eigoje beveik visø tirtø mikromicetø fermentinis aktyvumas didėjo, o 21-ā kultivavimo parā mikromicetø *Galactomyces geotrichum* ekst. koef. buvo didžiausias (0,76). *Myrothecium verrucaria* ir *Mortierella verticillata* ūis aktyvumas padidėjo atitinkamai 5,86 karto ir 12 kartø, palyginus su kontrole.

Āterpus ā terpæ 0,01 M FeCl<sub>3</sub>, visø tirtø mikromicetø lakazinis aktyvumas buvo inhibuojamas (ekst. koef. kito nuo 0,001 iki 0,019), išskyrus *Mortierella verticillata*, kurio ekst. koef. 8-ā kultivavimo parā padidėjo iki 0,026; tai sudarė 4,3 karto daugiau, palyginus su kontrole.

**Raktaþodþiai:** Fe<sup>3+</sup>, mikromicetai, peroksidazė, lakazė, tirozinazė

### ĀVADAS

Gamtinės kilmės sudėtingø organiniø junginiø (lignino, celiuliozės) irimo procesas yra vienas svarbesniø biologijos ir dirvotyros problemø. Pagrindiniai mikromicetø gaminami fermentai, dalyvaujantys lignino degradacijos procese, yra fenoloksidazės.

Fermentø sintezė, jø aktyvumas priklauso nuo āvairiø cheminiø medþiagø, esanėiø aplinkoje. Lignino ir celiuliozės kompleksā ardantys mikromicetai

asimiluoja mikroelementus, kuriø poveikyje padidėja grybø celiuliazinis aktyvumas. Sunkieji metalai, tokie kaip Co, Cu, Fe, Mn, Zn, Mo, V, Ni ir kt., reikalingi fermentinei katalizei, todėl mitybinėje terpėje jø turi būti labai maþos koncentracijos (daþniausiai keli µg/l) (Кашнер, 1981; Билай, 1986).

Vieni sunkieji metalai dalyvauja grybø metaboliniuose procesuose, kitø biologinis vaidmuo nėra þinomas, ir jie gali būti net toksiðki. Grybai reikiamā metalø mikrokiekā gali gauti ið dirvos. Toksiðkos me-

talų koncentracijos, dažnai pasitaikančios dirvoje, yra pramonės taršos rezultatas. Dažnai tas pats mikrokiekiškas reikalingas metalas, kai jo koncentracija padvigubėja, gali būti toksiškas (Hughes & Poole, 1991). Grybams reikalingi metalai yra Cu, Fe, Mn, Mo, Zn ir Ni (Gadd, 1993). Susidaro metalų su ląstelės struktūrinėmis medžiagomis ar jų metabolitais ryšiai. Šie ryšiai gali blokuoti fermentų funkcines grupes, fermentai gali denatūruotis; kintant jų struktūrai, gali sutrikti transportas (Gadd, 1990).

Sunkieji metalai, esantys dirvoje, gali turėti atakos ekstraceliuliazinių fermentų, sugebančių ardyti polimerinių substratų kompleksus ir atliekančių grybų maitinimo funkciją, sekrecijai ar aktyvumui (Dahm & Strzelczyk, 1996; Martino et al., 2000).

Geležis yra ekstraląstelinio fermento, dalyvaujančio lignino degradacijos procese, komponentas. Peroksidazės sudėtyje yra geležies. Be to, ji yra daugelio fermentų, dalyvaujančių oksidacijos ir redukcijos reakcijose, kofaktorių. Peroksidazės, katalazės ir kitų fermentų veikimas priklauso nuo metalų judėjimo. Nors geležis yra svarbus elementas, dėl jo taip pat gali būti katalizuojamas toksiškų deguonies laisvųjų radikalų susidarymas. Nustatyta, kad geležis ir vandens peroksidazės dalyvauja susidarant hidroksiliniams, didelio reakcingumo radikalams, kurie gali inicijuoti celiuliozės depolimerizaciją (Jellison et al., 1997).

Darbo tikslas buvo ištirti mikromicetų – perspektyviausių lignino ir celiuliozės kompleksų ardytojų fenoloksidazės – peroksidazės, lakazės ir tirozinazės – aktyvumo pokyčius, atėjus į terpę 0,005 ir 0,01 M koncentracijose FeCl<sub>3</sub>. Šių fermentų aktyvumas nu-  
lema augalų atliekų irimo procesus gamtoje.

## METODIKA

Peroksidazės, lakazės ir tirozinazės substratų specifškumas buvo nustatinėjamas Lyr'o metodu (Lyr, 1958). Fe<sup>3+</sup> įtaka peroksidazės, lakazės ir tirozinazės aktyvumui nustatyta mikromicetų – fenoloksidazių producentų kultivuojuojant giluminiu būdu n-Ėapeko terpėje (kontrolinis variantas) ir Ėapeko terpėje, į kurią buvo atėjta 0,005 ir 0,01 M FeCl<sub>3</sub>. Bandyuose buvo panaudoti mikromicetai: *Galactomyces geotrichum* (Butl. et Petersen) Redhead et Malloch, *Myrothecium verrucaria* (Alb. et Schweinitz) Ditmar ex Fr., *Mortierella verticillata* Linnem, *Dipodascus armillariae* W. Gams, *Dipodascus albidus* Lagerh, *Geotrichum candidum* Link: Fr., *Oedocephalum albidum* (Preuss) Sacc., *Mortierella hyalina* Hair W. Gams, *Hormonema prunorum* (Dennis et Buhagiar) Hermanides-Nijhof, *Papularia sphaerosperma* (Pers.) Höhn, *Aspergillus repens* de Barry, *Sporotrichum pruinosum* Gilman et Abbott. Bandydas yra atliktas optimaliomis laboratorinėmis sąlygomis, kultivuojuojant mikromicetų 21 parą 28°C tem-

peratūroje. Po to buvo nustatinėjamas biomasės prieaugis, peroksidazinis, lakazinis ir tirozinazinis aktyvumas.

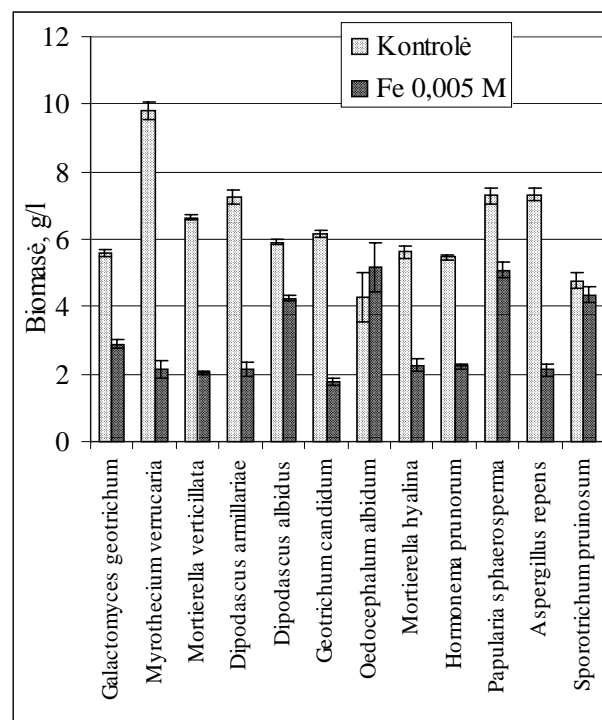
Biomasės kiekis perskaiciuotas absoliučiai sausam svoriui. Peroksidazinis aktyvumas (PA) yra nustatytas o-dianizidino reaktyvu (Билай, 1982; Гудкова, Дегтярь, 1986), lakazinis – p-fenilendiaminohidrochloridu (Ravin, Harvard, 1965), o tirozinazinis – tirozinu (Ермаков, 1987).

Statistinis rezultato apdorojimas. Gautų rezultatų patikimumas apskaičiuotas lyginant vidutines reikšmes Stjudento kriterijaus pagalba (Плохинский, 1966; Поллард, 1982). Rezultatai laikyti patikimi, kai lyginamų variantų patikimumo koeficientas  $t_d > 2,13$ ;  $p < 0,05$ . Pasiklojimo lygmuo 95%. Duomenims apdoroti naudota Excel 98 programa.

## REZULTATAI IR DISKUSIJA

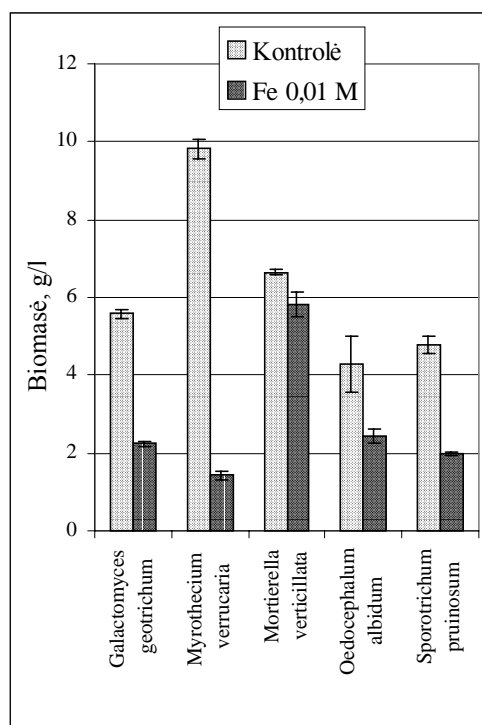
**Fe<sup>3+</sup> įtaka mikromicetų biomasės prieaugiui.** Gautieji rezultatai parodė, kad didžiausias biomasės kiekis standartinėje Ėapeko terpėje buvo nustatytas po *Myrothecium verrucaria*, *Aspergillus repens*, *Papularia sphaerosperma* ir *Dipodascus armillariae* (atitinkamai 9,82; 7,33; 7,28; 7,24 g/l) kultivavimo.

Atėjus į terpę 0,005 M FeCl<sub>3</sub> buvo nustatyta mažesnė visų tirtųjų mikromicetų biomasė, išskyrus *Oedocephalum albidum* (1 pav.). 0,01 M FeCl<sub>3</sub> gele-



1 pav. Geležies (0,005 M) įtaka mikromicetų biomasės prieaugiui

Fig. 1. Influence of iron (0.005 M) on increase of biomass of micromycetes



2 pav. Geležies (0,01 M) įtaka mikromicetų biomasės prieaugiui

Fig. 2. Influence of iron (0.01 M) on increase of biomass of micromycetes

pies koncentracija patikimai sumažino visų tirtų mikromicetų biomasės kiekį nuo 1,14 (*Mortierella verticillata*) iki 6,87 (*Myrothecium verrucaria*) karto, palyginus su kontrole (2 pav.).

**Fe<sup>3+</sup> įtaka mikromicetų peroksidaziniam aktyvumui.** Tiriant peroksidazinio aktyvumo kitimą mikromicetams augant buvo pastebėta, kad šis aktyvumas pasireiškia vėlesnėse jė augimo fazėse. Gauti rezultatai parodė, kad kultivuojant mikromicetus standartinėje Ėapeko terpėje (kontrolė), jė peroksidazinis aktyvumas buvo nedidelis, o 4-ą ir 8-ą parą jis visai nepasireiškė (3 pav.).

Didžiausias šis mikromicetų peroksidazinis aktyvumas buvo 21-ą kultivavimo parą (nuo 0,16 iki 2,78 a.v./ml), išskyrus *Hormonema prunorum*, kurio peroksidazinis aktyvumas 13-ą kultivavimo parą sudarė 0,56, o 18-ą ir 21-ą – 0,16 a.v./ml. Didesniu aktyvumu 21-ą kultivavimo parą išsiskyrė *Galactomyces geotrichum* (2,78), *Myrothecium verrucaria* (2,38), *Mortierella verticillata* (2,66), *Oedocephalum albidum* (2,59), *Sporotrichum pruinosum* (2,19 a.v./ml).

Didelis augsino kiekis sparčiai auganėiose ląstelėse inhibuoja peroksida-

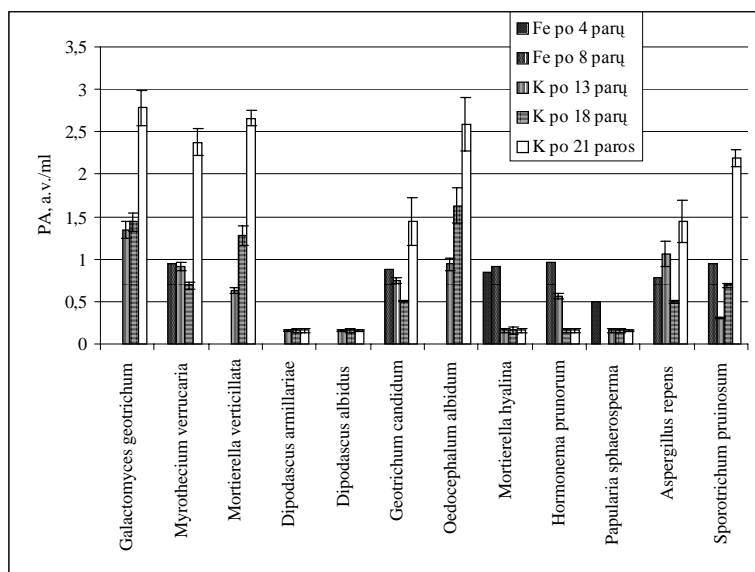
ziną aktyvumą (Siegel et al., 1960). 3-Indolilacto rūgštis veikia kaip antioksidantas, sulaukydama priešlaikiną peroksidazės poveiką metabolitams, būtinams augimui. Vėlesnėse augimo stadijose, kai baigiasi augsino veikimas, prasideda oksidacijos procesai (Ėėėėėėėėėė, 1975) ir jiems reikalingų fermentų sintezė.

0,005 M FeCl<sub>3</sub> nevienodai veikė mikromicetų peroksidaziną aktyvumą. Po 4-ių kultivavimo parų šis aktyvumas buvo aptiktas dviejų mikromicetų kultūrinėje terpėje: *Mortierella hyalina* ir *Papularia sphaerosperma* (atitinkamai 0,84 ir 0,5 a. v./ml). 8-ą kultivavimo parą peroksidazinis aktyvumas buvo didesnis, tačiau jis aptiktas tik po mikromicetų *Myrothecium verrucaria*, *Geotrichum candidum*, *Mortierella hyalina*, *Hormonema prunorum*, *Aspergillus repens* ir *Sporotrichum pruinosum* kultivavimo. Didžiausiu peroksidaziniu aktyvumu pasižymėjo *Hormonema prunorum* (0,97), *Myrothecium verrucaria* ir *Sporotrichum pruinosum* (0,94 a.v./ml). Toliau kultivuojant terpėje su 0,005 M FeCl<sub>3</sub> šio aktyvumo neaptikta.

Peroksidazinis aktyvumas dėl 0,01 M FeCl<sub>3</sub> įtakos visai nepasireiškė, išskyrus *Mortierella verticillata* po 8-ių (1,72) ir 18-os (1,56 a.v./ml) kultivavimo parų.

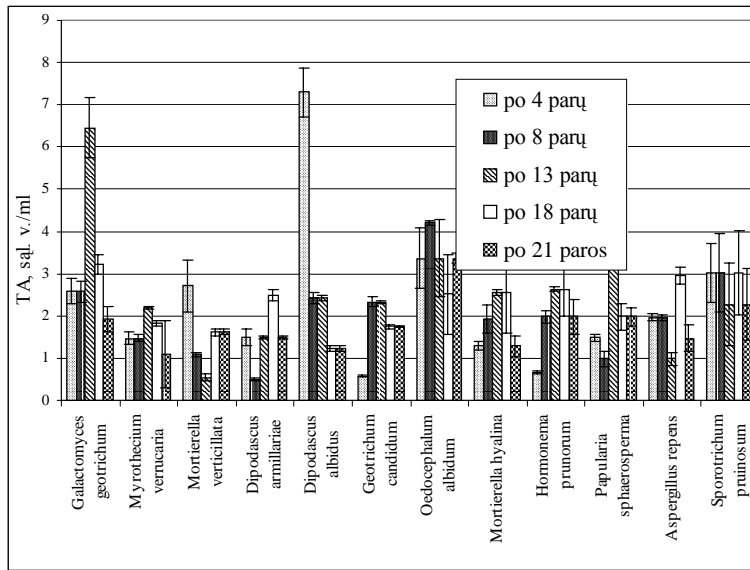
Tokiu būdu, FeCl<sub>3</sub> slopino tirtųjų mikromicetų peroksidaziną aktyvumą, kuris buvo nustatytas tik po 4-ių ir 8-ių kultivavimo parų kai kurių tirtųjų mikromicetų kultūrinėje terpėje.

**Fe<sup>3+</sup> įtaka mikromicetų tirozinaziniam aktyvumui.** Kultivuojant mikromicetus standartinėje Ėapeko terpėje, jė tirozinazinis aktyvumas buvo nedidelis ir kitu nuo 0,5 iki 7,3 s.l.v./ml. (4 pav.).



3 pav. Geležies (0,005 M) įtaka mikromicetų peroksidaziniam aktyvumui (PA): K – kontrolė

Fig. 3. Influence of iron (0.005 M) additions on activity of peroxidase (PA) of micromycetes: K – control



4 pav. Mikromicetų tirozinazinis aktyvumas (TA), kultivuojant juos standartinėje Ėapeko terpėje

Fig. 4. Tyrosinase activity (TA) of micromycetes during their cultivation on standart Chapek medium

Daugumos tirtų mikromicetų didžiausias tirozinazinis aktyvumas buvo 13-ą, o mažiausias – 21-ą kultivavimo parą. Didesniu aktyvumu 4-ą kultivavimo parą išsiskyrė *Dipodascus albidus* (7,3); 13-ą – *Galactomyces geotrichum* (6,45) ir 8-ą – *Oedocephalum albidum* (4,21 sąl. v./ml).

Tirozinazinio aktyvumo kitimas mikromicetų kultivavimo eigoje, didžiausias aktyvumas 13-ą kultivavimo parą, po to mažėjantis aktyvumas rodo, kad

234,72; 231,02; 211,67 sąl. v./ml).

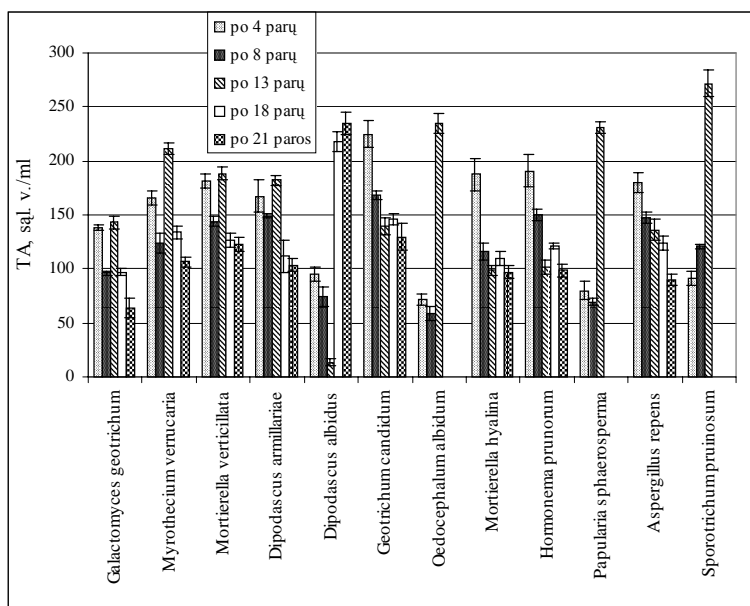
Nustatyta, kad atterpus á terpæ 0,01 M FeCl<sub>3</sub> visø tirtø mikromicetø tirozinazinis aktyvumas buvo skatinamas (6 pav.), palyginus su kontrole, nuo 11,8 iki 65,2 karto, taèiau atskirø mikromicetø jis buvo mažesnis nei terpėje su 0,005 M FeCl<sub>3</sub>, išskyrus *Galactomyces geotrichum* ir *Myrothecium verrucaria*, kuriø ðis aktyvumas 21-ą, o *Oedocephalum albidum* 8-ą kultivavimo parą buvo didesnis atitinkamai 1,4; 1,3 ir 1,4 karto, palyginus su 0,005 M Fe<sup>3+</sup>.

Esant 0,01 M koncentracijos FeCl<sub>3</sub> (kaip ir 0,005 M koncentracijai), visø tirtø mikromicetø tirozinazinis aktyvumas buvo didžiausias 13-ą kultivavimo parą, išskyrus *Mortierella verticillata*, kurio aktyvumo maksimumas buvo nustatytas 8-ą kultivavimo parą (85,95 sąl. v./ml). Didžiausiu tirozinaziniu aktyvumu 13-ą kultivavimo parą (143,5 sąl. v./ml) išsiskyrė *Myrothecium verrucaria*.

**Fe<sup>3+</sup> įtaka mikromicetų lakaziniams aktyvumui.** Kultivuojant mikromicetus standartinėje Ėapeko terpėje buvo nustatyta, kad jø lakazinis aktyvumas nedidelis ir ávairus (7 pav.).

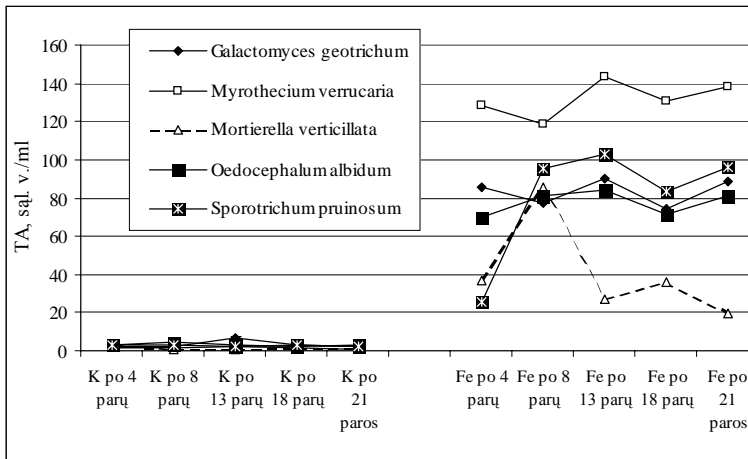
Didesniu lakaziniu aktyvumu po 4-iø kultivavimo parø išsiskyrė *Oedocephalum albidum*, *Myrothecium verrucaria* ir *Sporotrichum pruinosum* (atitinkamai ekst. koef. 0,061; 0,059 ir 0,053).

Tolimesnio kultivavimo eigoje visø tirtø mikromicetø lakazinis aktyvumas palaipsniui mažėjo ir 18-ą kultivavimo



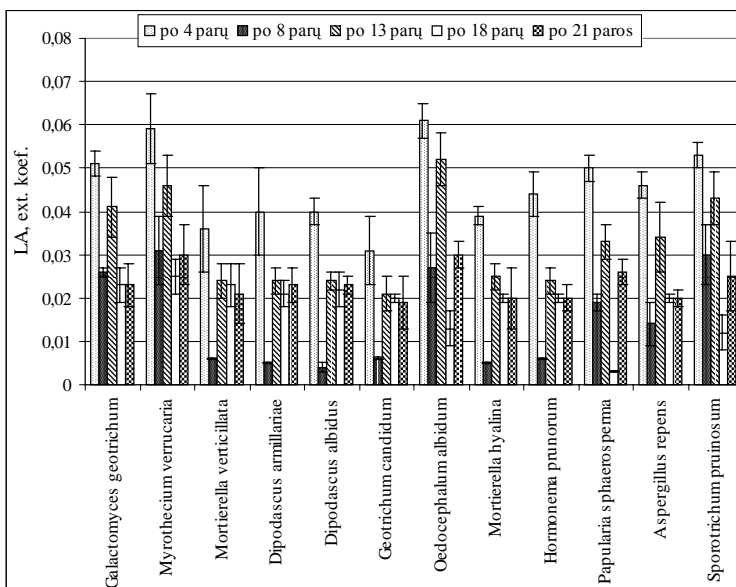
5 pav. Gelepiés (0,005 M) įtaka mikromicetų tirozinaziniams aktyvumui (TA)

Fig. 5. The influence of iron (0.005 M) additions to activity of tyrosinase (TA) of micromycetes



6 pav. Geležies (0,01 M) įtaka mikromicetų tirozinaziniams aktyvumui (TA)

Fig. 6. Influence of iron (0.01 M) additions on activity of tyrosinase (TA) of micromycetes



7 pav. Mikromicetų lakazinis aktyvumas (LA), kultivuojant juos standartinėje Ėapeko terpėje

Fig. 7. Laccase activity (LA) of micromycetes during their cultivation on standard Chapek medium

parà mikromicetų *Mortierella verticillata*, *Dipodascus albidus*, *D. armillariae* ekst. koef. buvo atitinkamai 0,023; 0,022; 0,021. Lakazinis aktyvumas vėl nepymiai padidėjo 21-à kultivavimo parà.

Analogiškas lakazinio aktyvumo kitimo dėsningumas yra nurodomas literatūros šaltiniuose. Nustatyta, kad ankstyvoje *Pleurotus ostreatus* kultivavimo fazėse lakazinis aktyvumas atitiko micelio augimą. Tačiau 8-à kultivavimo parà, prieš pasiekiant stacionarinę mikromicetų augimo fazę, lakazinis aktyvumas buvo didžiausias. Vėliau šis aktyvumas mažėjo (Okamoto Kenji et al., 2000).

Atėpus à terpė 0,005 M  $\text{FeCl}_3$ , po 4-iø kultivavimo parø buvo nustatytas sumažėjas visø tirtø mikromicetø lakazinis aktyvumas (8 pav.), išskyrus *Dipodascus armillariae*, kurio ekst. koef. padidėjo iki 0,1 (2,5 karto didesnis, palyginus su kontrole).

Taėiau tolimesnio kultivavimo eigoje beveik visø tirtø mikromicetø fermentinis aktyvumas didėjo, o 21-à kultivavimo parà mikromicetò *Galactomyces geotrichum* ekst. koef. buvo didžiausias (0,76). *Myrothecium verrucaria* ir *Mortierella verticillata* šis aktyvumas padidėjo atitinkamai 5,86 karto ir 12 kartø, palyginus su kontrole. Kitø mikromicetø lakazinis aktyvumas 21-à kultivavimo parà nepymiai sumažėjo.

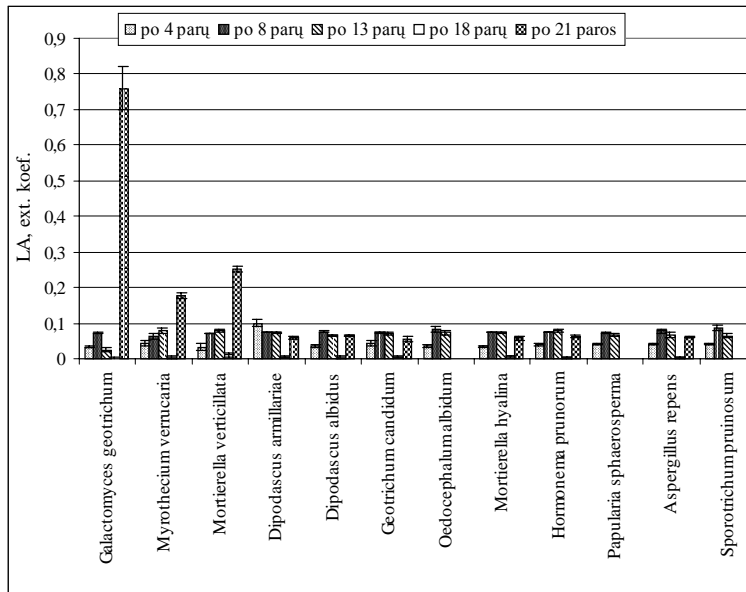
Atėpus à terpė 0,01 M  $\text{FeCl}_3$ , visø tirtø mikromicetø lakazinis aktyvumas buvo inhibuojamas (9 pav.), išskyrus *Mortierella verticillata*, kurio ekst. koef. 8-à kultivavimo parà padidėjo iki 0,026; tai sudarė 4,3 daugiau, palyginus su kontrole; tai buvo 2,7 karto mažiau, palyginus su 0,005 M koncentracija. Visø kitø tirtø mikromicetø lakazinis aktyvumas kultivavimo eigoje buvo nedidelis, ir ekst. koef. kito nuo 0,001 iki 0,019.

Daroma išvada, kad  $\text{Fe}^{3+}$  terpėje fenoloksidaziø aktyvumus veikė skirtingai. Geležis gali būti toksiška grybams (Jellison et al., 1997), ir jos įtaka tam tikrø mikromicetø fenoloksidaziø aktyvumui gali būti ávairi.

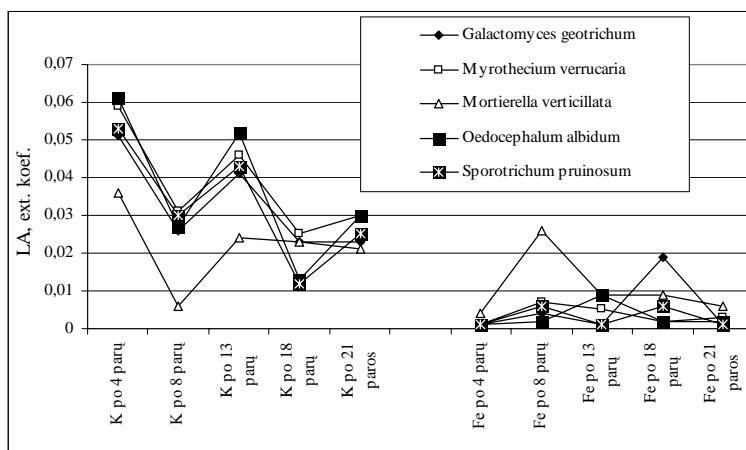
Peroksidazinis mikromicetø aktyvumas dėl 0,005 M  $\text{Fe}^{3+}$  įtakos buvo inhibuojamas, o 0,01 M – beveik nepasireiškė.

Ir priešingai, tiek mažesnė, tiek didesnė  $\text{Fe}^{3+}$  koncentracija terpėje patikimai skatino visø tirtø mikromicetø tirozinaziná aktyvumą.

Lakazinis mikromicetø aktyvumas dėl  $\text{Fe}^{3+}$  įtakos buvo nedidelis ir permainingas. 0,01 M  $\text{FeCl}_3$  inhibavo visø tirtø mikromicetø lakaziná aktyvumą, išskyrus *Mortierella verticillata*, kurio aktyvumas 8-à kultivavimo parà, palyginus su kontrole, padidėjo. Tai patvirtina ir kitø autoriø atliktø tyrimø duomenys (Okamoto Kenji, 2000), nurodantys  $\text{Fe}^{2+}$  inhibuojantá poveiká mikromicetø lakaziniams aktyvumui.



8 pav. Geleþies (0,005 M) ėtaka mikromicetø lakaziniam aktyvumui (LA)  
Fig. 8. Influence of iron (0.005 M) additions on activity of laccase (LA) of micromycetes



9 pav. Geleþies (0,01 M) ėtaka mikromicetø lakaziniam aktyvumui (LA)  
Fig. 9. Influence of iron (0.01 M) additions on activity of laccase (LA) of micromycetes

## Literatūra

- Gadd G. M. Metal tolerance. *Microbiology of Extreme Environments* (ed. C. Edwards). Open University Press, Milton Keynes, 1990. P. 178–210.
- Gadd G.M. Interactions of fungi with toxic metals. *New Phytology*. 1993. Vol. 124. P. 25–60.
- Dahm H. & Strzelczyk E. Effect of heavy metals on enzymes productions by *Hebeloma crustuliniforme*. *Acta Mycologica*. 1996. Vol. 31. P. 181–189.
- Hughes M.N. & Poole R. K. Metal speciation and microbial growth – the hard (and soft) facts. *Journal of General Microbiology*. 1991. Vol. 137. P. 725–734.
- Jellison J. et al. The Role of Cations in the Biodegradation of Wood by the Brown Rot Fungi. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 1997. Vol. 39. N 2, 3. P. 165–179.
- Lyr H. Über den Nachweis von Oxydasen und Peroxydase bei höheren Pilzen und die Bedeutung dieser Enzyme für die Bavendamm Reaktion. *Planta*. 1958. Vol. 50(3). P. 359–370.
- Martino E. et al. Influence of heavy metals on production and activity of pectinolytic enzymes in ericoid mycorrhizal fungi. *Mycological Research*. 2000. Vol. 104. N 7. P. 825–833.
- Okamoto Kenji, Sonoe O. Yanagi and Takuo Sakai. Purification and characterization of extracellular laccase from *Pleurotus ostreatus*. *Mycoscience*. 2000. Vol. 41. P. 7–13.
- Ravin H., Harvard M. *The Lancet*. 1965. Vol. 270. N 6920. P. 726–727.
- Siegel S. M., Frost P., Porto F. *Plant Physiol*. 1960. Vol. 31. P. 163.
- Билай В. И. (ред.). Методы экспериментальной микологии. Справочник. Киев: Наукова думка, 1982. С. 550.
- Билай В. И. Биология целлюлозоразрушающих грибов. *Проблемы биоконверсии растительного сырья*. Москва: Наука, 1986. С. 6–27.
- Гудкова Л. В., Дегтярь Р. Г. Ферменты в медицине, пищевой промышленности и сельском хозяйстве. Киев: Наукова думка, 1986. С. 172.
- Ермаков А. И. Методы биохимического исследования растений. Ленинград: Агропромиздат, 1987. С. 430.
- Кашнер М. Д. Жизнь микробов в экстремальных условиях. Москва, 1981.
- Клевенская И. Л. Образование физиологически активных веществ микроорганизмами. Новосибирск, 1975. С. 251.
- Плохинский Н. А. Биометрические методы в генетических исследованиях. Актуальные вопросы современной генетики. МГУ, 1966. С. 564.
- Поллард Дж. Справочник по вычислительным методам статистики. Москва, 1982. С. 344.

Vita Raudonienė, Regina Varnaitė

## THE INFLUENCE OF Fe<sup>3+</sup> ON PHENOLOXIDASE ACTIVITY OF MICROMYCETES

### Summary

The influence of Fe<sup>3+</sup> on the increase of biomass and on the phenoloxidase (peroxidase, laccase and tyrosinase) activity of micromycetes – phenoloxidase producers was investigated.

The metal concentration of 0.005 M FeCl<sub>3</sub> reduced the biomass of all investigated micromycetes, except *Oedocephalum albidum*. The largest concentration (0.01 M) of FeCl<sub>3</sub> reduced the amount of biomass of all investigated micromycetes from 1.76 to 6.87 times in comparison with the control.

Studies of peroxidase activity changes in the dynamic growth of micromycetes indicated that this activity manifested in the later period of the growth. The greatest peroxidase activity was defined after 21 days of cultivation (from 0.16 to 2.78 a.u./g).

FeCl<sub>3</sub> at concentration of 0.005 M reduced the peroxidase activity of all the investigated micromycetes. This peroxidase activity was determined only after 4 and 8 days of cultivation by *Mortierella hyalina*, *Papularia sphaerosperma*, *Myrothecium verrucaria*, *Geotrichum candidum*, *Hormonema prunorum*, *Aspergillus repens* and *Sporotrichum pruinosum*. Peroxidase activity of the all studied micromycetes was not found in the further course of cultivation.

FeCl<sub>3</sub> at concentration of 0.01 M absolutely inhibited peroxidase activity of all investigated micromycetes, except *Mortierella verticillata*, ferment activity of which was 1.72 and 1.56 a.u./ml after 8 and 18 days of the cultivation accordingly.

The concentration of 0.005 M of FeCl<sub>3</sub> on standart Czapek medium increased tyrosinase activity of all investigated micromycetes from 14 to 387.5 times in comparison with the control; and its maximum was reached on 13 day of cultivation. *Sporotrichum pruinosum* (271.95 cu/ml), *Oedocephalum albidum*, *Papularia sphaerosperma*, *Myrothecium verrucaria* showed the greatest tyrosinase activity (accordingly 234.72; 231.02; 211.67 cu/ml).

The influence of 0.01 M of FeCl<sub>3</sub> stimulated the tyrosinase activity of all investigated micromycetes from 11.8 to 65.2 times in comparison with the control.

The influence of 0.005 M of FeCl<sub>3</sub> decreased the laccase activity almost of all investigated micromycetes after 4 days of cultivation. Laccase activity of the all studied micromycetes progressively increased in the further course of cultivation; and *Galactomyces geotrichum* reached maximum (0.76 D) on the 21st day of cultivation.

The influence of 0.01 M of FeCl<sub>3</sub> inhibited laccase activity of all investigated micromycetes, except *Mortierella verticillata*, the ferment activity of which was 0.026 D.

**Key words:** iron, micromycetes, peroxidase, laccase, tyrosinase