

## Сравнительная цито-физиологическая характеристика некоторых штаммов биолюминесцентных грибов

Научный руководитель – Камзолкина Ольга Владимировна

Семенова Марина Андреевна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра микологии и альгологии, Москва, Россия

E-mail: [marinaapbch@mail.ru](mailto:marinaapbch@mail.ru)

Тема биолюминесценции грибов в последние годы стала привлекать внимание. Однако исследований, направленных на изучение физиологических особенностей люминесцентных грибов и особенностей их культивирования, на данный момент мало. Цитологические основы биолюминесценции грибов ранее не изучали, однако было показано, что грибная люцифераза является мембраносвязанным белком [1]. Также известно, что эндомембранные структуры образуют органы люминесценции у водорослей, насекомых, рыб и др. организмов [2].

Целью данной работы было провести сравнительное изучение влияния условий культивирования на рост и свечение мицелия грибов, а также выявить корреляцию ультраструктуры клеток мицелия с уровнем биолюминесценции, обращая особое внимание на эндомембраны.

Использовали четыре штамма светящихся грибов: *Favolaschia manipularis* LE-BIN 3272, *Neonothopanus nambi* LE-BIN 3297, *Omphalotus olearius* LE-BIN 2082, *Panellus luminescens* LE-BIN 3351.

Мицелий грибов культивировали на агаризованных средах. Интенсивность свечения измеряли с помощью люминометра RTF. Препараты клеток отбирали в двух временных точках (условные минимум (3 сутки роста) и максимум (7 сутки роста) световой эмиссии). В качестве контроля использовали несветящийся штамм *P. stipticus* MGU FM 0142.

Изучали влияние условий культивирования на рост и развитие воздушного мицелия: температуры (15°C; 20°C; 25°C; 30°C), pH (4; 7; 10,5), состава среды (картофельно-глюкозный агар, мальт-агар (МА), модифицированная среда Чапека для ксилотрофов с различными сочетаниями источников углерода (глюкоза, сахароза, декстрин, отсутствие источника) и азота (нитрат, аммоний, пептон, отсутствие источника)). Были подобраны оптимальные условия культивирования: 25°C, pH 4, МА. Показано, что различные концентрации мальтакса в среде (2°Б, 2,7°Б, 3,3°Б, 4,7°Б) влияют на интенсивность люминесценции, но не на рост исследуемых штаммов. С повышением концентрации интенсивность биолюминесценции увеличивалась (*N. nambi* - в 3-600 раз, *O. olearius* - в 4-25000 раз), однако при концентрации мальтакса 4,7°Б наблюдалось снижение уровня свечения (*O. olearius* - в 4 раза по сравнению с 3,3°Б на 2 сутки роста, в 27 раз на 22 сутки роста; *P. luminescens* - в 4 раза на 85 сутки роста). Мицелий штамма *F. manipularis* со временем утратил способность к люминесценции при культивировании на МА.

На уровне световой микроскопии проводили окрашивание нейтральным красным и флуоресцентными красителями (ДАПИ, родамин 6Ж, нильский красный), а также наблюдали автофлуоресценцию на микроскопе Axioskop 40FL. Показана дикариотичность клеток мицелия, наличие хорошо развитого митохондриального аппарата. Обнаружена автофлуоресценция внеклеточных секреторных структур (*F. manipularis*, *P. luminescens*, *P. stipticus*) и внутриклеточных включений и цитоплазмы (*N. nambi*, *O. olearius*). В цитоплазме клеток со временем происходило накопление нейтральных липидов (исключение

- *O. olearius*), что было подтверждено и при использовании электронной микроскопии (увеличение количества в 2-7 раз).

На уровне просвечивающей электронной микроскопии (JEOL JEM-1011, двойная фиксация: 2,5% глутаровый и 2% параформальдегидом на 0,1 М Нерес буфере (pH 6,8), 1:1; (2) постфиксация в 2% OsO<sub>4</sub>) выявлено наличие в клетках всех штаммов грибов различных структур, состоящих из множества закрученных мембран как в цитоплазме, так и в вакуолях; мультивезикулярных тел; «войлок»-подобных скоплений мембран как внутри клеток, так и снаружи.

На основе сравнительного анализа мицелия светящихся штаммов грибов *N. nambi*, *O. olearius*, *P. luminescens*, несветящегося штамма *P. stipticus* и утратившего свечение *F. manipularis* в двух временных точках был сделан предварительный вывод о том, что в клетках светящихся грибов нет специализированных структур, связанных с процессом биолюминесценции. Обсуждается возможное участие в этом процессе эндомембранных структур, в связи с их накоплением в процессе роста мицелия.

### Источники и литература

- 1) Desjardin D.E., Oliveira A.G., Stevani C.V. Fungi bioluminescence revisited // Photochem. Photobiol. Sci. 2008. V. 7. № 2. P. 170-182.
- 2) Sweeney B.M. Intracellular source of Bioluminescence // International review of cytology. 1980. V. 68. P. 173-195.