

УДК 574.24 +57.045

doi: 10.21685/2307-9150-2024-4-5

Изменение активности оксидоредуктаз грибов под воздействием субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов, обладающих фотокаталитическим эффектом

А. Ю. Шишкин¹, К. А. Шишкина², В. Ф. Смирнов³,
Н. А. Аникина⁴, Т. А. Веселова⁵

^{1,2,3,4,5}Национальный исследовательский Нижегородский государственный
университет имени Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

¹uandshi@yandex.ru, ²Ksenia.loshdka@yandex.ru, ³biodeg@mail.ru,
⁴undinaf@gmail.com, ⁵veselova-ta@yandex.ru

Аннотация. *Актуальность и цели.* Для научно обоснованного и эффективного использования новых биоцидных соединений в качестве средств защиты промышленных материалов от биоповреждений необходимы экофизиологические исследования по оценке их влияния на микроорганизмы-деструкторы. Целью исследования является оценка воздействия субмикронных частиц новых фотокаталитически активных оксидов тяжелых металлов, обладающих антимикробными свойствами, на активность эндо- и экзооксидоредуктаз грибов-активных деструкторов промышленных материалов в темноте и при освещении видимым светом. *Материалы и методы.* Грибы культивировали на питательных средах с индукторами ферментов и субмикронными частицами в темноте и при освещении. Активность ферментов определялась спектрофотометрически в культуральной жидкости и в мицелии грибов. *Результаты.* В ходе экспериментов установлена неоднозначность действия субмикронных частиц вновь синтезированных сложных оксидов тяжелых металлов $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ и $CsTeMoO_6$, обладающих фотокаталитическим эффектом, на активность экзо- и эндооксидоредуктаз грибов-деструкторов промышленных материалов *Penicillium cyclopium* F-245 и *Chaetomium globosum* F-109 в темноте и в условиях воздействия света видимого спектра. В подавляющем большинстве имело место увеличение активности исследуемых энзимов, как в условиях воздействия света, так и в условиях темноты. В ряде вариантов активность оксидоредуктаз увеличивалась в 8–10 раз. *Выводы.* Подобный эффект может быть связан как с физиолого-биохимическими особенностями исследуемых культур, так и с различными (темновыми и световыми) механизмами ингибирующего действия оксидов тяжелых металлов на метаболизм микромицет, например от способности оксидов металлов образовывать разные виды активных форм кислорода в условиях воздействия света.

Ключевые слова: фотокаталитически активные оксиды металлов, субмикронные частицы, грибы-деструкторы, оксидоредуктазы, биоповреждение, биодеградация

Финансирование: работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (базовая часть госзадания, проект FSWR-2023-0024). Для проведения исследований использовано оборудование Центра коллективного пользования «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» (ННГУ им. Н. И. Лобачевского, г. Нижний Новгород).

Для цитирования: Шишкин А. Ю., Шишкина К. А., Смирнов В. Ф., Аникина Н. А., Веселова Т. А. Изменение активности оксидоредуктаз грибов под воздействием субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов, обладающих фотокаталитическим эффектом // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2024. № 4. С. 43–59. doi: 10.21685/2307-9150-2024-4-5

Changes in the activity of fungal oxidoreductases under the influence of submicron particles of heavy metal oxides with a photocatalytic effect

A.Yu. Shishkin¹, K.A. Shishkina², V.F. Smirnov³,
N.A. Anikina⁴, T.A. Veselova⁵

^{1,2,3,4,5}National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod,
Nizhny Novgorod, Russia

¹uandshi@yandex.ru, ²Ksenia.loshdka@yandex.ru, ³biodeg@mail.ru,
⁴undinaf@gmail.com, ⁵veselova-ta@yandex.ru

Abstract. *Background.* For scientifically substantiated and effective application of new biocidal compounds as means of protecting industrial materials from biodamage, ecophysiological studies are necessary to assess their effect on destructor microorganisms. The purpose of this study was assessing the effect of antimicrobial submicron particles of new photocatalytically active heavy metal oxides on the activity of endo- and exooxidoreductases of fungi – active destructors of industrial materials under dark and visible light conditions. *Materials and methods.* Fungi were cultivated on nutrient media with enzyme inducers and submicron particles in the dark and under illumination. Enzyme activity was determined spectrophotometrically in the culture liquid and in the mycelium of fungi. *Results.* The ambiguous effect of submicron particles of newly synthesized complex heavy metal oxides $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ and $CsTeMoO_6$, possessing a photocatalytic effect, on the activity of exo- and endooxidoreductases of fungi destructing industrial materials *Penicillium cyclopium* F-245 and *Chaetomium globosum* F-109 under dark and visible light conditions was established. There was an increase in the activity of the studied enzymes, both under the influence of light and in the dark in the overwhelming majority. In some variants, the activity of oxidoreductases increased by 8–10 times. *Conclusions.* Observed effect can be associated with both the physiological and biochemical characteristics of the studied cultures, and with different (dark and light) mechanisms of the inhibitory effect of heavy metal oxides on the metabolism of micromycetes, for instance with ability metal oxide produce different types of reactive oxygen species under light.

Keywords: photocatalytically active metal oxides, submicron particles, fungi-destructor, oxidoreductases, biodeterioration, biodegradation

Financing: the research was financed by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (the basic part of the state assignment, project FSWR-2023-0024). The research was carried out using the equipment of the Center for Collective Use “New Materials and Resource-Saving Technologies” (Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod).

For citation: Shishkin A.Yu., Shishkina K.A., Smirnov V.F., Anikina N.A., Veselova T.A. Changes in the activity of fungal oxidoreductases under the influence of submicron particles of heavy metal oxides with a photocatalytic effect. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki* = *University proceedings. Volga region. Natural sciences*. 2024;(4):43–59. (In Russ.). doi: 10.21685/2307-9150-2024-4-5

Введение

Антропогенное влияние человека на окружающую среду весьма многообразно. В частности, создаваемые человеком новые промышленные материалы вносятся им в биосферу. Попадая в окружающую среду, материалы способны по-разному взаимодействовать с живыми организмами. Многие из них могут оставаться нейтральными и не оказывать какого-либо влияния на жизнедеятельность живых организмов, другие, напротив, способны оказывать токсическое действие и вызывать их гибель, а третьи – в различной степени вовлекаются в трофические цепи, т.е. используются живыми организмами в качестве источников питания (углерода и энергии) [1–5]. В последнем случае промышленные материалы в процессе своей функциональной эксплуатации подвергаются негативному воздействию микроорганизмов, главным образом, микроскопических грибов и бактерий, которые вызывают процессы биодegradации и биоповреждений промышленных материалов и изделий.

Успешное решение такой важной экологической проблемы, как биоповреждение промышленных материалов, позитивным образом повлияет на ресурсосбережение и, кроме этого, положительным образом скажется на качестве среды обитания человека, так как среди грибов, участвующих в процессах биоповреждения, встречаются штаммы, способные вызывать различные заболевания человека: техногенные микозы, микотоксикозы и микоаллергозы [6].

Основным способом защиты промышленных материалов от биоповреждений является введение в их состав различных биоцидных присадок (биоцидов). Арсенал биоцидных соединений постоянно обновляется в связи с высокой адаптационной способностью микроорганизмов к действию химических факторов, а также с поиском соединений, оказывающих пониженную экологическую нагрузку на окружающую среду.

В последнее время в качестве средств защиты находят применение соединения, обладающие фотокаталитической активностью, в частности оксиды тяжелых металлов. Установлено, что биоцидный эффект этих соединений усиливается на свету. Это позволяет добиваться антимикробного действия при снижении их концентрации в защищаемых промышленных материалах, что снижает экологическую нагрузку на окружающую среду и обосновывает целесообразность их использования. Большинство оксидов металлов проявляет фотокаталитическую активность в УФ-спектре. Поэтому весьма перспективным является поиск оксидов металлов, обладающих фотокаталитической активностью в видимом свете.

Свет, как и другие абиотические факторы, способен воздействовать на всех участников процессов биоповреждения: субстрат, промышленный материал, агент биоповреждения (живые организмы) и средство защиты [7]. Если воздействие света на промышленные материалы и живые организмы достаточно хорошо изучено, то действие света на средства защиты промышленных материалов исследовано недостаточно. Плановый и целенаправленный подбор средств защиты невозможен без изучения экофизиологических механизмов ингибирующего действия биоцидных соединений на метаболизм деструкторов. Зная, какие метаболиты микромицетов (экзоферменты, органические кислоты) участвуют в деструктивном процессе того или иного материала, можно научно обоснованно и наиболее эффективно рекомендовать использование в качестве средств защиты тот или иной биоцид, исходя из знания экофизиологических механизмов его ингибирующего действия на жизнедеятельность грибов.

Известно, что одними из метаболитов грибов, участвующих в биодеградации промышленных материалов и поддержании окислительно-восстановительного гомеостаза, являются оксидоредуктазы [2, 4]. В связи с этим представляет интерес исследовать воздействие субмикронных частиц вновь синтезированных сложных оксидов тяжелых металлов $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 , обладающих фотокаталитическим эффектом, на активность эндо- и экзооксидоредуктаз грибов *Penicillium cyclopium* и *Chaetomium globosum* деструкторов промышленных материалов.

Материалы методы

В качестве тест-культур грибов использовали штаммы *Penicillium cyclopium* F-245 и *Chaetomium globosum* F-109 (ВКМ, ИБФМ РАН, г. Пущино, Россия), которые являются распространенными биодеструкторами различных промышленных материалов и активными продуцентами экзоферментов, а также не требуют специальных условий для выращивания.

В качестве субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов, обладающих фотокаталитической активностью, были использованы $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 с размером 736 и 670 нм соответственно. Данные соединения впервые получены в НИИ химии ННГУ им. Н. И. Лобачевского, г. Нижний Новгород. Методы синтеза, особенности фотокаталитических реакций и их антимикробные свойства описаны в работах [8–12]. Оксид вольфрама WO_3 со средним размером частиц 674 нм, также обладающий фотокаталитической активностью, был взят для сравнения.

Культивирование микроскопических грибов. Для культивирования грибов использовали неагаризованную питательную среду Чапека – Докса следующего состава: NaNO_3 (2,0 г/л), KH_2PO_4 (0,7 г/л), K_2HPO_4 (0,3 г/л), KCl (0,5 г/л), $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5 г/л), $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (0,01 г/л), сахара (30,0 г/л). Грибы культивировали в 50 мл питательной среды в плоскодонных колбах объемом 100 мл. Для приготовления суспензии спор грибов (1×10^6) были взяты 7-суточные культуры. Подсчет количества спор осуществляли с помощью камеры Горяева. В каждую колбу с жидкой ППС вносили 1 мл суспензии спор. Колбы помещали на перемешивающие устройства АПУ-4М, обеспечивающие встряхивание со скоростью 110 об/мин. Культивировали грибы в течение четырех суток. Затем добавляли исследуемые оксиды тяжелых металлов в концентрации 2 мг/мл. Одну часть колб оставляли на свету, другую часть – накрывали плотной бумагой, создавая условия темноты. Возвращали на перемешивающие устройства еще на 7 дней. В экспериментах по определению активности экзофенолоксидазы в качестве индуктора в питательную среду вносили 10 г/л сосновых опилок.

Источник светового излучения. В качестве источника светового излучения использовали светодиодные прожекторы JAZZWAY PFL-C3 мощностью 50 Вт, которые располагались на расстоянии 15 см от поверхности образцов, для исключения влияния теплового эффекта. Поверхностная плотность потока излучения составляла 524 Вт/м².

Определение активности оксидоредуктаз. В экспериментах определялась общая активность соответствующих эндо- и экзооксидоредуктаз грибов. Для определения активности эндооксидоредуктаз 0,1 г мицелия гомогенизировали в фосфатном буфере (pH 7,4) с помощью гомогенизатора Stegler S10 (Китай). Затем образцы центрифугировали, охлаждая при 10000 g, и полученный

супернатант использовали для анализа. Активность экзоферментов определялась в культуральной жидкости (КЖ) исследованных грибов.

Оптическую плотность реакционной смеси определяли на спектрофотометре Shimadzu UV-mini 1240 (Япония) в режиме фотометрии [13].

Определение активности каталазы проводилось по стандартному методу (Li, Shellhorn, 2007). В качестве субстрата использовался 30 Ммоль раствор пероксида водорода. Измерения проводились при $\lambda = 240$ нм. В кювету спектрофотометра толщиной 1 см помещали: 1 мл буферного раствора pH = 7,8; 1 мл супернатанта; 1 мл 30 Мм H_2O_2 . Измерения проводили в течение одной минуты. В контрольной кювете H_2O_2 заменяли водой. Активность каталазы выражали в условных единицах (у.е.), равных количеству H_2O_2 в мМ в 1 мл реакционной смеси за 1 мин, в пересчете на 1 мг общего белка.

Определение активности фенолоксидазы проводили по стандартной методике (Flurkey et al., 2007). В качестве субстрата использовали пирокатехин. Измерения проводили при $\lambda = 535$ нм. В кювету спектрофотометра толщиной 1 см помещали: 1 мл фосфатного буфера ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{NaOH}$), pH 7.2; 1 мл 0.1 М раствора *n*-фенилендиамина; 1 мл 1 % раствора пирокатехина, 1 мл супернатанта. В контрольной кювете пирокатехин заменяли водой. Активность фермента выражали в условных единицах (у.е.), равных приращению оптической плотности в 1 мл реакционной смеси за 1 мин, в пересчете на 1 мг общего белка.

Определение активности пероксидазы проводилось по модифицированному методу (Nagaraja, 2009). В качестве субстрата использовали *n*-фенилендиамин (0,1 М). Измерения проводили при $\lambda = 535$ нм. В кювету спектрофотометра толщиной 1 см помещалось: 1,5 мл буферного раствора pH = 7,2; 0,5 мл культуральной жидкости; 0,5 мл 0,1 М раствора *n*-фенилендиамина; 0,5 мл 0,03 % H_2O_2 . В контрольной кювете H_2O_2 заменяли водой. За единицу активности принималось приращение оптической плотности в 1 мл реакционной смеси за 1 мин, в пересчете на 1 мг общего белка.

Определение общего количества белка проводилось методом Лоури (Досон и др., 1991). Оптическую плотность определяли на спектрофотометре в режиме фотометрии, при $\lambda = 750$ нм.

Полученные экспериментальные данные были статистически обработаны с помощью программного обеспечения «Microsoft Excel 365» и Origin Pro 2015. Достоверность результатов оценивали с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни (U) с поправкой Холма. В таблицах и на рисунках приведены средние значения всех опытов со стандартными ошибками в виде среднеквадратичного отклонения.

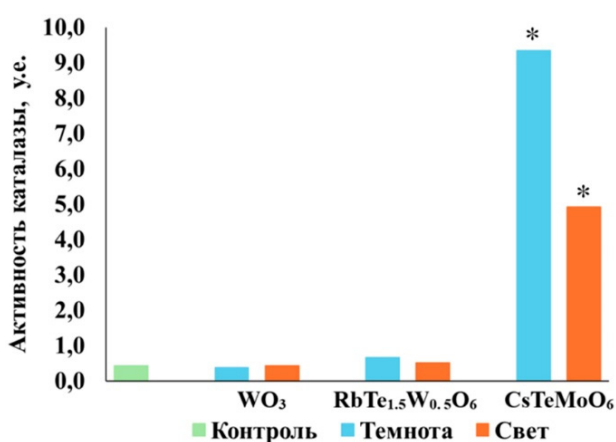
Результаты были получены в трех независимых экспериментах. Каждый вариант в эксперименте представлен в пяти повторностях.

Результаты

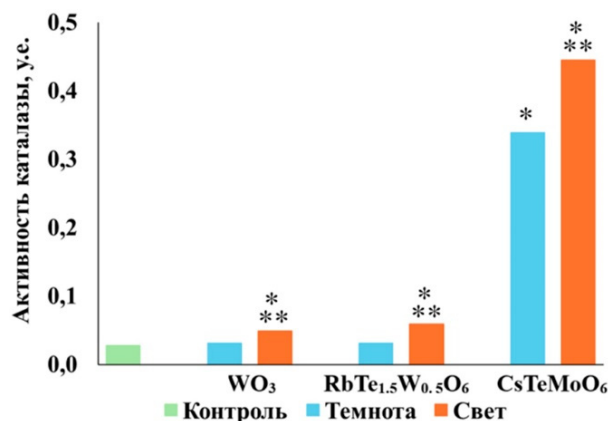
Ранее установлены антимикробные свойства субмикронных частиц WO_3 , $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 по отношению к грам «+» и грам «-» бактериям, спорам и вегетативному мицелию грибов. Было установлено, что свет усиливал биоцидный эффект исследуемых частиц [10–12]. Также было показано, что введение $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 в состав некоторых полимерных материалов придает последним антимикробные свойства. Однако механизмы

воздействия данных соединений на метаболизм грибов-деструкторов промышленных материалов до конца не изучены, что сдерживает научно обоснованное, целенаправленное и эффективное применение данных соединений в качестве биоцидных присадок к промышленным материалам. На рис. 1–3 показаны результаты исследования влияния оксидов тяжелых металлов на активность экзooksидоредуктаз.

Анализ результатов экспериментов по оценке влияния субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов на активность экзooksидоредуктаз грибов *C. globosum* и *P. cyclospium* показал, что исследуемые соединения не оказывали ингибирующего эффекта на активность данного фермента (рис. 1). Субмикронные частицы CsTeMoO_6 вызывали существенное увеличение активности каталазы у исследуемых грибов, как в условиях темноты, так и при воздействии света. Для гриба *P. cyclospium* было показано, что активность каталазы в культуральной жидкости (КЖ) незначительно повышалась в присутствии субмикронных частиц WO_3 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в условиях воздействия света.



а)



б)

Рис. 1. Воздействие света на активность экзooksидоредуктазы *C. globosum* (а) и *P. cyclospium* (б) в присутствии исследуемых оксидов: * – значимые различия варианта «контроль» от варианта «в темноте»; ** – значимые различия варианта «в темноте» от варианта «в условиях воздействия света»

Результаты исследования влияния субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов на активность экзопероксидаз грибов *C. globosum* и *P. cyclopium* представлены на рис. 2.

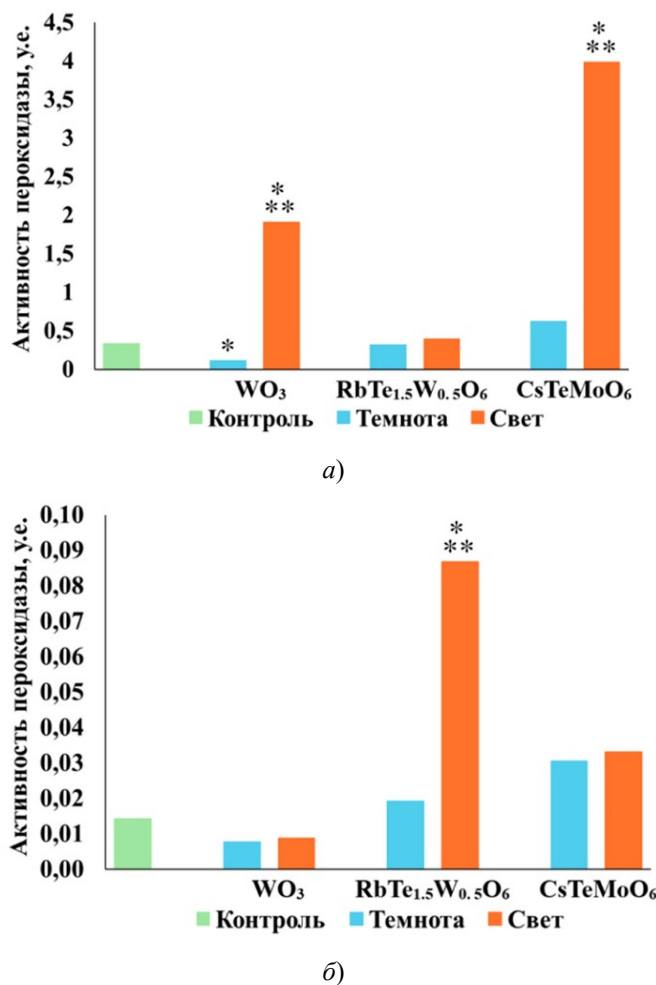
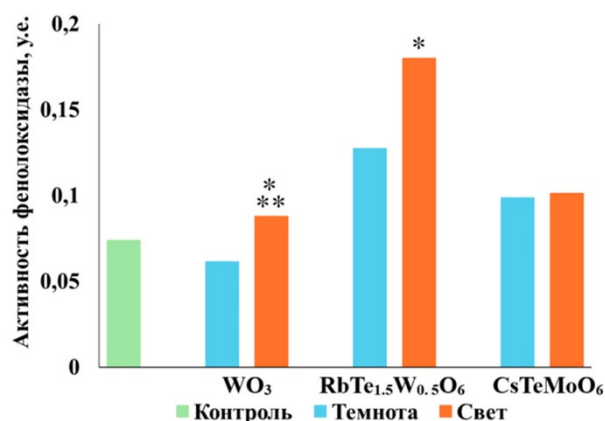


Рис. 2. Воздействие света на активность экзопероксидазы *C. globosum* (a) и *P. cyclopium* (б) в присутствии исследуемых оксидов:

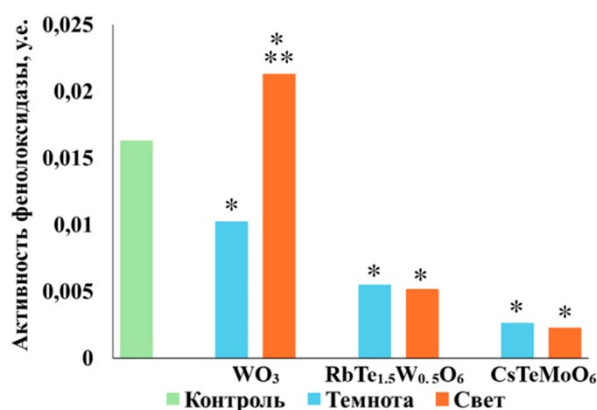
* – значимые различия варианта «контроль» от варианта «в темноте»; ** – значимые различия варианта «в темноте» от варианта «в условиях воздействия света»

Было показано, что активность экзопероксидазы повышалась только под воздействием света в присутствии WO_3 и $CsTeMoO_6$ у гриба *C. globosum*, а также в присутствии $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ у гриба *P. cyclopium*. Увеличение активности фермента происходило только на свету, что может быть обусловлено влиянием образующихся при фотокатализе АФК. Стоит отметить, что в присутствии WO_3 в условиях темноты наблюдалось снижение активности экзопероксидазы *C. globosum*.

Результаты исследования влияния WO_3 , $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ и $CsTeMoO_6$ на фенолоксидазную активность используемых в работе грибов представлены на рис. 3.



а)



б)

Рис. 3. Воздействие света на активность экзофенолоксидазы *C. globosum* (а) и *P. cyclospium* (б) в присутствии исследуемых оксидов: * – значимые различия варианта «контроль» от варианта «в темноте»; ** – значимые различия варианта «в темноте» от варианта «в условиях воздействия света»

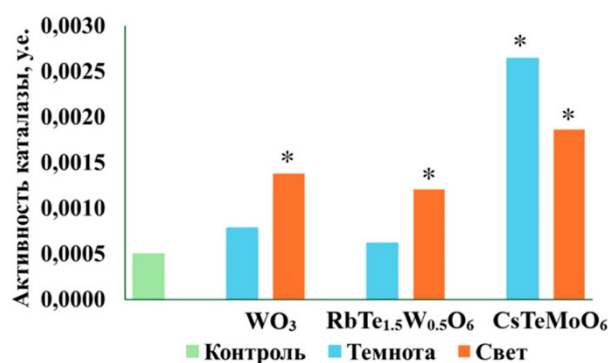
Было показано, что активность экзофенолоксидазы гриба *C. Globosum* увеличивалась по сравнению с контролем только в присутствии $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ в условиях воздействия света. Снижение активности данного фермента наблюдалось при наличии в среде WO_3 в условиях темноты (рис. 3).

В случае *P. cyclospium* субмикронные частицы оксидов тяжелых металлов вызвали снижение активности внеклеточной фенолоксидазы гриба, как в условиях темноты, так и при воздействии светового излучения, за исключением варианта с WO_3 в условиях освещения. В последнем случае активность фенолоксидазы не отличалась от контроля, однако была выше по сравнению с вариантом «в темноте». В вариантах с $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ и $CsTeMoO_6$ световое излучение не оказывало ни стимулирующего, ни ингибирующего эффекта на активность экзофенолоксидазы по сравнению с темновыми условиями.

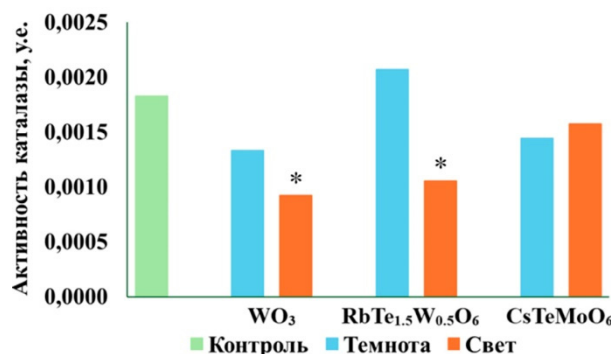
Результаты эксперимента по действию изучаемых соединений на активность эндооксидоредуктаз представлены на рис. 4–6. Субмикронные частицы оксидов тяжелых металлов способны разрушать мембраны и вызывать окислительный стресс, в том числе и за счет образования АФК в условиях

воздействия светового излучения. В результате проникновения наноразмерных фракций частиц и ионов тяжелых металлов, нарушения целостности клеточных стенок и мембран и, как следствие, гомеостаза клеток грибов субмикронные частицы оксидов способны влиять на активность и внутриклеточных ферментов.

В связи с этим на данном этапе было исследовано действие субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов WO_3 , $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ и CsTeMoO_6 на активность внутриклеточной каталазы грибов *P. cyclopium* и *C. globosum*. Результаты исследования представлены на рис. 4.



a)



б)

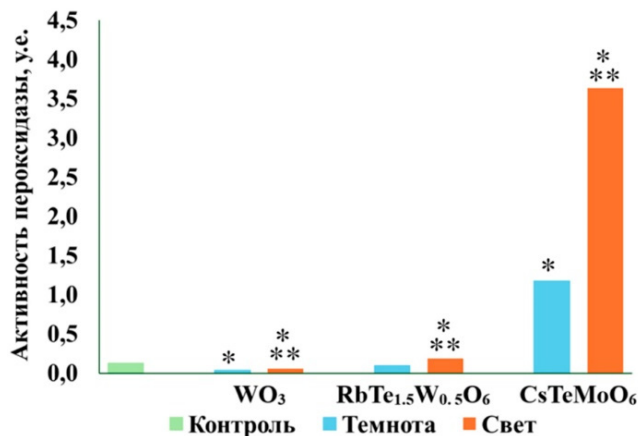
Рис. 4. Воздействие света на активность эндокаталазы *C. globosum* (a) и *P. cyclopium* (б) в присутствии исследуемых оксидов: * – значимые различия варианта «контроль» от варианта «в темноте»; ** – значимые различия варианта «в темноте» от варианта «в условиях воздействия света»

В случае с *C. globosum* субмикронные частицы исследуемых оксидов металлов вызвали увеличение активности внутриклеточной каталазы в вариантах с WO_3 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ только в условиях воздействия светового излучения и в вариантах с CsTeMoO_6 как в темноте, так и при освещении (рис. 4).

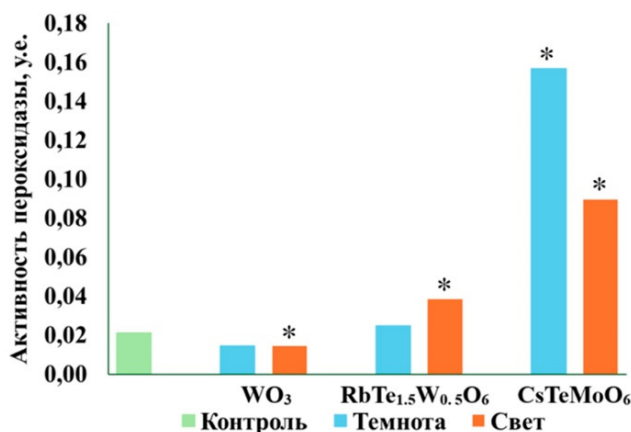
Иная картина наблюдалась в случае *P. cyclopium*. Как показали результаты исследования, субмикронные частицы исследуемых оксидов тяжелых металлов не оказывали значительного влияния на изменение активности эндокаталазы *P. cyclopium*, за исключением вариантов с WO_3 и $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ в условиях воздействия светового излучения. Здесь наблюдалось незначительное

снижение активности каталазы. Это может быть обусловлено ингибированием фермента катионами тяжелых металлов, выходящих из субмикронных частиц, или за счет механизма их фотокатализа, при котором образуются $\bullet\text{OH}$ радикалы, которые способны повреждать белки, взаимодействуя с аминокислотами и т.п.

Сложный оксид CsTeMoO_6 значительно увеличивал активность эндопероксидазы исследуемых грибов как в условиях темноты, так и при воздействии светового излучения (рис. 5).



a)

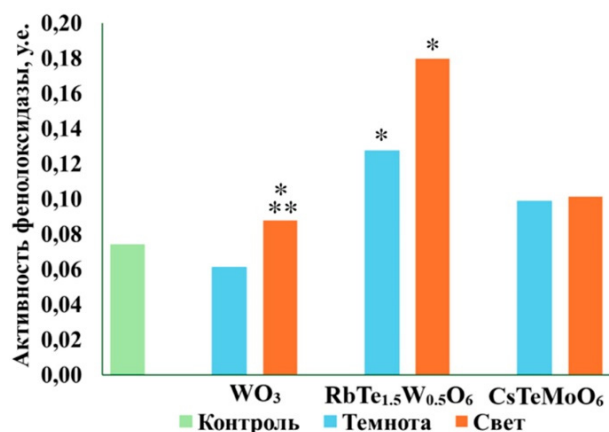


б)

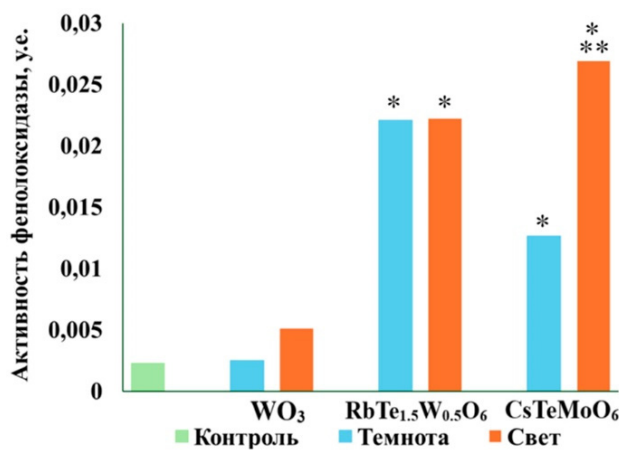
Рис. 5. Воздействие света на активность эндопероксидазы *C. globosum* (a) и *P. cyclopium* (б) в присутствии исследуемых оксидов: * — значимые различия варианта «контроль» от варианта «в темноте»; ** — значимые различия варианта «в темноте» от варианта «в условиях воздействия света»

Увеличение активности внутриклеточной пероксидазы может быть связано со способностью CsTeMoO_6 образовывать пероксид водорода.

Оценивалось влияние субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов на активность фенолоксидаз грибов *P. cyclopium* и *C. globosum*. Результаты исследования представлены на рис. 6.



a)



б)

Рис. 6. Воздействие света на активность эндофенолоксидазы *C. globosum* (a) и *P. cyclopium* (б) в присутствии исследуемых оксидов: * – значимые различия варианта «контроль» от варианта «в темноте»; ** – значимые различия варианта «в темноте» от варианта «в условиях воздействия света»

Активность эндофенолоксидазы гриба *C. globosum* под воздействием исследуемых субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов увеличивалась только в случае с RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆, в темноте и на свету. Также отмечено увеличение активности энзима при введении в среду культивирования WO₃ в условиях воздействия света.

Активность эндофенолоксидазы *P. cyclopium* увеличивалась в присутствии субмикронных частиц RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆ и CsTeMoO₆. Свет усиливал активность фенолоксидазы только в случае с CsTeMoO₆.

Обсуждение

Известно, что экзо- и эндооксидоредуктазы грибов выполняют разные функции. Экзооксидоредуктазы (каталазы, пероксидазы, фенолоксидазы), метаболизируя различные экзогенные субстраты антропогенного происхождения: фенопласты, полиэтилен, полиметилен, капрон, поликарбонаты, акрилаты, стеклотекстолит, фторопласты, полиакриламид и другие – принимают активное

участие в их разрушении. Эндооксидоредуктазы участвуют в поддержании окислительно-восстановительного гомеостаза в клетке грибов, в дыхании, энергетическом обмене, трансформации пероксидов и чужеродных организму веществ (ксенобиотиков).

Результаты экспериментов показали, что в подавляющем большинстве вариантов не наблюдалось ингибирования эндооксидоредуктаз при введении в состав среды субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов. Снижение активности наблюдалось в случае эндопероксидазы в присутствии WO_3 в среде культивирования под воздействием света у обоих грибов и в условиях темноты у *C. globosum*, а также в случае эндокаталазы *P. cyclopium* на свету в присутствии WO_3 и $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$. Напротив, авторами было обнаружено увеличение активности исследуемых энзимов при действии сложных оксидов тяжелых металлов как в условиях света, так и темноты. Известно, что действие ряда химических соединений может вызывать стрессовое состояние у грибов, что приводит к нарушению окислительно-восстановительного гомеостаза в результате окислительного стресса. Ответом на подобное воздействие может быть увеличение активности эндооксидоредуктаз [15, 16]. Увеличение активности ферментов под действием света по сравнению с темновыми условиями наблюдалось в случае эндопероксидазы у гриба *C. globosum* при введении в среду культивирования WO_3 , $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ и $CsTeMoO_6$, в случае эндофенолоксидазы у гриба *C. globosum* при введении в среду культивирования WO_3 и в случае у гриба *P. cyclopium* при введении в среду культивирования $CsTeMoO_6$.

Повышение активности экзокаталазы может быть связано с накоплением пероксида водорода в среде культивирования, который образуется как в клетке и выходит в окружающую среду, так и в среде культивирования при действии света на исследуемые соединения в следствии их фотокаталитической активности. Такая же причина может быть и для экзопероксидаз, так как для грибов характерны каталазы-пероксидазы, которые обладают одновременно двумя ферментативными активностями [2, 17].

Эффект усиления фенолоксидазной активности исследуемых грибов как на свету, так и в темноте может быть связан с тем, что данный фермент участвует в синтезе пигментов меланина, которые локализуются в клеточных стенках гриба и защищают его от воздействия субмикронных частиц оксидов металлов и ионов металлов, входящих в их состав [18].

В настоящее время из литературных данных известно о следующих механизмах в условиях темноты и светового воздействия оксидов тяжелых металлов. В настоящее время темновой механизм ингибирующего действия нано- и субмикронных частиц оксидов металлов на метаболизм микроорганизмов связывают с тем, что эти вещества разрушают мембраны, легко проникают в микробную клетку и связываются с SH-группами в активных центрах ряда ферментов, вызывая инактивацию последних. В результате чего нарушается проницаемость мембран и дыхание живых организмов [19]. Ингибирующие механизмы данных частиц под воздействием света обусловлены синтезом АФК, которые могут негативно влиять на клеточную мембрану, обеспечивающую транспорт как самого пероксида водорода, так и экзоферментов, необходимых для его продукции снаружи клетки, а также нарушение поступления и выведения различных органических и неорганических веществ. АФК могут негативно влиять на экзо- и эндоферменты, взаимодействуя с их активными центрами и изменяя пространственную структуру ферментов, а также на генетический аппарат клетки, нарушая процессы экспрессии различных белков и РНК [20].

Отмечено, что одно и то же химическое соединение может по-разному влиять на исследуемые экзо- и эндоэнзимы у различных грибов. Например, как WO_3 , так и $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$ под действием света у *C. globosum* снижали активность экзокаталазы, но увеличивали ее у *P. cyclopium*. Такой эффект связан с физиолого-биохимическими особенностями отдельных культур грибов, а именно, с различными механизмами устойчивости к действию исследуемых соединений.

С другой стороны, в экспериментах имело место, когда один и тот же гриб по-разному изменял активность исследуемых оксидоредуктаз под действием разных биоцидов, что позволяет говорить и о возможных различных механизмах ингибирующего действия исследуемых химических соединений на активность исследуемых энзимов. Например, активность эндопероксидазы исследуемых грибов на свету снижалась под влиянием WO_3 , но увеличивалась под влиянием $RbTe_{1.5}W_{0.5}O_6$.

Заключение

Результаты экспериментов показали разную результативность действия исследуемых субмикронных частиц новых сложных оксидов металлов на активность эндо- и экзооксидоредуктаз как в условиях воздействия света, так и в темноте.

В подавляющем большинстве имеет место повышение активности исследуемых эндо- и экзоэнзимов как в условиях воздействия света, так и в условиях темноты. Причем в ряде случаев повышение активности ферментов было более значительным (в 8–10 раз) по сравнению с контролем. Это позволяет предположить, что антимикробная активность этих соединений не связана с подавлением ими активности оксидоредуктаз исследуемых грибов, а связана с ингибированием других экофизиологических звеньев метаболизма микроорганизмов.

Установлено, что свет как абиотический фактор также оказывал неоднозначное действие на активность оксидоредуктаз.

Как известно, изменение активности экзоферментов под воздействием различных химических соединений может быть связано как с влиянием этих соединений на сам фермент (его активный центр или пространственную структуру), так и на его синтез *denovo*. Тогда как в случае эндоэнзимов к вышеперечисленным причинам добавляется нарушение проницаемости цитоплазматических мембран и клеточной стенки грибов, что влияет на выход этих ферментов из клетки в среду. Выяснение конкретных механизмов воздействия субмикронных частиц оксидов тяжелых металлов на клетки грибов требует отдельных исследований.

Таким образом, исследованные авторами экофизиологические характеристики грибов расширили теоретические представления авторов о механизмах действия исследуемых соединений на активность экзо- и эндооксидоредуктаз и показали пути дальнейшего их исследования в плане выявления механизмов ингибирующего действия.

Список литературы

1. Ильичев В. Д., Бочаров Б. В. Биоповреждения. М. : Наука, 1987. 352 с.
2. Касатова Е. С., Стручкова И. В., Аникина Н. А., Смирнов В. Ф. Действие слабого низкочастотного электромагнитного поля на активность экстрацеллюлярных оксидоредуктаз *Trichoderma viridis* // Микология и фитопатология. 2017. Т. 51, № 2. С. 99–103. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29069949>

3. Anikina N. A., Smirnov V. F., Smirnova O. N., Zakharova E. A. Protection of construction materials based on acrylates from biodeterioration // Magazine of Civil Engineering. 2018. № 5. P. 116–124. doi: 10.18720/MCE.81.12
4. Мочалова А. Е., Смирнов В. Ф., Антонен В. А. [и др.]. Редукционные технологии при утилизации отходов полимерных материалов. Н. Новгород : Изд-во Нижегород. гос. ун-та им. Н. И. Лобачевского, 2016. 123 с.
5. Pereira E., Napp A. P., Allebrandt S. [et al.]. Biodegradation of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in seawater by autochthonous microorganisms // International Biodeterioration & Biodegradation. 2019. Vol. 145. P. 104789. doi: 10.1016/j.ibiod.2019.104789
6. Koul B., Upadhyay H. Fungi-Mediated Biodeterioration of Household Materials, Libraries, Cultural Heritage and Its Control // Fungi and their Role in Sustainable Development: Current Perspectives / ed. by P. Gehlot, J. Singh. Singapore : Springer, 2018. doi: 10.1007/978-981-13-0393-7_32
7. Смирнов В. Ф., Глаголева А. А., Мочалова А. Е. [и др.]. Влияние факторов биологической и физической природы на биодеградацию и физико-химические свойства композиций на основе поливинилхлорида и природных полимеров // Пластические массы. 2017. № 7-8. С. 47–50. doi: 10.35164/0554-2901-2017-7-8-47-50
8. Suleimanov E. V., Fukina D. G., Fukin G. K. [et al.]. Crystal structure features of the mixed-valence tellurium beta-pyrochlores: $\text{CsTe}_{(1.625)}\text{W}_{(0.375)}\text{O}_6$ and $\text{RbTe}_{1.5}\text{W}_{0.5}\text{O}_6$ // Journal of Solid State Chemistry. 2020. Vol. 286, № 2. P. 337–345. doi: 10.1016/j.jssc.2020.121267
9. Fukina D. G., Shotina V. A., Boryakov A. V. [et al.]. Crystal Structure and Photocatalytic Properties of the $\text{CsV}_{0.625}\text{Te}_{1.375}\text{O}_6$ Mixed-Valence β -Pyrochlore Compound // ChemPhotoChem. 2023. P. E202300072. doi: 10.1002/cptc.202300072
10. Smirnov V. F., Smirnova O. N., Shishkin A. Yu. [et al.]. Effect of Light on the Antifungal Activity of Submicron Particles Based on Tungsten Oxide // Nanotechnologies in Russia. 2022. Vol. 17, № 3. P. 444–456. doi: 10.1134/S263516762203017X
11. Semenycheva L. L., Smirnov V. F., Smirnova O. N. [et al.]. Antimicrobial Effect of Submicron Complex Oxide Particles CsTeMoO_6 under Visible Light // Applied Sciences (Switzerland). 2024. Vol. 2, № 14. P. 889. doi: 10.3390/app14020889
12. Smirnov V. F., Shishkin A. Yu., Smirnova O. N. [et al.]. Study of the Antimicrobial Activity of Submicron Particles of Metal Oxides Based on Tungsten Under Light and Dark Exposure Conditions // Nanobiotechnology Reports. 2022. Vol. 17, № 2. P. 235–243. doi: 10.1134/S2635167622020161
13. Залепкина С. А., Смирнов В. Ф., Смирнова О. Н. [и др.]. Фунгицидный эффект 2-селанил-1-пиридин-оксида и его производных и их действие на рост и активность оксидоредуктаз *Aspergillus oryzae* // Микология и Фитопатология. 2018. Т. 52, № 4. С. 267–276. doi: 10.1134/S0026364818040050
14. Карпов В. А., Смирнов В. Ф., Смирнова О. Н. [и др.]. Действие биоцидов на активность ряда экстрацеллюлярных ферментов грибов-деструкторов технических изделий, эксплуатируемых в условиях тропического климата (Вьетнам) // Микология и фитопатология. 2022. Т. 56, № 3. С. 185–193. doi: 10.31857/S0026364822030047
15. Makarov I. O., Klyuev D. A., Smirnov V. F. [et al.]. Effect of Low-Frequency Pulsed Magnetic Field and Low-Level Laser Radiation on Oxidoreductase Activity and Growth of Fungi-Active Destructors of Polymer Materials // Microbiology (Russian Federation). 2019. Vol. 88, № 1. P. 72–78. doi: 10.1134/S0026261719010053
16. Аникина Н. А., Барышков Р. В., Шишкин А. Ю. [и др.]. Влияние субмикронных частиц оксидов металлов на продукцию пероксида водорода и активность окислительных ферментов *Aspergillus niger* и *Penicillium chrysogenum* // Микология и фитопатология. 2024. Т. 58, № 2. С. 134–142. doi: 10.31857/S0026364824020055
17. Zámocký M., Furtmüller P. G., Obinger C. Two distinct groups of fungal catalase/peroxidases // BiochemSoc Trans. 2009. Vol. 4, № 37. P. 772–777. doi: 10.1042/BST0370772

18. Eisenman H. C., Casadevall A. Synthesis and assembly of fungal melanin // *Applied Microbiology Biotechnology*. 2012. Vol. 93. P. 931–940. doi: 10.1007/s00253-011-3777-2
19. Zakharova O. V., Gusev A. A. Photocatalytically Active Zinc Oxide and Titanium Dioxide Nanoparticles in Clonal Micropropagation of Plants: Prospects // *Nanotechnology in Russia*. 2019. № 14. P. 311–324. doi:10.1134/S1995078019040141
20. Sirelkhatim A., Mahmud S., Seeni A. [et al.]. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism // *Nano-Micro Lett*. 2015. № 7. P. 219–242. doi:10.1007/s40820-015-0040-x

References

1. Il'ichev V.D., Bocharov B.V. *Biopovrezhdeniya* = Biodamage. Moscow: Nauka, 1987:352. (In Russ.)
2. Kasatova E.S., Struchkova I.V., Anikina N.A., Smirnov V.F. Effect of weak low-frequency electromagnetic field on the activity of extracellular oxidoreductases *Trichoderma viride*. *Mikologiya i fitopatologiya* = Mycology and phytopathology. 2017;51(2):99–103. (In Russ.). Available at: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29069949>
3. Anikina N.A., Smirnov V.F., Smirnova O.N., Zakharova E.A. Protection of construction materials based on acrylates from biodeterioration. *Magazine of Civil Engineering*. 2018;(5):116–124. doi: 10.18720/MCE.81.12
4. Mochalova A.E., Smirnov V.F., Antonets V.A. et al. *Reduktsionnye tekhnologii pri utilizatsii otkhodov polimernykh materialov* = Reduction technologies in the recycling of polymer waste materials. Nizhniy Novgorod: Izd-vo Nizhegorod. gos. un-ta im. N.I. Lobachevskogo, 2016:123. (In Russ.)
5. Pereira E., Napp A.P., Allebrandt S. et al. Biodegradation of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in seawater by autochthonous microorganisms. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2019;145:104789. doi: 10.1016/j.ibiod.2019.104789
6. Koul B., Upadhyay H. Fungi-Mediated Biodeterioration of Household Materials, Libraries, Cultural Heritage and Its Control. *Fungi and their Role in Sustainable Development: Current Perspectives*. Ed. by P. Gehlot, J. Singh. Singapore: Springer, 2018. doi: 10.1007/978-981-13-0393-7_32
7. Smirnov V.F., Glagoleva A.A., Mochalova A.E. et al. Influence of biological and physical factors on biodegradation and physical-chemical properties of composites based on polyvinyl chloride and natural polymers. *Plasticheskie massy* = Plastics. 2017;(7-8):47–50. (In Russ.). doi: 10.35164/0554-2901-2017-7-8-47-50
8. Suleimanov E.V., Fukina D.G., Fukin G.K. et al. Crystal structure features of the mixed-valence tellurium beta-pyrochlores: CsTe_(1.625)W_(0.375)O₍₆₎ and RbTe_{1.5}W_{0.5}O₆. *Journal of Solid State Chemistry*. 2020;286(2):337–345. doi: 10.1016/j.jssc.2020.121267
9. Fukina D.G., Shotina V.A., Boryakov A.V. et al. Crystal Structure and Photocatalytic Properties of the CsV_{0.625}Te_{1.375}O₆ Mixed-Valence β-Pyrochlore Compound. *ChemPhotoChem*. 2023:E202300072. doi: 10.1002/cptc.202300072
10. Smirnov V.F., Smirnova O.N., Shishkin A.Yu. et al. Effect of Light on the Antifungal Activity of Submicron Particles Based on Tungsten Oxide. *Nanotechnologies in Russia*. 2022;17(3):444–456. doi: 10.1134/S263516762203017X
11. Semenycheva L.L., Smirnov V.F., Smirnova O.N. et al. Antimicrobial Effect of Submicron Complex Oxide Particles CsTeMoO₆ under Visible Light. *Applied Sciences (Switzerland)*. 2024;2(14):889. doi: 10.3390/app14020889
12. Smirnov V.F., Shishkin A.Yu., Smirnova O.N. et al. Study of the Antimicrobial Activity of Submicron Particles of Metal Oxides Based on Tungsten Under Light and Dark Exposure Conditions. *Nanobiotechnology Reports*. 2022;17(2):235–243. doi: 10.1134/S2635167622020161

13. Zalepkina S.A., Smirnov V.F., Smirnova O.N. et al. Fungicidal effect of 2-selanyl-1-pyridine oxide and its derivatives and their effect on the growth and activity of *Aspergillus* oxidoreductases in crops. *Mikologiya i Fitopatologiya* = Mycology and phytopathology. 2018;52(4):267–276. (In Russ.). doi: 10.1134/S0026364818040050
14. Karpov V.A., Smirnov V.F., Smirnova O.N. et al. The activity of biocides on the activity of extracellular fermentation fungi-destroyers of technical products used in tropical climate conditions (Vietnam). *Mikologiya i fitopatologiya* = Mycology and phytopathology. 2022;56(3):185–193. (In Russ.). doi: 10.31857/S0026364822030047
15. Makarov I.O., Klyuev D.A., Smirnov V.F. et al. Effect of Low-Frequency Pulsed Magnetic Field and Low-Level Laser Radiation on Oxidoreductase Activity and Growth of Fungi–Active Destroyers of Polymer Materials. *Microbiology (Russian Federation)*. 2019;88(1):72–78. doi: 10.1134/S0026261719010053
16. Anikina N.A., Baryshkov R.V., Shishkin A.Yu. et al. Effect of submicron particles of metal oxides on the production of hydrogen peroxide and the activity of oxidizing enzymes of *Aspergillus niger* and *Penicillium chrysogenum*. *Mikologiya i fitopatologiya* = Mycology and phytopathology. 2024;58(2):134–142. (In Russ.). doi: 10.31857/S0026364824020055
17. Zámocký M., Furtmüller P.G., Obinger C. Two distinct groups of fungal catalase/peroxidases. *BiochemSoc Trans.* 2009;4(37): 772–777. doi: 10.1042/BST0370772
18. Eisenman H.C., Casadevall A. Synthesis and assembly of fungal melanin. *Applied Microbiology Biotechnology*. 2012;93:931–940. doi: 10.1007/s00253-011-3777-2
19. Zakharova O.V., Gusev A.A. Photocatalytically Active Zinc Oxide and Titanium Dioxide Nanoparticles in Clonal Micropropagation of Plants: Prospects. *Nanotechnology in Russia*. 2019;(14):311–324. doi: 10.1134/S1995078019040141
20. Sirelkhatim A., Mahmud S., Seeni A. et al. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Lett.* 2015;(7):219–242. doi: 10.1007/s40820-015-0040-x

Информация об авторах / Information about the authors

Андрей Юрьевич Шишкин

ассистент кафедры биохимии
и биотехнологии
Института биологии и биомедицины;
младший научный сотрудник
лаборатории микробиологического
анализа отдела химико-биологических
исследований научно-
исследовательского института химии,
Национальный исследовательский
Нижегородский государственный
университет имени Н. И. Лобачевского
(Россия, г. Нижний Новгород,
пр-т Гагарина, 23)
E-mail: uandshi@yandex.ru

Andrey Yu. Shishkin

Assistant of the sub-department
of biochemistry and biotechnology
of the Institute of Biology
and Biomedicine;
junior researcher of the laboratory
of microbiological analysis
of the department of chemical
and biological research
of the Research Institute of Chemistry,
National Research Lobachevsky State
University of Nizhny Novgorod
(23 Gagarina avenue, Nizhny Novgorod,
Russia)

Ксения Александровна Шишкина

лаборант лаборатории
микробиологического анализа
отдела химико-биологических
исследований научно-
исследовательского института химии,
Национальный исследовательский
Нижегородский государственный
университет имени Н. И. Лобачевского
(Россия, г. Нижний Новгород,
пр-т Гагарина, 23)
E-mail: Ksenia.loshdka@yandex.ru

Ksenia A. Shishkina

Laboratory assistant of the laboratory
of microbiological analysis
of the department of chemical
and biological research
of the Research Institute of Chemistry,
National Research Lobachevsky State
University of Nizhny Novgorod
(23 Gagarina avenue, Nizhny Novgorod,
Russia)

Василий Филиппович Смирнов

доктор биологических наук, профессор,
профессор кафедры биохимии
и биотехнологии Института биологии
и биомедицины;
заведующий лабораторией
микробиологического анализа
отдела химико-биологических
исследований научно-
исследовательского института химии,
Национальный исследовательский
Нижегородский государственный
университет имени Н. И. Лобачевского
(Россия, г. Нижний Новгород,
пр-т Гагарина, 23)
E-mail: biodeg@mail.ru

Vasiliy F. Smirnov

Doctor of biological sciences, professor,
professor of the sub-department
of biochemistry and biotechnology
of the Institute of Biology
and Biomedicine;
chief of the laboratory of microbiological
analysis of the department of chemical
and biological research
of the Research Institute of Chemistry,
National Research Lobachevsky State
University of Nizhny Novgorod
(23 Gagarina avenue, Nizhny Novgorod,
Russia)

Надежда Андреевна Аникина

кандидат биологических наук,
доцент кафедры биохимии
и биотехнологии
Института биологии
и биомедицины;
старший научный сотрудник
лаборатории микробиологического
анализа отдела химико-биологических
исследований научно-
исследовательского института химии,
Национальный исследовательский
Нижегородский государственный
университет имени Н. И. Лобачевского
(Россия, г. Нижний Новгород,
пр-т Гагарина, 23)
E-mail: undinaf@gmail.com

Nadezhda A. Anikina

Candidate of biological sciences,
associate professor of the sub-department
of biochemistry and biotechnology
of the Institute of Biology
and Biomedicine;
senior researcher of the laboratory
of microbiological analysis
of the department of chemical
and biological research
of the Research Institute of Chemistry,
National Research Lobachevsky State
University of Nizhny Novgorod
(23 Gagarina avenue, Nizhny Novgorod,
Russia)

Татьяна Анатольевна Веселова

кандидат биологических наук,
доцент кафедры биохимии
и биотехнологии Института
биологии и биомедицины,
Национальный исследовательский
Нижегородский государственный
университет имени Н. И. Лобачевского
(Россия, г. Нижний Новгород,
пр-т Гагарина, 23)
E-mail: veselova-ta@yandex.ru

Tatyana A. Veselova

Candidate of biological sciences,
associate professor of the sub-department
of biochemistry and biotechnology
of the Institute of Biology and Biomedicine,
National Research Lobachevsky State
University of Nizhny Novgorod
(23 Gagarina avenue, Nizhny Novgorod,
Russia)

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов /

The authors declare no conflicts of interests.

Поступила в редакцию / Received 21.11.2024

Поступила после рецензирования и доработки / Revised 10.12.2024

Принята к публикации / Accepted 23.12.2024