

© О. В. Чемерис, М. И. Бойко

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ НА МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩУЮ АКТИВНОСТЬ ШТАММА *IRPEX LACTEUS* 2432

ГОУ ВПО «Донецкий национальный университет»

283050, г. Донецк, ул. Щорса, 46; e-mail: chemeris07@rambler.ru

Чемерис О. В., Бойко М. И. Влияние различных источников азотного питания на молокосвертывающую активность штамма *Irpex lacteus* 2432. – Исследовано влияние различных источников азотного питания при культивировании штамма *Irpex lacteus* 2432. Установлено, что при культивировании данного штамма оптимальным источником азота в питательной среде выступает пептон. Альтернативными источниками азота выступили минеральные соли $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$.

Ключевые слова: базидиомицет *Irpex lacteus*, молокосвертывающая (сычужная) активность, культуральный фильтрат, азотное питание.

Введение

Рост и развитие базидиомицетов находится в прямой зависимости от типа питательной среды, в которой происходят сложные физиологические и биохимические процессы. Их интенсивность определяется наследственными факторами самого гриба и факторами внешней среды. К важнейшим факторам, определяющим активность гетеротрофов, следует отнести наличие в среде элементов питания, создание оптимальных условий температуры, влажности, реакции среды [13].

Кроме поиска продуцентов заменителя реннина (сычужного фермента) перед учеными также стоит задача оптимизации условий их культивирования с целью повышения синтетической активности. Вопрос изучения питательных нужд культур базидиальных грибов, их требований к составу питательной среды и его кислотности стоит в свете поиска оптимальных условий роста и синтеза биологически активных веществ. Подбор оптимальных условий культивирования грибов дает возможность регулировать синтез полезного продукта, как в мицелии, так и выход его в культуральную жидкость. Важную роль в процессах роста и развития культур базидиальных грибов играют источники углеродного и азотного питания. Углерод необходим для синтеза веществ, а также выступает основным источником энергии. Важнейшая роль азота – участие в синтезе белков протопласта и ферментов. Однако грибы не способны к синтезу азотсодержащих соединений за счет атмосферного азота и усваивают его только из минеральных солей и органических источников азота.

Ведутся активные научные работы по поиску лучших компонентов питательных сред, которые также имеют влияние на синтез ферментов, улучшая или ухудшая, ускоряя или замедляя, или, даже, и вовсе прекращая их выработку. Как правило, базидиальными грибами лучше используются аммонийные соли, а отдельными видами и штаммами – нитраты [5]. Так, грибом *Hirschioporus abietinus* ((Dicks.) Donk, 1933) лучше всего усваивается пептон, аспарагин, глутамин, глицин. Слабое негативное влияние оказывают нитратные формы азота, ингибирующее влияние – аммонийные соединения и цистеин [88]. Использование костной муки в качестве источника азота привело к ускорению процессов роста и увеличению молокосвертывающей активности на определенных этапах культивирования штамма гриба P-323 *Hirschioporus laricinus* ((P. Karst.) Teram., 1957). К тому же, костная мука сокращала лаг-период по отношению к молокосвертывающей активности [6]. Изменение источника углеродного и азотного питания способно влиять на развитие базидиальных грибов и их синтетическую активность [1].

Базидиальные дереворазрушающие грибы в качестве источника азотного питания усваивают, как органические, так и неорганические формы азотистых соединений. Этот элемент является также одним из решающих для роста и развития гриба, а также для продукции им соответствующих метаболитов [15]. Поэтому актуальным становится вопрос

как влияет изменение источника азотного питания на молокосвертывающую активность и другие физиологические показатели гриба *Irpex lacteus* ((Fr.) Fr., 1828) – активного продуцента протеиназ молокосвертывающего (сычужного) действия [3, 4, 14].

Материал и методы исследования

Для исследования влияния различных источников азотного питания на молокосвертывающую активность штамм *Irpex lacteus* 2432 культивировали в статических условиях на жидкой глюкозо-пептонной питательной среде следующего состава [12] следующего состава (г/л): глюкоза – 10, пептон – 3, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,5, KH_2PO_4 – 0,6, K_2HPO_4 – 0,4, $CaCl_2$ – 0,05, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,001 (реактивы фирмы «Реахим», Россия). В качестве контрольного источника азотного питания использовали пептон, альтернативными источниками были $NaNO_3$, аммонийные соли – NH_4NO_3 , $(NH_4)_2SO_4$, $NH_4H_2PO_4$, $(NH_4)_2HPO_4$ и мочевины NH_2CONH_2 . Указанные соединения вносили в питательную среду в количестве эквивалентном 3 г/л пептона. Кислотность питательной среды доводили до значения pH 4,0 с помощью 10 %-го раствора HCl. Культивирование штамма осуществляли в колбах Эрленмейера объемом 100 мл с 50 мл питательной среды при оптимальной для роста мицелия температуре 32 °С. Определение молокосвертывающей активности (МСА) культурального фильтрата (КФ) проводили через каждые 5 суток, начиная с 5-х по 30-е сутки культивирования по методу Kawai и Mukai [16]. За единицу молокосвертывающей активности принимали такое количество фермента, которое створаживает 100 мл молока за 40 минут при 35 °С. Полученные значения переводили в условные единицы согласно формуле [2, 11].

Содержание белка в культуральном фильтрате определяли спектрофотометрическим методом на спектрофотометре СФ-46 (ЛОМО) [7], используя формулу Лайне [17]. Накопление биомассы определяли весовым методом [9]. pH культурального фильтрата измеряли с помощью анализатора ионов АИ-123 (ДЕСКК, Украина).

Все исследования проводили в трехкратной повторности. Статистическую обработку полученных данных осуществляли дисперсионным анализом, а сравнение средних арифметических величин – по критерию Дункана [10].

Результаты и обсуждение

В табл. 1 приведены результаты исследования общей молокосвертывающей активности КФ штамма *I. lacteus* 2432 при культивировании на питательных средах с различными источниками азотного питания. Установлено, что максимальные значения МСА КФ данного штамма наблюдались при использовании пептона в качестве источника азота. При этом на 5-е и 15-е сутки культивирования ферментативная активность КФ находилась на одном уровне, т. к. достоверного отличия между значениями активности не выявлено. При использовании данного КФ образовывался плотный крупнозернистый молочный сгусток. При дальнейшем культивировании на глюкозо-пептонной питательной среде общая МСА КФ снижалась более чем в 2 раза на 20-й день, и в 8,5 раз к 30-му дню выращивания штамма.

При культивировании штамма *I. lacteus* 2432 на питательной среде с $NaNO_3$ молокосвертывающая активность культурального фильтрата не наблюдалось, что свидетельствует о невозможности использовать данную минеральную соль как альтернативный источник азота в питательной среде.

Нужно отметить, что культивирование штамма *I. lacteus* 2432 на питательной среде, содержащей аммонийные соли – NH_4NO_3 , $(NH_4)_2SO_4$, $NH_4H_2PO_4$, $(NH_4)_2HPO_4$, а также мочевины имело определенную закономерность. Так, на 5-е и 10-е сутки культивирования продуцента молокосвертывающая активность культурального фильтрата не наблюдалась. При использовании сульфата аммония и фосфатов аммония одно- и двухзамещенных молокосвертывающая активность КФ исчезала на 25-е сутки, а при использовании мочевины на 20-е сутки культивирования.

Общая молоковертывающая активность культурального фильтрата штамма *I. lacteus* 2432 при культивировании на питательных средах с различными источниками азота

Время культивирования, сутки	Молоковертывающая активность культурального фильтрата, Е/мл						
	пептон	NaNO ₃	NH ₄ NO ₃	(NH ₄) ₂ SO ₄	NH ₄ H ₂ PO ₄	(NH ₄) ₂ HPO ₄	NH ₂ CONH ₂
5	171,09±4,45	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
10	115,83±5,47	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
15	181,66±17,96	0,0±0,0	12,59±4,19	67,50±6,42	86,04±11,25	77,78±15,31	15,38±1,78
20	75,76±2,39	0,0±0,0	21,57±7,39	24,42±6,60	61,87±6,83	27,45±6,27	0,0±0,0
25	40,98±6,51	0,0±0,0	25,82±5,23	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	19,24±0,01
30	22,19±2,20	0,0±0,0	24,91±0,65	42,73±4,15	38,02±7,72	89,08±9,44	21,21±9,81

Максимальные значения общей молоковертывающей активности культурального фильтрата наблюдались на 15-е сутки культивирования штамма 2432 в пределах 67,50-86,04 Е/мл для вариантов использования солей (NH₄)₂SO₄, NH₄H₂PO₄ и (NH₄)₂HPO₄. Однако данные значения ферментативной активности были ниже, чем при использовании пептона в качестве источника азота. Молоковертывающая активность КФ штамма 2432 на питательных средах, содержащих NH₄NO₃ и мочевины, была низкой и составляла 12,59-25,82 Е/мл. При использовании культурального фильтрата штамма *I. lacteus* 2432, который культивировался на питательных средах с минеральными солями – NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄, NH₄H₂PO₄, (NH₄)₂HPO₄, образовывался мелкозернистый молочный сгусток.

В табл. 2 приведены данные удельной молоковертывающей активности культурального фильтрата штамма *I. lacteus* 2432 при культивировании на питательных средах с различными источниками азота. При культивировании данного штамма на глюкозо-пептонной среде удельная МСА КФ достаточно низкая – от 21,28 до 43,81 Е/мг белка с 5-х по 20-е сутки. На 25-е и 30-е сутки культивирования штамма *I. lacteus* 2432 наблюдалось снижение удельной ферментативной активности культурального фильтра, что, возможно, связано с постепенным накоплением белка иной функциональной направленности, что требует дополнительных исследований.

Таблица 2

Удельная молоковертывающая активность культурального фильтрата штамма *I. lacteus* 2432 при культивировании на питательных средах с различными источниками азота

Время культивирования, сутки	Молоковертывающая активность культурального фильтрата, Е/мг белка						
	пептон	NaNO ₃	NH ₄ NO ₃	(NH ₄) ₂ SO ₄	NH ₄ H ₂ PO ₄	(NH ₄) ₂ HPO ₄	NH ₂ CONH ₂
5	43,81±4,2	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
10	29,88±3,78	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
15	42,84±7,63	0,0±0,0	17,01±2,17	223,70±39,70	331,74±34,3	300,23±32,91	93,72±0,0
20	21,28±3,28	0,0±0,0	13,19±4,43	160,01±33,65	229,47±22,9	271,89±51,85	0,0±0,0
25	9,19±2,09	0,0±0,0	26,49±0,98	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	21,33±6,32
30	4,67±0,76	0,0±0,0	13,11±4,52	54,85±16,25	54,85±16,17	71,35±7,54	20,44±4,73

При культивировании штамма *I. lacteus* 2432 на питательной среде, содержащей NH₄NO₃ и NH₂CONH₂, удельная молоковертывающая активность культурального фильтрата находилась на уровне 13,11-26,49 Е/мг белка. Исключение отмечено на 15-е сутки культивирования штамма продуцента на питательной среде с мочевиной.

При культивировании штамм *I. lacteus* 2432 на питательных средах с минеральными солями (NH₄)₂SO₄, NH₄H₂PO₄ и (NH₄)₂HPO₄ удельная молоковертывающая активность КФ значительно превышала данный показатель при выращивании на пептоне, NH₄NO₃ и

мочевине. Максимальные значения отмечены на 15-е сутки культивирования и составляли 223,70 Е/мг белка при культивировании на питательной среде с $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 300,23-331,74 Е/мг белка – при использовании солей $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ и $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ как источника азота. Нужно отметить совпадение максимальных значений как общей, так и удельной молокосвертывающей активности культурального фильтрата, что свидетельствует о преобладающем синтезе экзопротеиназ сычужного действия данным штаммом. Для культивирования штамма *I. lacteus* 2432 – активного продуцента экзопротеиназ молокосвертывающего действия можно использовать наряду с пептоном альтернативные источники азота – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ и $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$.

На рис. 1 приведены данные о содержании белка в культуральном фильтрате штамма *I. lacteus* 2432 при культивировании на питательных средах с различными источниками азота. Максимальные значения содержания белка в КФ установлены в контрольном варианте – для питательной среды, содержащей пептон. Однако нужно учесть, что в данной питательной среде изначально находилось 2,16 мг/мл белка пептона. Поэтому в процессе культивирования штамма *I. lacteus* 2432 одновременно происходило использование белка питательной среды и синтез внеклеточных ферментов молокосвертывающего и другого действия.

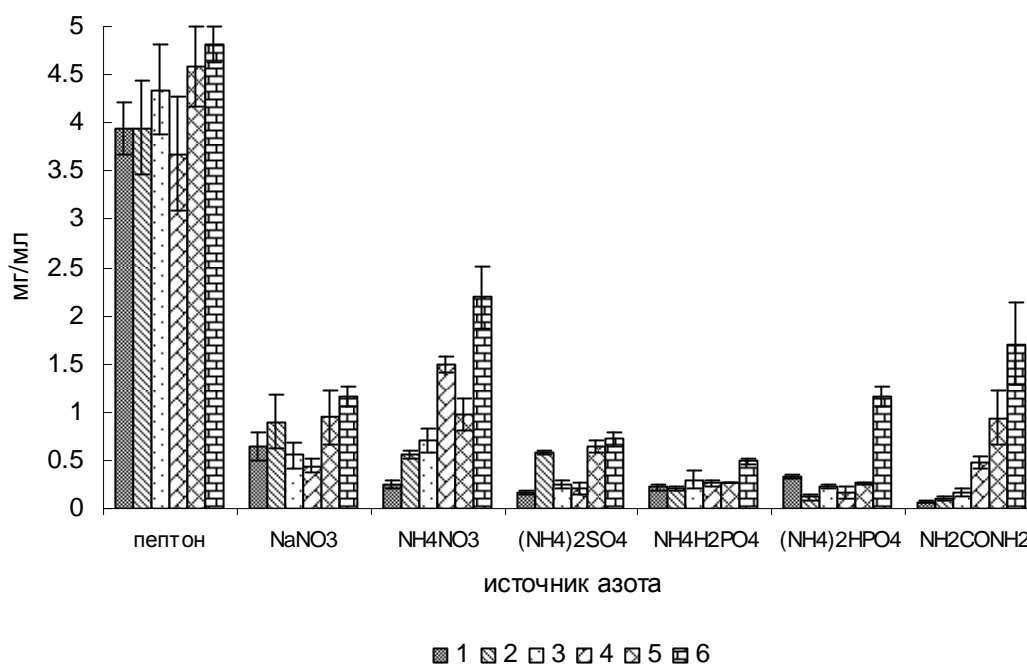


Рис. 1. Содержание белка в культуральном фильтрате штамма *I. lacteus* 2432 при культивировании на питательных средах с различными источниками азота:
1 – 5-е сутки, 2 – 10-е сутки, 3 – 15-е сутки, 4 – 20-е сутки, 5 – 25-е сутки, 6 – 30-е сутки

При культивировании штамма *I. lacteus* 2432 на питательных средах с минеральными солями в качестве источника азота в культуральный фильтрат происходил синтез внеклеточного белка в количестве до 1,5 мг/мл. Стоит отметить, что к 30-му дню культивирования происходило накопление белка в культуральном фильтрате штамма *I. lacteus* 2432. При использовании соли NaNO_3 в качестве источника азота молокосвертывающая активность КФ штамма *I. lacteus* 2432 не наблюдалась (см. табл. 1 и табл. 2), однако в культуральном фильтрате отмечено содержание белка на уровне 0,8-1,2 мг/мл. Это свидетельствует о синтезе внеклеточных белков другой функциональной группы штаммом *I. lacteus* 2432. При использовании минеральной соли NH_4NO_3 и мочевины NH_2CONH_2 как альтернативных источников азотного питания в культуральном фильтрате штамма *I. lacteus* 2432 происходило накопление белка к 30-му дню культивирования на

уровне 2,0-2,5 мг/мл, однако значения как общей, так и удельной молокосвертывающей активности КФ были низкими.

При использовании солей $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ и $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ при культивировании штамма *I. lacteus* 2432 накопление белка в культуральном фильтрате было минимальным – в пределах 0,5 мг/мл. Однако при этом наблюдались высокие значения общей и удельной молокосвертывающей активностей культурального фильтрата, что свидетельствует о синтезе искомого фермента. Данные минеральные соли – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ и $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ не препятствуют синтезу внеклеточных ферментов молокосвертывающего действия и могут быть использованы как альтернативные источники азотного питания для культивирования штамма *I. lacteus* 2432 – продуцента протеиназ сычужного действия.

Одним из важных показателей физиологического состояния гриба при культивировании является скорость накопления биомассы. Данный показатель оценивали по показателю абсолютно сухой биомассы (АСБ) мицелия. Установлено, что при культивировании штамма *I. lacteus* 2432 на глюкозо-пептонной среде экспоненциальная фаза роста наблюдалась с 5-х по 25-е сутки, а уже на 30-е сутки происходило снижение накопления биомассы в 2 раза, что свидетельствует о процессах автолиза (рис. 2). Очевидно культивирование штамма *I. lacteus* 2432 на питательной среде, содержащей пептон, приводит к быстрому использованию всех питательных веществ из среды и ее истощению.

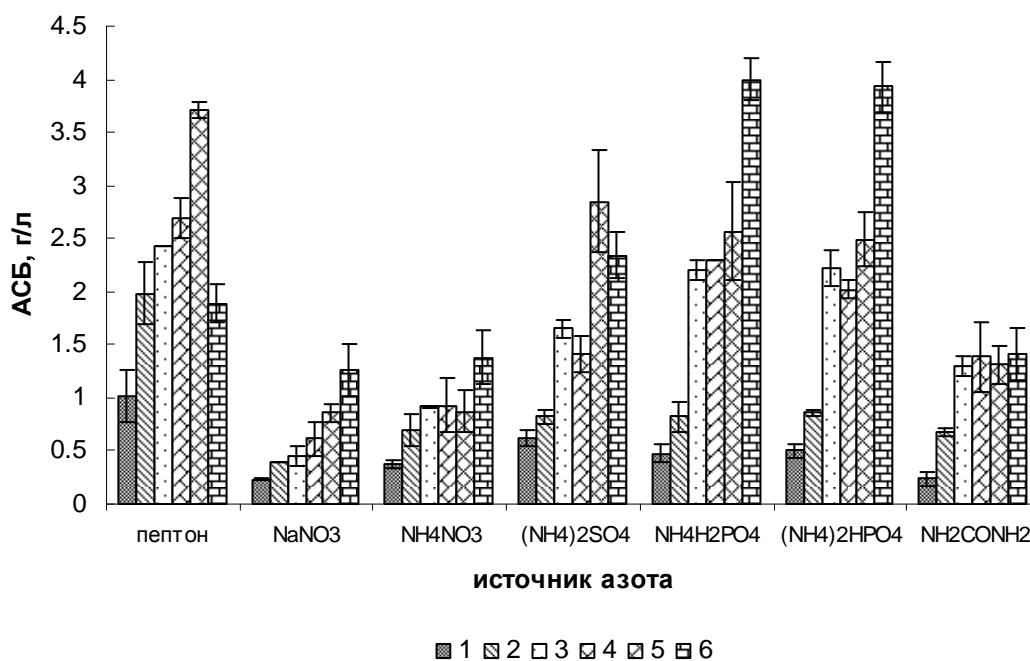


Рис. 2. Накопление биомассы штаммом *I. lacteus* 2432 при культивировании на питательных средах с различными источниками азота:

1 – 5-е сутки, 2 – 10-е сутки, 3 – 15-е сутки, 4 – 20-е сутки, 5 – 25-е сутки, 6 – 30-е сутки

Использование минеральных солей как альтернативных источников азотного питания вызывает медленный рост мицелия штамма *I. lacteus* 2432. Так, при использовании минеральных солей NaNO_3 и NH_4NO_3 , а также мочевины накопление биомассы было ниже контрольных показателей при культивировании на пептоне. При культивировании на питательной среде, содержащей NaNO_3 , экспоненциальная фаза роста наблюдалась весь период исследования, а при выращивании на питательных средах с NH_4NO_3 и мочевиной – с 5-х по 15-й день культивирования, выход на стационарную фазу роста с 15-го по 30-й день. При культивировании штамма *I. lacteus* 2432 на питательных средах, содержащих $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ и $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, накопление биомассы достигало контрольного варианта культивирования на 15-е и 20-е сутки, а на 30-е сутки даже превышало его.

На рис. 3 приведены данные изменения рН культурального фильтрата штамма *I. lacteus* 2432 при культивировании на питательных средах с различными источниками азота.

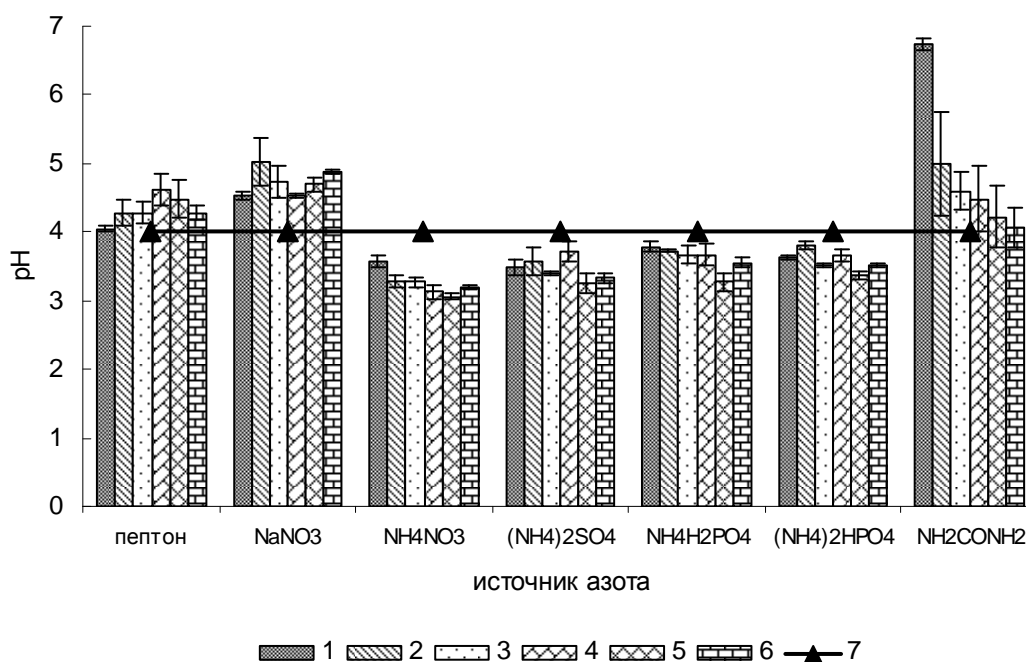


Рис. 3. рН культурального фильтрата штамма *I. lacteus* 2432 при культивировании на питательных средах с различными источниками азота:

1 – 5-е сутки, 2 – 10-е сутки, 3 – 15-е сутки, 4 – 20-е сутки, 5 – 25-е сутки, 6 – 30-е сутки, 7 – контроль

Культивирование штамма *I. lacteus* 2432 проводили на питательных средах с различными источниками азота и исходным рН 4,0. В процессе культивирования рН культурального фильтрата данного изолята достоверно изменялся. При использовании пептона как источника азотного питания рН культурального фильтрата смещалось к значению 4,3-4,5. Повышение рН культурального фильтрата штамма *I. lacteus* 2432 наблюдалось и при культивировании с использованием NaNO₃, а также мочевины. При культивировании гриба на питательных средах с минеральными солями – NH₄NO₃, (NH₄)₂SO₄, NH₄H₂PO₄, (NH₄)₂HPO₄ рН КФ смещалось в более кислую сторону – к значениям от 3,0 до 3,8, что указывает на более эффективное использование катиона NH₄⁺, чем анионов NO₃⁻, SO₄²⁻, H₂PO₄⁻ и HPO₄²⁻, которые благоприятствуют подкислению среды.

Выводы

Полученные данные свидетельствуют о том, что минеральные соли – альтернативные источники азотного питания оказывают влияние на процесс синтеза молокосвертывающего фермента штаммом *I. lacteus* 2432. Наиболее оптимальным источником азотного питания является пептон – время створаживания молока выше в два и более раз по сравнению с вариантами использования аммонийных солей. Однако аммонийные соли – (NH₄)₂SO₄, NH₄H₂PO₄, (NH₄)₂HPO₄ могут выступать альтернативными источниками азота, о чем свидетельствует высокий синтез экзопротеиназ молокосвертывающего действия на 15-й день культивирования. При культивировании на питательных средах с минеральными солям штамма *I. lacteus* 2432 нужно учитывать более длительный период роста мицелия и синтеза молокосвертывающего фермента.

Список литературы

1. Антоненко Л. О. Вплив джерел живлення на ріст грибів роду *Coriolus* Quel (*Trametes* Fr.) і їх антиокислювальну активність / Л.О. Антоненко, В.М. Кучма, Ю.С. Крисяк // Наукові вісті НТУУ «КПІ». – 2010. – № 3. – С. 10-15.
2. Белки, ферменты и стеринны базидиальных грибов. Методы исследования / Под ред.

О. П. Низковской. – Л. : Наука, 1979. – 72 с.

3. *Бойко М. І.* Фізіолого-біохімічні особливості системи *Pinus sylvestris* L. – *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. і перспективи практичного використання екзометаболітів деяких дереворуйнівних грибів : дис. ... докт. біол. наук : 03.00.12; 03.00.24 / М. І. Бойко. – Донецьк, 1996. – 461 с.

4. *Бойко С. М.* Біологічні особливості штамів *Irpex lacteus* Fr. – продуцентів протеїназ молокозсідальної дії : автореф. дис. ... канд. біол. наук : 03.00.21 / С. М. Бойко. – Київ, 2002. – 20 с.

5. *Бухало А. С.* Влияние различных источников углерода и азота в синтетических средах на рост базидиомицетов / А. С. Бухало, Л. П. Пархоменко, М. Н. Марченко // Микология и фитопатология. – 1972. – Т. 6, вып. 3. – С. 241-244.

6. *Васильева О. В.* Использование костной муки для культивирования *Hirschioporus laricinus* (Karst.) Ruv. – продуцента протеиназ молокозвертывающего действия / О. В. Васильева, О. А. Никитина, М. И. Бойко // Охорона навколишнього середовища та раціональне використання природних ресурсів : IV Міжнар. наук. конф. аспірантів та студентів (м. Донецьк, 12–14 квітня 2005 р.). – Донецьк : ДонНТУ, ДонНУ, 2005. – Т. 2. – С. 22-23.

7. *Кочетов Г. А.* Практическое руководство по энзимологии / Г. А. Кочетов. – М. : Высш. шк., 1980. – 272 с.

8. *Негруцкий С. Ф.* Исследование потребностей *Hirschioporus abietinus* в источниках углеродного и азотного питания / С. Ф. Негруцкий, О. А. Криводубский, Л. П. Фильчаков, Т. А. Потапова // Микология и фитопатология. – 1982. – Т. 16, вып. 3. – С. 236-241.

9. *Петербургский А. В.* Практикум по агрономической химии / А. В. Петербургский. – М. : Колос, 1968. – 469 с.

10. *Приседський Ю. Г.* Статистична обробка результатів біологічних експериментів : навч. посібник / Ю. Г. Приседський. – Донецьк : Кассиопея, 1999. – 210 с.

11. *Типограф Д. Я.* Условия культивирования гриба *Aspergillus candidus*, шт. 111 и его ферментативные комплексы / Д. Я. Типограф, Т. А. Петина // Прикл. биохимия и микробиология. – 1966. – Т. 2, № 4. – С. 417-424.

12. *Федорова Л. Н.* Протеазы сычужного действия в культурах высших грибов / Л. Н. Федорова, А. Н. Шиврина // Микология и фитопатология. – 1974. – Т. 8, № 1. – С. 22-25.

13. *Цивилева О. М.* Влияние состава среды культивирования на активность внеклеточных лектинов / О. М. Цивилева, В. Е. Никитина, Л. В. Гарибова // Прикл. биохимия и микробиология. – 2005. – Т. 41, вып. 2. – С. 200-203.

14. *Чемерис О. В.* Штаммовая изменчивость синтеза специфических молокозвертывающих протеиназ у базидиального гриба *Irpex lacteus* / О. В. Чемерис, В. В. Рашевский, К. А. Галкова, М. И. Бойко // Вестник Московского университета. Сер. 16. Биология. – 2016. – № 4. – С. 45-49.

15. *Elisashvili V. I.* Carbon and nitrogen source effects on basidiomycetes exopolysaccharide production / V. I. Elisashvili, E. T. Kachlishvili, S. P. Wasser // Прикл. биохимия и микробиология. – 2009. – Т. 45, вып. 5. – С. 592-596.

16. *Kawai M.* Studies on milk clotting enzymes produced by Basidiomycetes. I. Screening test of Basidiomycetes for the production of milk clotting enzymes / M. Kawai, N. Mukai // Agric. Biol. Chem. – 1970. – V. 34 (2). – P. 159-163.

17. *Layne E.* Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins / E. Layne // Methods Enzymol. – 1957. – Vol. 3. – P. 447-455.

Chemeris O. V., Boyko M. I. The influence of different sources of nitrogen nutrition on milk-clotting activity of strain *Irpex lacteus* 2432. – The effect of different sources of nitrogen nutrition by cultivating the strain *Irpex lacteus* 2432 was investigated. It has been established that the optimal nitrogen source in the nutrient medium acts as peptone during the cultivation of this strain. Alternative sources of nitrogen were mineral salts $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$.

Key words: basidiomycete *Irpex lacteus*, milk-clotting (rennet) activity, culture liquid, nitrogen nutrition.