

АНАЛИЗ АКТИВНОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ МЕТОДОМ МНОГОМЕРНОЙ РЕГРЕССИИ В ПРИСУТСТВИИ Mg^{2+} МИЦЕЛИЯ ГРИБА ВЕШЕНКА

(✉)Ловцова Л.Г.¹, Забелина М.В.¹, Майоров А.В.¹, Усков К.Ю.¹, Тюрин И.Ю.¹, Мавзовин В.С.²

¹Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии
имени Н.И. Вавилова

Саратов, Россия

²Московский государственный строительный университет

Москва, Россия

(✉)e-mail: larisalovtsova2018@mail.ru

Проведены исследования по оптимизации процесса глубинного культивирования мицелия гриба вешенка. Усовершенствован процесс получения мицелия как посевного материала для выращивания плодовых тел грибов. Изучено влияние различных концентраций карбоната магния (Magnesium carbonates) на ростовые характеристики мицелия гриба *Pleurotus ostreatus* при глубинном культивировании. Выявлена зависимость активности ферментов от концентрации металла в питательной среде прорастания мицелия вешенки. Адаптирована методика определения активности каталазы спектрофотометрическим методом для изучаемых объектов. Впервые получены данные активности ферментов каталазы и супероксиддисмутаза мицелия в присутствии добавки карбоната магния. Установлено, что применение карбоната магния в малых концентрациях положительно влияет на рост биомассы мицелия гриба *Pleurotus ostreatus*, поскольку с увеличением концентрации Mg^{2+} отмечено уменьшение скорости роста биомассы и активности каталазы, предположительно, за счет участия магния в создании определенной ионной концентрации, при которой начинается инактивация каталазы. Изучена возможность применения метода многомерной регрессии в виде метода главных компонент (МГК). Проведен анализ редокс-состояния культуры *Pleurotus ostreatus* на уровне ферментных компонентов системы антиоксидантной защиты при погруженном культивировании базидомицетов, который показал, как взаимосвязаны между собой полученные переменные с разными единицами измерений. Графики счетов также наглядно указывают на зависимость роста мицелия от концентрации применяемой добавки. Введение предложенных в работе условий культивирования в практику грибоводства потенциально способствует более успешному противостоянию макромицетов биотическому и абиотическому стрессу. Результаты исследований актуальны для развития фундаментальных основ науки о грибах.

Ключевые слова: мицелий, каталаза, супероксиддисмутаза, активность ферментов, ионы, магний, гриб вешенка

ANALYSIS OF THE ACTIVITY OF OXIDATIVE ENZYMES BY MULTIVARIATE REGRESSION IN THE PRESENCE OF Mg^{2+} OYSTER MUSHROOM MYCELIUM

(✉)Lovtsova L.G.¹, Zabelina M.V.¹, Mayorov A.V.¹, Uskov K.Yu.¹, Tyurin I.Yu.¹, Mavzovin V.S.²

¹Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov
Saratov, Russia

²Moscow State University of Civil Engineering

Moscow, Russia

(✉)e-mail: lauisalovtsova2018@mail.ru

Studies have been conducted to optimize the process of deep cultivation of the Oyster mushroom mycelium. The process of obtaining mycelium as a seed for cultivation of fruiting bodies of mushrooms has been improved. The effect of different concentrations of magnesium carbonate (Magnesium carbonates) on the growth characteristics of mycelium of the fungus *Pleurotus ostreatus* during deep cultivation has been studied. The dependence of enzyme activity on the concentration of metal in the nutrient medium of germinating mycelium of oyster mushrooms has been revealed. The method for determining the activity of catalase by spectrophotometric method has been adapted for the studied objects. For the first time the data on the activity of mycelium catalase and superoxide dismutase

enzymes in the presence of magnesium carbonate additive have been obtained. It has been found that the application of magnesium carbonate in low concentrations has a positive effect on the growth of mycelial biomass of the fungus *Pleurotus ostreatus*, since with increasing concentration (Mg^{2+}) a decrease in biomass growth rate and catalase activity has been observed, presumably due to the participation of magnesium in creating a certain ionic concentration at which catalase inactivation begins. The possibility of applying the method of multivariate regression in the form of the principal components analysis (PCA) has been studied. The redox state of *Pleurotus ostreatus* culture at the level of enzyme components of the antioxidant defense system during submerged cultivation of basidiomycetes has been analyzed, which showed how the obtained variables with different measurement units are interconnected. The account graphs also clearly indicate the dependence of mycelial growth on the concentration of the additive used. The introduction of the cultivation conditions proposed in this work in the practice of mushroom production potentially contributes to a more successful resistance of macromycetes to biotic and abiotic stress. The results of the research are relevant to the development of the fundamentals of the science of fungi.

Keywords: mycelium, catalase, superoxide dismutase, enzyme activity, ions, magnesium, oyster mushroom

Для цитирования: Ловцова Л.Г., Забелина М.В., Майоров А.В., Усков К.Ю., Тюрин И.Ю., Мавзовин В.С. Анализ активности окислительных ферментов методом многомерной регрессии в присутствии Mg^{2+} мицелия гриба вешенка // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2023. Т. 53. № 6. С. 33–42. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2023-6-4>

For citation: Lovtsova L.G., Zabelina M.V., Mayorov A.V., Uskov K.Yu., Tyurin I.Yu., Mavzovin V.S. Analysis of the activity of oxidative enzymes by multivariate regression in the presence of Mg^{2+} oyster mushroom mycelium. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki* = *Siberian Herald of Agricultural Science*, 2023, vol. 53, no. 6, pp. 33–42. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2023-6-4>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Вопрос о возможности искусственного выращивания съедобных и лекарственных грибов уже свыше двух тысячелетий занимает человечество. Объектом научных исследований во всем мире являются более 100 тыс. видов. Общеизвестно функциональное значение грибов в различных биогеоценозах, где они благодаря широкому набору ферментов принимают активное участие в процессах деструкции и минерализации органического вещества [1]. Хотя грибы являются очень интересной в теоретическом и практическом плане группой живых организмов, в настоящее время они остаются относительно малоизученными. Продуцируемые макромицетами биологически активные вещества, такие как полисахариды, гликопротеины, терпены, стеролы, каротиноидные пигменты, могут проявлять антибактериальные, противовирусные, противоопухолевые, антипаразитарные и иммуномодулирующие свойства.

Значительные исследования физиологии высших грибов начались в 1980–2020-е годы. Происходящие при росте и развитии грибного организма сложные физиологические и биохимические процессы, их интенсивность, определяющиеся наследственными и потенциальными качествами самого организма и факторами внешней среды, требуют дальнейшего изучения [2]. Исследования роста базидиомицетов на жидких средах направлены на изучение питательных потребностей и физиологии вида в чистой культуре, разработку технологии погруженного культивирования мицелия с целью получения биомассы кормового и пищевого назначения. Глубинное культивирование также предлагается как быстрый и эффективный метод производства посевного материала для грибоводства. Значительно меньшее число работ посвящено биохимии глубинного культивирования, ее связи с физиологией роста и развития грибного организма в глубинной культу-

ре. В частности, антимикробная активность высших грибов изучена явно недостаточно, лишь единичные работы касаются изучения этой активности в связи с физиологическими аспектами, проблемами морфогенеза грибов [3–15]. Активно развиваются исследования, направленные на создание условий выращивания базидиомицетов, для достижения максимального выхода биомассы, сокращения сроков культивирования, уменьшения посевного материала и др. Анализ изменения ферментативной активности базидиомицетов в процессе варьирования условий их культивирования является одним из основных эффективных показателей конкурентоспособности роста биомассы мицелия [16].

В мире высших растений ферменты действуют как антиоксиданты, они защищают клеточные компоненты от окисления активными формами кислорода (АФК). В первую очередь к ним относят фермент супероксиддисмутазу (СОД), каталазу и глутатионпероксидазу. Супероксид является одним из наиболее распространенных АФК, вырабатываемых митохондриями, в то время как СОД превращает супероксидные анионы в перекись водорода, следовательно, является центральным регулятором уровня АФК. Фермент каталаза является геминным ферментом. Биологическая роль каталазы заключается в катализировании реакции разрушения перекиси водорода. В условиях *in vivo* (в клетке) большинство ферментов организовано в пространстве в так называемые «мультиферментные системы». Они или связаны с клеточными структурами, или находятся в свободном состоянии в различных органеллах клетки.

Практика внесения питательных добавок для выращивания грибов во время нереста или обсадки для максимизации урожайности появилась в 1960-х годах [17] и получила широкое признание и распространение, однако ее использование может быть ограничено в некоторых секторах из-за технических и экономических факторов. Добавки, как питательная субстанция, представляют обезжиренную растительную муку, полученную из соевого шрота, а также зерновые отруби,

которые являются органическим источником белка, обогащенного минералами или витаминами, часто используемые для выращивания грибов видов *Agaricus* и *Pleurotus*.

На рост и развитие высших грибов в незначительных количествах благоприятное воздействие оказывают микроэлементы. Отсутствие микроэлементов вызывает различные нарушения в развитии организма. При определенных концентрациях цинка, железа, марганца, меди, кальция и некоторых других микроэлементов наблюдается стимуляция образования и роста мицелия. Для питания, т.е. для основного обмена грибов, необходимо приблизительно 17–18 элементов, в число которых входят азот, углерод, кислород, водород, сера, фосфор, калий, магний, железо, медь, цинк, марганец, молибден, кальций. В большом количестве грибам требуются следующие основные элементы: азот, углерод, кислород, водород, фосфор, калий, сера и магний. Поэтому в питательные среды, где достаточно микроэлементов, добавляют, кроме источников азота и углерода, калий и магний. Магний играет большую роль в углеводном обмене и всех синтезах на основе использования энергии фосфорных связей. Около 50 ферментативных реакций у грибов идут с участием магния.

Цель исследований – анализ редокс-состояния мицелия культуры *Pleurotus ostreatus* на уровне ферментных компонентов системы антиоксидантной защиты при культивировании с различными концентрациями карбоната магния $MgCO_3$ методом многомерной регрессии. Определение активности каталазы и супероксиддисмутазы в экстрактах из мицелиальной биомассы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Выбранный для исследований *Pleurotus ostreatus* штамм НК-35 из коллекции агрохимической лаборатории УНПК «Агроцентра» Вавиловского университета. Данный штамм обладает следующими особенностями: при созревании волны примерно одинаково плодоносят – 10–12% – первая, 7–10 – вторая, 5–7% – третья. Оптимальные параметры выращивания – температура 16–17 °С; влаж-

ность в момент завязывания примордий составляет 90%, после массового завязывания снижается до 88%, во время плодоношения поддерживается на уровне 85–87%; уровень углекислого газа не должен превышать 850 ppm.

Карбонат магния используется в качестве пищевой добавки Е 504. В России добавка Е 504 разрешена для изготовления продуктов из какао и шоколада, сыров и других продуктов согласно техническим требованиям производства. Магний представляет собой элемент, необходимый для процессов окисления, который не образует стойких органических соединений в мицелии грибов.

В России наибольший удельный вес в ассортименте магниевых удобрений приходится на известково-магниевые и калийно-магниевые удобрения, использование органических удобрений, в химическом составе которых имеется магний в пределах 0,01–0,09% (ГОСТ Р 58658–2019 Продукция сельскохозяйственная, сырье и продовольствие с улучшенными экологическими характеристиками) (см. табл. 1).

Культивирование проводили периодическим глубинным способом при температуре $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$ от 6 до 14 сут при непрерывном перемешивании (частота вращения 200 об./мин) в темноте на шейкере-инкубаторе в колбах вместимостью 750–1000 мл. Культивирование осуществлялось на жидких

питательных средах, содержащих различные концентрации карбоната магния, в 2%-м растворе муки первого сорта. Питательные среды автоклавировали при 1,2 атм в течение 0,5 ч.

Общую активность супероксиддисмутазы определяли по способности фермента ингибировать фотохимическое восстановление нитросинеготетразолия (NBT), согласно Гианнополитису и Райсу¹ с некоторыми модификациями, как описано О.Г. Полесской с соавторами². Количество растворимого белка в супернатанте определяли методом Бредфорда. Активность супероксиддисмутазы выражали в условных единицах на миллиграмм белка. Активность каталазы в жидких пробах измеряли по снижению концентрации H_2O_2 при контакте с белковыми экстрактами из мицелия. Активность каталазы определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 240 нм. Количество растворимого белка в супернатанте определяли методом Бредфорд³. Активность каталазы выражали в единицах $\text{mM} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{мг}^{-1}$ белка. Анализ кинетических кривых активности каталазы проводили при помощи программы UVWin5. Определение ростовых характеристик (скорость роста) при глубинном культивировании определяли в соответствии с рекомендациями⁴ по накоплению сухой биомассы в единицу времени в зависимости от продолжительности выращивания.

Опыты по измерению биомассы проводили в 5–10 повторностях, все остальные – в 3 повторностях. Для количественной обработки данных использовали метод главных компонент РСА, где особое внимание уделяется графикам счетов. На графике счетов каждый образец изображается в координатах (t_1, t_2) , обозначаемых ГК1 и ГК2. Важным свойством РСА является ортогональность (независимость) главных компонент. Близость двух точек обозначает их схожесть, то есть

Табл. 1. Дизайн эксперимента

Table 1. Experiment design

№ п/п	Группа	Исходная концентрация $MgCO_3$ в питательной среде, моль/л	Цвет обозначения
1	Контроль	–	Зеленый©
2	1-я	$1 \cdot 10^{-6}$	Сиреневый©
3	2-я	$1 \cdot 10^{-5}$	Красный©
4	3-я	$1 \cdot 10^{-4}$	Желтый©
5	4-я	$1 \cdot 10^{-3}$	Синий©

¹Giannopolitis C. N., Ries S.K. Superoxide Dismutases: I. Occurrence in Higher Plants // Plant Physiology. 1977. T. 59. P. 309–314.

²Polesskaya, O.G., Kashirina, E.I., Alekhina, N.D. Changes in the activity of antioxidant enzymes in wheat leaves and roots depending on the form and dose of nitrogen in the medium // Plant Physiology. 2004. N 5. P. 686–691.

³Bradford GPM.1.2.3.0012.15. Determination of protein, GENERAL PHARMACOPOLYMER MORNING, Instead of Art. GF XII, part 1.

⁴Dudka I.A., Vasser S.P., Ellanskaya I.A. and others. Methods of experimental mycology: a Handbook // Pod. ed. IN AND. Bilay. Kyiv: Naukova Dumka, 1982. 549 p.

положительную корреляцию. Зависимость среднего значения какой-либо величины от некоторой другой величины или от нескольких других величин. В отличие от чисто функциональной зависимости $y = f(x)$, когда каждому значению независимой переменной x соответствует одно определенное значение зависимой переменной y , при регрессионной связи одному и тому же значению независимой переменной (фактору) x могут соответствовать в зависимости от конкретного случая различные значения зависимой переменной (отклика) y . Если при каждом значении $x = x_i$ наблюдается n_i значений $y_{ij}; j = 1, n_i$, то зависимость средних арифметических

значений: $y_i = \frac{1}{n_i} \sum_{j=1}^{n_i} y_{ij}$ от x_i и является регрессией в статистическом понимании этого термина^{5, 6}.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения возможности применения метода главных компонент при обработке данных по активности ферментов каталазы и супероксиддисмутазы проведены экспериментальные исследования культивирования мицелия в средах, содержащих различные концентрации карбоната магния, указанные в табл. 1, в 2%-м растворе муки первого сорта. Питательные среды автоклавировали при 1,2 атм в течение 0,5 ч.

На рис. 1 приведены графики счетов по данным активности каталазы с несколькими переменными, включающими массу (m) белка в мг, Σ (сумма массы белка в образце); активность каталазы на миллиграмм белка (cat/мг белка); активность каталазы на микрограмм белка (cat/мкг белка); погрешность, для активности на 1 мг белка; погрешность, для активности на 1 мкг белка; $\Delta D/\min$ – погрешности измерения веса). Данные, полученные спектрофотометрическим методом при длине волны 240 нм на активность каталазы, для V пробы – 2 мл; ε – коэффициент молярной экстинкции H_2O_2 – 0,039 моль⁻¹; l – длина оптического пути – 1 см; t – 1 мин.

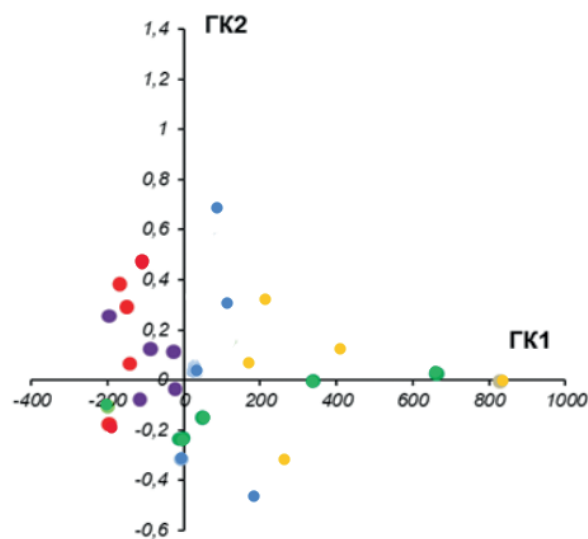


Рис. 1. Графики счетов (ГК1 и ГК2) по активности каталазы $mM \cdot \min^{-1} \cdot mg^{-1}$ белка (контроль – зеленый©; $1 \cdot 10^{-6}$ – сиреневый©; $1 \cdot 10^{-5}$ – красный©; $1 \cdot 10^{-4}$ – желтый©; $1 \cdot 10^{-3}$ – синий©)

Fig. 1. Graphs of scores (GS1 and GS2) for catalase activity $mM \cdot \min^{-1} \cdot mg^{-1}$ of the protein (control-green©; $1 \cdot 10^{-6}$ – lilac©; $1 \cdot 10^{-5}$ – red©; $1 \cdot 10^{-4}$ – yellow©; $1 \cdot 10^{-3}$ – blue©)

Полученные данные хорошо моделируются методом РСА с двумя главными компонентами. В данном анализе важен показатель зависимости образцов и переменных, которые представляют активность каталазы и ее спектральный диапазон. Анализ графиков счетов на рис. 1 показывает четкую зависимость активности каталазы от концентрации карбоната магния в питательной среде. Близость точек, выделенных красным (C_{MgCO_3} в питательной среде $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) и сиреневым ($1 \cdot 10^{-6}$ моль/л), демонстрирует быстрый рост биомассы мицелия и высокий показатель активности каталазы по сравнению с точками зеленого цвета (контроль). При построении регрессионной зависимости по методу наименьших квадратов (МНК) требуется, чтобы сумма квадратов отклонений экспериментальных значений от вычисленных по аппроксимирующей зависимости была минимальной, поэтому четко видно, как

⁵Pomerantsev A.L. Chemometrics in Excel: textbook. Tomsk, TPU Press. 2014. 435 p.

⁶Pomerantsev A.L. Chemometrics in Excel, John Wiley and Sons, 2014, 336 p.

разбросанно располагаются точки, выделенные желтым и синим цветом, с более высокими концентрациями магния в питательной среде (от $1 \cdot 10^{-4}$ до $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л). Это свидетельствует о снижении активности каталазы и роста мицелиарной массы, которые могут быть вызваны как повреждением структуры фермента, так и нарушением пути биосинтеза каталазы в присутствии большой концентрации магния. Поступающие в клетки растений токсиканты могут связываться с $-SH$, $-NH_2$, $-COOH$ группами аминокислот, входящими в состав фермента, что может привести к подавлению ферментативной активности. Хорошо известна концепция координированного действия активных форм кислорода (АФК) и метаболитов, важных для регуляции роста, развития и стресс-толерантности растительных организмов [18–20]. АФК – многофункциональные сигнальные молекулы, вносящие вклад в приспособительную способность, а воздействие какого-либо соединения – выраженного антиоксиданта – приводит к слабому развитию окислительного стресса. Вероятно, противодействуя АФК, агенты с антиоксидантными свойствами – металлосодержащие добавки – влияли на биохимические процессы макромицетов, могли служить одной из причин снижения ростовых показателей из-за отсутствия у грибов стресс-зависимой активации некоторых антиоксидантных ферментов. Кроме того, каталаза является хромопротеидом и имеет в качестве небелковой группы окисленный гем. Одна молекула каталазы способна вызвать разрушение 6×10^6 молекул H_2O_2 в секунду. Однако каталаза имеет низкое сродство к перекиси водорода, из-за этого начинает функционировать только при высоком ее содержании в клетке. Увеличение концентрации каталазы в клетках усиливает разложение перекиси водорода, что, в свою очередь, положительно влияет на скорость окислительно-восстановительных реакций. Возможно, повышение активности фермента ускоряет процессы метаболизма в клетке, оказывая влияние на скорость роста. Поэтому увеличение концентрации магния приводит к замедлению скорости роста био-

массы и активности каталазы за счет ответной реакции клеток на уровне ферментных компонентов системы антиоксидантной защиты при культивировании грибов.

Ключевыми антиоксидантными ферментами в клетках являются СОД, каталаза и пероксидаза. При этом СОД обеспечивает «первую линию» защиты клеток от АФК, катализируя реакцию дисмутации супероксидрадикала в различных компартментах клетки. Образовавшаяся в результате восстановления супероксида перекись водорода, молекула которой также относится к АФК, в свою очередь, нейтрализуется с помощью каталазы и ПО. Из литературных источников известно, что растения, устойчивые к различным неблагоприятным факторам среды, характеризуются более высокой активностью антиоксидантных ферментов по сравнению с неустойчивыми [20, 21]. В наших исследованиях определение активности супероксиддисмутазы проведено спектрофотометрическим методом при длине волны 560 нм, для построения графика счетов по активности СОД (усл. ед. / мг белка) также были задействованы указанные выше переменные.

Обнаруженное значительное увеличение активности СОД при концентрации магния в питательной среде (от $1 \cdot 10^{-6}$ до $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л), отмеченные на графике точками сиреневого и красного цвета, очевидно, обеспечивает защиту клеток от возрастания количества супероксидрадикалов. Результаты анализа рис. 2 свидетельствуют, что различные концентрации карбоната магния по-разному влияют на концентрацию белка при культивировании гриба *Pleurotus ostreatus*.

На графике счетов видно, что негативное влияние на активность супероксиддисмутазы мицелия гриба *Pleurotus ostreatus* показали концентрации $1 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-3}$. Низкий уровень СОД при увеличении концентрации магния в питательном растворе свидетельствует о том, что усиление окислительных процессов в их клетках не происходит. Предположительно, снижение интенсивности фермента СОД и роста биомассы в этом случае может быть связано с уменьшением количества АФК. Это, с одной стороны, связано с взаимодействием ионов металла с SH -группами мем-

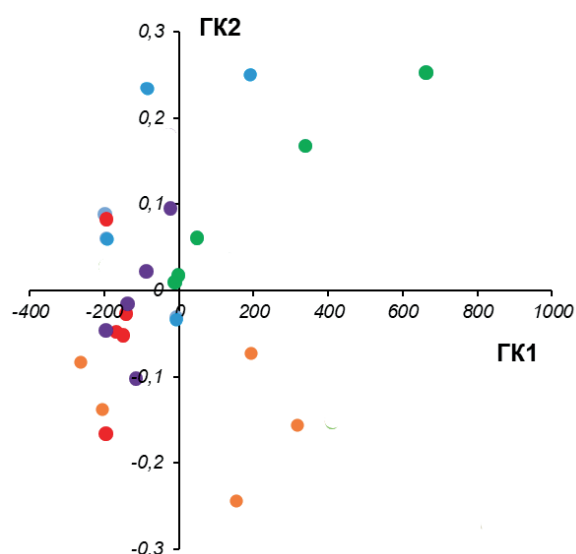


Рис. 2. Графики счетов (ГК1 и ГК2) по активности СОД, усл. ед. /мг белка (контроль – зеленый©; $1 \cdot 10^{-6}$ – сиреневый©; $1 \cdot 10^{-5}$ – красный©; $1 \cdot 10^{-4}$ – желтый©; $1 \cdot 10^{-3}$ – синий©)

Fig. 2. Graphs of scores (GS1 and GS2) by SOD activity, c. u. per mg of protein (control-green©; $1 \cdot 10^{-6}$ – lilac©; $1 \cdot 10^{-5}$ – red©; $1 \cdot 10^{-4}$ – yellow©; $1 \cdot 10^{-3}$ – blue©)

бренных белков, вызывающим изменение их свойств, с другой стороны, – со способностью металла опосредованно влиять на генерацию избыточных количеств АФК.

Анализ роста биомассы мицелия базидиомицетов, культивируемых погруженным способом в присутствии карбоната магния в различных концентрациях через 14 сут после засева питательных сред, выявил заметное

Табл. 2. Биомасса мицелия *Pleurotus ostreatus*, культивируемого в присутствии $MgCO_3$

Table 2. Biomass of mycelium *Pleurotus ostreatus* cultivated in the presence of $MgCO_3$

Концентрация в питательной среде (С), моль/л	Биомасса, мг	Биомасса, % к контролю*
Контроль*	836,6	100
$1 \cdot 10^{-6}$	1008,4	120,5
$1 \cdot 10^{-5}$	944,7	112,9
$1 \cdot 10^{-4}$	825,1	98,6
$1 \cdot 10^{-3}$	785,9	93,9

*Отсутствие $MgCO_3$ в питательной среде.

увеличение роста при концентрации $1 \cdot 10^{-6}$ и $1 \cdot 10^{-5}$ карбоната магния и составил 120,5 и 112,9% соответственно от контрольных показателей (см. табл. 2).

Однако более высокие концентрации, наоборот, имели снижение биомассы в процентных отношениях к контролю. Известно, что повышение содержания металлов в питательных средах приводит к ингибированию физиологических процессов, при этом степень ингибирования в значительной степени зависит от металлоустойчивости вида [20, 21].

Проведенное исследование показало, что различные концентрации магния по-разному влияют на концентрацию белка данного вида гриба. Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что важную роль в ускорении роста биомассы мицелия гриба *Pleurotus ostreatus* при использовании карбоната магния в растворе питательной среды с концентрацией $1 \cdot 10^{-6}$ и $1 \cdot 10^{-5}$ играют антиоксидантные ферменты, показатель активности которых хорошо моделируется методом многомерной регрессии.

Полученные данные свидетельствуют о том, что увеличение активности ферментов под воздействием ионов металлов в частности, в нашем исследовании карбоната магния, может происходить следующими путями:

- ионы металлов входят непосредственно в состав активного центра фермента (каталаза, пероксидаза);
- ионы металлов принимают участие в образовании фермент-субстратного комплекса (алкогольдегидрогеназа);
- ионы металлов способствуют поддержанию специфической каталитически активной конформации молекулы фермента, и в первую очередь его активного центра и т.д. Специфичность объясняется соответствием строения активного центра фермента и субстрата.

Таким образом, нами впервые были обработаны данные спектров поглощения по каталазной и супероксиддисмутазной активности методом многомерной регрессии в зависимости от фактора роста мицелиарной биомассы. Как показали результаты данного исследования, различный метаболический статус изу-

чаемых концентраций магния складывается на самых ранних этапах онтогенеза, и это выражается в различных значениях показателей активности ферментов и разнонаправленности метаболических стратегий. Изменения активности каталазы, как важного фермента, участвующего в формировании донорно-акцепторных отношений, также отражают различный метаболический статус роста мицелия гриба. Полученные результаты дают основание рассматривать метод многомерной регрессии перспективным подходом для экспрессной оценки спектрофотометрических данных.

ВЫВОДЫ

1. На основании проведенных исследований можно заключить, что применение карбоната магния в питательной среде в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$, $1 \cdot 10^{-6}$ влияет не только на ферментную активность базидиомицета *Pleurotus ostreatus*, но и на ростовые характеристики, а также на концентрацию белка в мицелиальных клетках.

2. Применение метода многомерной регрессии показывает, как взаимосвязаны между собой полученные переменные. Графики счетов наглядно указывают на зависимость роста мицелия от концентрации применяемой добавки.

3. Введение предложенных в работе условий культивирования в практику грибоводства потенциально сможет привести к более успешному противостоянию базидомицетов биотическому и абиотическому стрессу и внести определенный вклад в развитие фундаментальных основ науки о грибах. Культивируемые высшие грибы известны как природная биофабрика биологически активных соединений, в том числе антиоксидантных композиций. Проведенные исследования демонстрируют возможность увеличения выхода биомассы базидиомицетов при изменении условий их культивирования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bhat M.A. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable and eco-friendly agriculture // Acta Scientific Agriculture. 2019. Vol. 3. N 1. C. 23–25.
2. Siyar S. Plant growth promoting rhizobacteria and plants' improvement-a mini-review // PSM Biological Research. 2019. Vol. 4. N 1. C. 1–5.
3. Fukami J. Azospirillum: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation // AMB Express. 2018. Vol. 8. N 1. P. 1–12.
4. Oh S.Y. Effect of fruiting body bacteria on the growth of Tricholoma matsutake and its related molds // PLoS One. 2018. Vol. 13. N 2. P. 0190948.
5. Zhang W.R. Development of a novel spawn (block spawn) of an edible mushroom, *Pleurotus ostreatus*, in liquid culture and its cultivation evaluation // Mycobiology. 2019. Vol. 47. N 1. P. 97–104.
6. Kumari S., Naraian R. Enhanced growth and yield of oyster mushroom by growth-promoting bacteria *Glutamicibacter arilaitensis* MRC119 // Journal of Basic Microbiology. 2021. Vol. 61. N 1. C. 45–54.
7. Majesty D. Nutritional, anti-nutritional and biochemical studies on the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus* // EC Nutrition. 2019. Vol. 14. N 1. P. 36–59.
8. Mutukwa I.B. Evaluation of drying method and pretreatment effects on the nutritional and antioxidant properties of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) // Journal of Food Processing and Preservation. 2019. Vol. 43. N 4. P. 13910.
9. Nam W.L. Production of bio-fertilizer from microwave vacuum pyrolysis of palm kernel shell for cultivation of Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) // Science of the total environment. 2018. Vol. 624. P. 9–16.
10. Phan C.W. Giant oyster mushroom, *Pleurotus giganteus* (Agaricomycetes): current status of the cultivation methods, chemical composition, biological, and health-promoting properties // Food Reviews International. 2019. Vol. 35. N 4. C. 324–341.
11. Sangeetha K. Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus* sp.) using different substrates and evaluate their potentials of antibacterial and phytochemicals // International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences. 2019. Vol. 10. N 2. C. 997–1001.
12. Vetvicka V. Immune-modulating activities of glucans extracted from *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii* // Journal of Functional Foods. 2019. Vol. 54. P. 81–91.
13. Zhu B. The hepatoprotective effect of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* on carbon tet-

- rachloride-induced acute liver injury rats // International journal of biological macromolecules. 2019. Vol. 131. P. 1–9.
14. Tsivileva O.M., Pankratov A.N., Misin V.M., Zavyalov A.Y., Volkov V.A., Tsymbal O.A., Yurasov N.A., Nikitina V.E. Antioxidant properties of the Artist's Conk medicinal mushroom, *Ganoderma applanatum* (Agaricomycetes), upon cultivation with para-substituted phenolic compounds and tea leaf extracts // International Journal of Medicinal Mushrooms. 2018. Vol. 20. N 6. P. 549–560.
 15. Глазунова А.В., Песцов Г.В. Культивирование гриба *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kumm. на различных субстратах // Вестник современных исследований. 2018. № 7.1 (22). С. 190–191.
 16. Кульгавеня А.Д., Нукандров В.Н. Протеолитическая активность мицелиальной культуры гриба вешенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*) при глубинном культивировании // Вестник Полесского государственного университета. Серия природоведческих наук. 2020. № 1. С. 12–23.
 17. Zied D.C., Cardoso C., Pardo-Gimenez A., Dias E., Zeraik M.L., Pardo J.E. Using of appropriated strains in the practice of compost supplementation for *Agaricus subrufescens* production // Front Sustain Food Syst. 2018. DOI: 10.3389/fsufs.2018.00026.
 18. Xia K., Weesner F., Bleam W.F., Bloom P.R., Skyllberg U.L., Helmke P.A. XANES studies of oxidation states of sulfur in aquatic 82 and soil humic substances // Soil Science Society of America (United States). 2015. Vol. 62. P. 1240–1246.
 19. Milanović Z., Pantelić S., Čović N., Sporiš G., Mohr M., Krusturup P. Broad-spectrum physical fitness benefits of recreational football: a systematic review and meta-analysis // British Journal of Sports Medicine. 2019. N 53 (15). P. 93–98.
 20. Песцов Г.В., Третьякова А.В., Мяжкова А.С., Яковлева Ж.А. Выделение и развитие мицелия гриба *Pleurotus ostreatus* на различных питательных средах // Форум молодёжной науки. 2022. Т. 3. № 2. С. 4–7.
 21. Ali N., Zhang Q., Liu Z.Y., Li F.L., Lu M., Fang X.C. Emerging technologies for the pretreatment of lignocellulosic materials for bio-based products // Appl Microbiol Biotechnol. 2020. Vol. 104 (2). P. 455–473.
 - agriculture. *Acta Scientific Agriculture*, 2019, vol. 3, no. 1, pp. 23–25.
 2. Siyar S. Plant growth promoting rhizobacteria and plants' improvement-a mini-review. *PSM Biological Research*, 2019, vol. 4, no. 1, pp. 1–5.
 3. Fukami J. Azospirillum: benefits that go far beyond biological nitrogen fixation. *AMB Express*, 2018, vol. 8, no. 1, pp. 1–12.
 4. Oh S.Yu. Effect of fruiting body bacteria on the growth of *Tricholoma matsutake* and its related molds. *PLoS One*, 2018, vol. 13, no. 2, pp. e0190948.
 5. Zhang W.R. Development of a novel spawn (block spawn) of an edible mushroom, *Pleurotus ostreatus*, in liquid culture and its cultivation evaluation. *Mycobiology*. 2019, vol. 47, no. 1, pp. 97–104.
 6. Kumari S., Naraian R. Enhanced growth and yield of oyster mushroom by growth-promoting bacteria *Glutamicibacter arilaitensis* MRC119. *Journal of Basic Microbiology*, 2021, vol. 61, no. 1, pp. 45–54.
 7. Majesty D. Nutritional, anti-nutritional and biochemical studies on the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *EC Nutrition*, 2019, vol. 14, no. 1, pp. 36–59.
 8. Mutukwa I.B. Evaluation of drying method and pretreatment effects on the nutritional and antioxidant properties of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 2019, vol. 43, no. 4, pp. 13910.
 9. Nam W.L. Production of bio-fertilizer from microwave vacuum pyrolysis of palm kernel shell for cultivation of Oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*). *Science of the total environment*, 2018, vol. 624, pp. 9–16.
 10. Phan C.W. Giant oyster mushroom, *Pleurotus giganteus* (Agaricomycetes): current status of the cultivation methods, chemical composition, biological, and health-promoting properties. *Food Reviews International*, 2019, vol. 35, no. 4, pp. 324–341.
 11. Sangeetha K. Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus* sp.) using different substrates and evaluate their potentials of antibacterial and phytochemicals. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 2019, vol. 10, no. 2, pp. 997–1001.
 12. Vetvicka V. Immune-modulating activities of glucans extracted from *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus eryngii*. *Journal of Functional Foods*, 2019, vol. 54, pp. 81–91.

REFERENCES

1. Bhat M.A. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable and eco-friendly

13. Zhu B. The hepatoprotective effect of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* on carbon tetrachloride-induced acute liver injury rats. *International journal of biological macromolecules*, 2019, vol. 131, pp. 1–9.
14. Tsivileva O.M., Pankratov A.N., Misin V.M., Zavyalov A.Y., Volkov V.A., Tsymbal O.A., Yurasov N.A., Nikitina V.E. Antioxidant properties of the Artist's Conk medicinal mushroom, *Ganoderma applanatum* (Agaricomycetes), upon cultivation with para-substituted phenolic compounds and tea leaf extracts. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2018, vol. 20, no. 6. P. 549–560.
15. Glazunova A.V., Pestsov G.V. Cultivation of the fungus *Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kumm. on different substrates. *Vestnik sovremennykh issledovaniy = Bulletin of Modern Research*, 2018, no. 7.1 (22), pp. 190–191. (In Russian).
16. Kul'gavenya A.D., Nikandrov V.N. Proteolytic activity of fungus *Pleurotus ostreatus* mycelial culture in deep-liquid cultivation. *Vestnik Polesskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya prirodovedcheskikh nauk = Bulletin of Polessky State University. Series in Natural Sciences*, 2020, no. 1, pp. 12–23. (In Russian).
17. Zied D.C., Cardoso C., Pardo-Gimenez A., Dias E., Zeraik M.L., Pardo J.E. Using of appropriated strains in the practice of compost supplementation for *Agaricus subrufescens* production. *Front Sustain Food Syst*, 2018. DOI: 10.3389/fsufs.2018.00026.
18. Xia K., Weesner F., Bleam W.F., Bloom P.R., Skyllberg U.L., Helmke P.A. XANES studies of oxidation states of sulfur in aquatic and soil humic substances. *Soil Science Society of America (United States)*, 2015, vol. 62, pp. 1240–1246.
19. Milanović Z., Pantelić S., Čović N., Sporiš G., Mohr M., Krustup P. Broad-spectrum physical fitness benefits of recreational football: a systematic review and meta-analysis. *British Journal of Sports Medicine*, 2019, no. 53 (15), pp. 93–98.
20. Pestsov G.V., Tret'yakova A.V., Myagkova A.S., Yakovleva Zh.A. Isolation and development of the mycelium of the fungus *Pleurotus ostreatus* on various nutrient media. *Forum molodezhnoi nauki = Youth Science Forum*, 2022, vol. 3, no. 2, pp. 4–7. (In Russian).
21. Ali N., Zhang Q., Liu Z.Y., Li F.L., Lu M., Fang X.C. Emerging technologies for the pretreatment of lignocellulosic materials for bio-based products. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, vol. 104 (2), pp. 455–473.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

✉ Ловцова Л.Г., кандидат технических наук, доцент; адрес для переписки: Россия, 410012, Саратов, Театральная площадь, 1; e-mail: larisalovtsova2018@mail.ru

Забелина М.В., доктор биологических наук, профессор

Майоров А.В., младший научный сотрудник

Усков К. Ю., аспирант

Тюрин И.Ю., кандидат технических наук, доцент

Мавзовин В.С., кандидат математических наук, доцент

AUTHOR INFORMATION

✉ Larisa G. Lovtsova, Candidate of Science in Engineering, Associate Professor; address: 1, Teatralnaya Ploshad, Saratov, 410012, Russia; e-mail: larisalovtsova2018@mail.ru

Margarita V. Zabelina, Doctor of Science in Biology, Professor

Alexander V. Mayorov, Junior Researcher

Kirill Yu. Uskov, Post-graduate Student

Igor Yu. Tyurin, Candidate of Science in Engineering, Associate Professor

Vladimir S. Mavzovin, Candidate of Science in Mathematics, Associate Professor

Дата поступления статьи / Received by the editors 24.10.2022
Дата принятия к публикации / Accepted for publication 27.01.2023
Дата публикации / Published 20.07.2023