

Карпенко Ю.В.

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ МСП, Д 03680, Україна*

ВПЛИВ СВІТЛА РІЗНОГО СПЕКТРАЛЬНОГО СКЛАДУ НА ПОКАЗНИКИ РОСТУ МІКРОСКОПІЧНИХ ГРИБІВ

*Було досліджено особливості радіального росту трьох видів мікроскопічних грибів при освітленні жовтим, синім, зеленим та червоним світлом. Вивчені види грибів різнились між собою місцем виділення (частина була виділена з місцевіснвань високого радіоактивного забруднення, інші – з місць із фоновим рівнем радіоактивності) та ступенем пігментації (меланінвмісні та світлозабарвлені). Було досліджено параметри радіального росту, що є інтегральними показниками фізіологічного стану грибного організму: швидкість росту, ступінь галуження та узагальнюючий показник – інтенсивність освоєння субстрату. Показано, що освітлення синім та жовтим світлом стимулювало ріст міцелію меланінвмісних штамів виду *Cladosporium cladosporioides* майже в два рази. При цьому у безпігментного мутантного штаму цього ж виду світло пригнічувало ріст порівняно з контролем. Реакція на світло іншого пігментованого виду *Neurospora resiniae* була набагато менш вираженою, а світлозабарвлений вид *Paecilomyces lilacinus* взагалі ніяк не реагував на досліджені режими освітлення.*

К л ю ч о в і с л о в а: мікроскопічні гриби, світло різного спектрального складу, швидкість радіального росту, одиниця гіфального росту, інтенсивність освоєння субстрату.

Світло є одним з основних джерел енергії для всього живого на Землі. Представники царства грибів можуть реагувати на світло різного спектрального складу в широких межах інтенсивності [3, 14].

У грибів світло контролює численні процеси метаболізму: спороношення [16], експресію деяких генів [20], гетеротрофну фіксацію CO₂ повітря [2], синтез нуклеїнових кислот [9], білків, ряду ферментів [22], компонентів клітинної оболонки, пігментів [12], токсинів [7], антибіотиків [8] та інших сполук [23]. Оскільки характер радіального росту грибів вважають інтегральним показником їх фізіологічного стану [15, 17], а також показником адаптивних реакцій до умов довкілля, що постійно змінюються [4], ми зупинились саме на вивченні ростових параметрів грибних організмів. Представлена робота є продовженням ряду експериментів із вивчення впливу світла на грибні організми [5, 14].

Метою нашої роботи було вивчення залежності радіального росту мікроскопічних грибів, виділених із радіоактивних субстратів, від многохроматичного світла.

Матеріали і методи. Об'єктами дослідження були три види грибів (табл. 1), штами яких постійно зустрічались у 10-км зоні відчуження ЧАЕС та різнились за ступенем пігментації.

© Карпенко Ю.В., 2010

Так, види *Cladosporium cladosporioides* та *Hormoconis resiniae* були меланінвмісними (темнозабарвленими), а вид *Paecilomyces lilacinus* – світлозабарвленим. Апігментний мутант *C. cladosporioides* був отриманий шляхом тривалого опромінення, внаслідок чого він втратив здатність до утворення меланінового пігменту. Кожен вид був представлений штамами, виділеними з радіоактивних субстратів та контрольними штамами, виділеними з субстратів із фоновим рівнем радіоактивності. Вивчені культури грибів належать до Української колекції мікроорганізмів та зберігаються у відділі фізіології та систематики мікроміцетів ІМВ НАН України.

Таблиця 1

Характеристика штамів грибів, використаних в роботі

Вид	Штам	Місце та час виділення	Радіоактивність субстрату в час виділення
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fr.) de Vries	4 (Ra)	грунт промислового майданчика на території ЧАЕС, осінь 1986 р.	3,6·10 ⁵ Бк/кг
	396 (К)	ризосфера кукурудзи, Львівська область, 1957 р.	контроль
	alb-мутант	отриманий шляхом опромінення у дозі 9000 Гр в умовах гіпоксії	—
<i>Hormoconis resiniae</i> (Lindau) von Arx et de Vries	21(Ra)	поверхня стіни приміщення 4-го блоку ЧАЕС, 2001 р.	300 мР/год
	77 (Ra)	поверхня стіни приміщення 4-го блоку ЧАЕС, 2003 р.	30 000 мР/год
	К (К)	паливо ТС-1, 2005 р.	контроль
<i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson	1941 (Ra)	грунт “Рудого” лісу біля ЧАЕС, 1994 р.	3,2·10 ⁴ Бк/кг
	101 (К)	грунт, Коктебель, Крим, 2000 р.	контроль

Примітка: Ra - штами, виділені із зони відчуження ЧАЕС; К - штами, виділені з місць з фоновим рівнем радіоактивності.

Мікроскопічні гриби вирощували у чашках Петрі на сусло-агарі протягом 7 діб при температурі 28 °С, оскільки просторово-неоднорідний ріст мікроскопічних грибів у таких умовах є найбільш наближеним до їх росту в природі [21]. Інокулюм досліджених культур висівали на поживне середовище та одразу розпочинали його освітлювання протягом 7 діб. При цьому використовували джерело денного освітлення та освітлення через світлофільтри синього (довжина хвилі 440–500 нм), зеленого (500–570 нм), жовтого (570–590 нм) та червоного (610–700 нм) кольорів. Інтенсивність світлового опромінення при цьому складала 800–1000 лк.

Контрольні зразки культур вирощували в темряві протягом того ж часу при аналогічній температурі та вологості.

Через 7 діб визначали наступні ростові характеристики: швидкість радіального росту, одиницю гіфального росту (ОГР) та інтенсивність освоєння субстрату (І) [1].

Результати та їх обговорення. Одержані результати представлені у вигляді гістограм (рис. 1–9). Жирною лінією позначено результати, одержані при рості грибів у повній темряві (контроль).

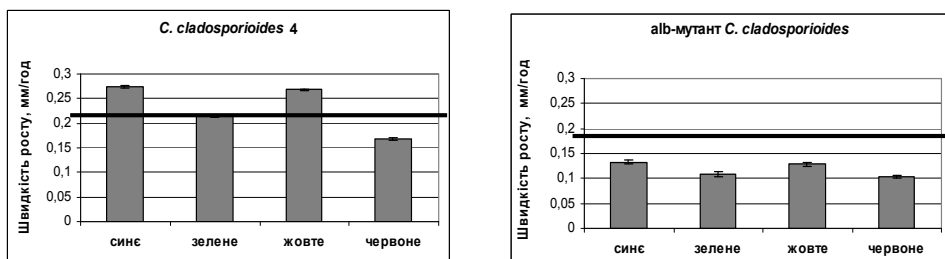


Рис. 1. Зміна швидкості радіального росту *C. cladosporioides* під впливом світла.

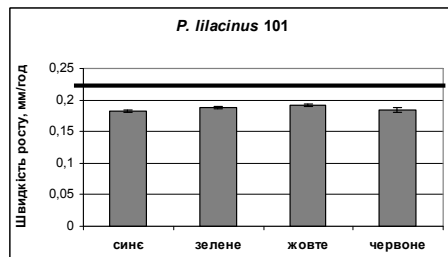
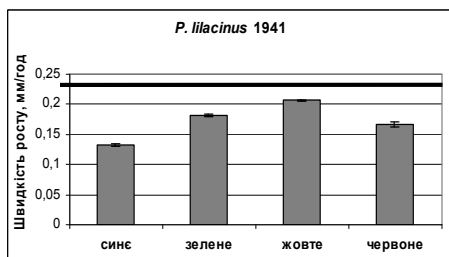


Рис. 2. Зміна швидкості радіального росту *P. lilacinus* під впливом світла.

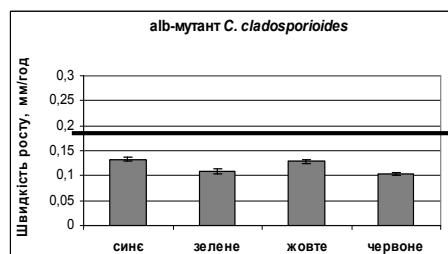
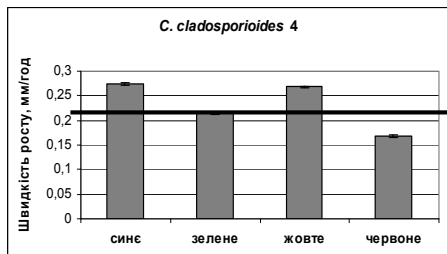


Рис. 3. Зміна швидкості радіального росту *H. resinae* під впливом світла.

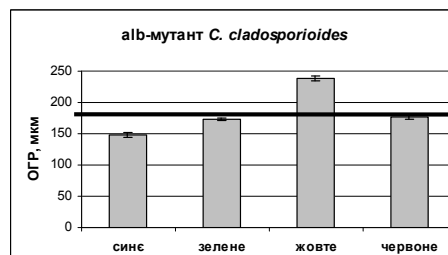
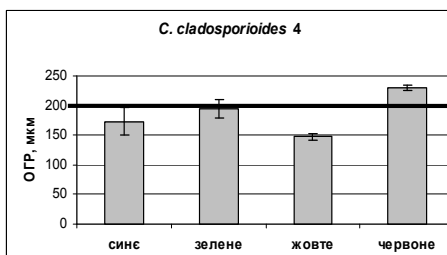


Рис. 4. Зміна галуження *C. cladosporioides* під впливом світла.

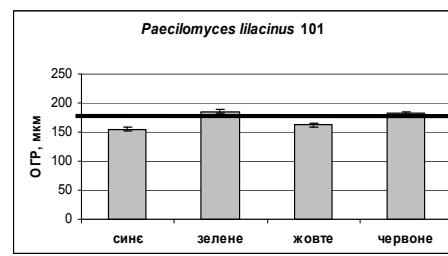
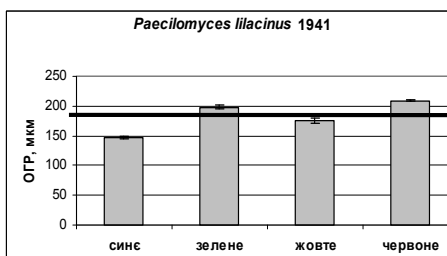


Рис. 5. Зміна галуження *P. lilacinus* під впливом світла.

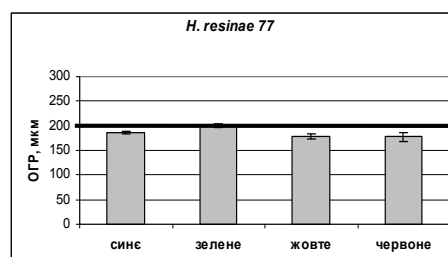
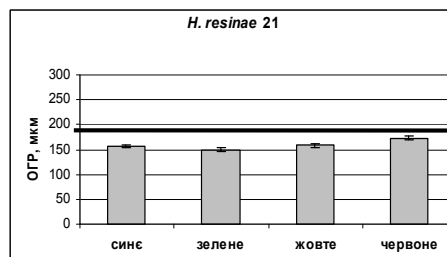


Рис. 6. Зміна галуження *H. resinae* під впливом світла.

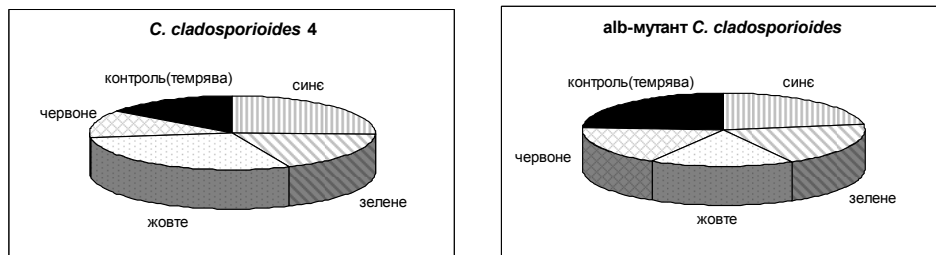


Рис. 7. Зміна інтенсивності освоєння субстрату *C. cladosporioides* під впливом світла.

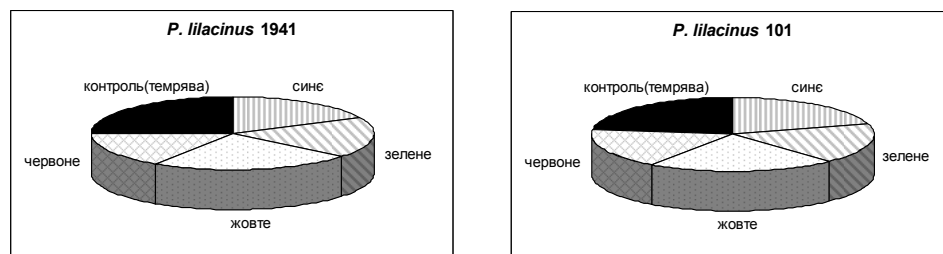


Рис. 8. Зміна інтенсивності освоєння субстрату *P. lilacinus* під впливом світла.

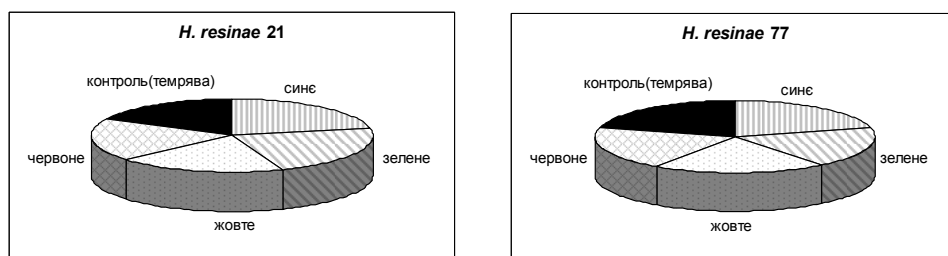


Рис. 9. Зміна інтенсивності освоєння субстрату *H. resinae* під впливом світла.

При визначенні швидкості радіального росту за впливу світла різного спектрального складу було виявлено, що швидкість росту штамів виду *C. cladosporioides* була найвищою серед досліджених видів та складала 0,17–0,27 мм/год для *C. cladosporioides* 4; 0,17–0,25 мм/год для *C. cladosporioides* 396 та 0,10–0,14 для alb-мутанта цього ж виду.

Світло синього та жовтого кольору на 40–50 % стимулювало ріст меланінвмісних штамів *C. cladosporioides* 4 та 396, виділених із радіоактивного та нерадіоактивного субстратів відповідно (рис. 1). Менш виражений ефект стимуляції мав місце при освітленні зеленим світлом: 15 % для *C. cladosporioides* 4 та 26 % для *C. cladosporioides* 396. Червоне світло не так суттєво впливало на ріст цих двох штамів – у випадку *C. cladosporioides* 4 спостерігали навіть незначне пригнічення росту (9 %), а у *C. cladosporioides* 396 реєстрували стимуляцію росту на 14 %. Щодо безпігментного мутанта цього ж виду, він повільніше ріс на світлі, ніж у темряві. Ця різниця складала 22–40 %.

Обидва штами виду *P. lilacinus* мали швидкість росту в межах 0,14–0,22 мм/год. Освітлення спектральним світлом давало або незначний позитивний вплив, або негативний (Рис. 2). У *P. lilacinus* 1941 пригнічення складало 40 % (синє світло), 19 % (зелене), 7 % (жовте) та 26 % (червоне). У контрольного штаму пригнічення росту було значно меншим і становило 11–16 %.

У всіх темнозабарвлених штамів *H. resinae* швидкості росту при освітленні та у темряві різнились несуттєво та становили 0,13–0,15 мм/год. У *H. resinae* 21 спостерігали досить незначну стимуляцію світлом, що коливалась в межах 7–10 % порівняно зі швидкістю росту у темряві (рис. 3). У *H. resinae* 77 стимуляції росту не було зовсім, а було деяке пригнічення росту (1–12 %). У контрольного *H. resinae* також відбувалось пригнічення росту під впливом світла на 13 % (синє світло), 14 % (зелене), 21 % (жовте) та 16 % (червоне).

Наступним етапом роботи було дослідження впливу світла на **показник ОГР** (одиниця гіфального росту), що є величиною, зворотно пропорційною ступеню галуження міцелію. Галуження темнопігментованих штамів *C. cladosporioides* 4 та 396 за ОГР складало 153–250 мкм та (як і у випадку з радіальним ростом) стимулювалось світлом синього та жовтого кольору (14–20 % синім світлом та 25–27 % зеленим) (рис. 4). Світло червоного кольору на 14–16 % пригнічувало інтенсивність їх галуження. Галуження білого мутанта цього ж виду підсилювалось під впливом світла синього кольору на 19 % та пригнічувалося на 31 % жовтим світлом порівняно з ростом у повній темряві.

P. lilacinus 1941 відповідав на синє світло більш інтенсивним (16 %), порівняно з контролем, галуженням (рис. 5). Зелене та червоне світло пригнічувало галуження на 13 % та 19 % відповідно, жовте – мало нейтральний вплив. У контрольного штаму того ж виду, виділеного з відносно чистої до радіоактивності території, спостерігали незначну стимуляцію синім та жовтим світлом (7 % та 3 % відповідно) та незначне пригнічення галуження зеленим та червоним світлом (11 % та 8 % відповідно).

У темнозбарвлених штамів *H. resinae*, виділених із радіоактивних субстратів, як і у випадку з швидкістю росту, галуження при рості на світлі та у повній темряві різнилися незначною мірою (рис. 6). Так, у *H. resinae* 21 світло різного спектрального складу призводило до незначної стимуляції галуження – 3–16 %. У *H. resinae* 77 також не було вираженої різниці зі ступенем галуження в контролі (різниця складала 3–7 %) У контрольного ж штаму цього виду спостерігали суттєве пригнічення галуження при рості в режимі освітлення порівняно з темновим режимом (36–56 %).

Інтенсивність освоєння субстрату є величиною, за допомогою якої можна об'єктивно оцінити радіальний ріст культури на твердому середовищі, оскільки він враховує як швидкість розповсюдження грибного міцелію по субстрату, так і інтенсивність його розгалуження. За допомогою цього показника ми намагались узагальнити результати, одержані під час нашого експерименту.

Так, у *C. cladosporioides* 4 та 396, що характеризуються високим вмістом меланіну, цей показник збільшувався під впливом синього (72 % та 83 % відповідно) та жовтого кольору (98 % та 86 %) (рис. 7). Зелене світло також стимулювало ріст цих двох штамів, але значно менше (на 20 %). Червоне світло пригнічувало лише ріст штаму *C. cladosporioides* 4 на 20 %.

Інтенсивність освоєння субстрату апігментним мутантом пригнічувалась світлом синього кольору на 5 %, зеленого – на 20 %, жовтого – на 31 % та червоного – на 26 %.

Значення І для штамів *P. lilacinus* не підвищувались під впливом спектрального світла, а навпаки, зменшувались на 5–37 %, залежно від характеру освітлення (рис. 8).

Щодо меланінвмісного виду *H. resinae*, то у штаму 21 спостерігали посилення інтенсивності росту світлом всіх використаних спектрів порівняно з ростом в темряві на 10–30 %. Винятком був штам 77, інтенсивність росту якого практично не змінювалась (спостерігали лише незначне пригнічення зеленим світлом на 11 %) (рис. 9).

На радіальний ріст контрольного штаму К (виділеного з чистого щодо радіонуклідів субстрату) світло різного спектрального складу мало негативний вплив (пригнічення росту на 35–49 %).

Реакція організму на світло можлива завдяки його адсорбції на клітинних фоторецепторах. В сучасних дослідженнях цьому питанню приділяється багато уваги – на сьогодні визначені гени, що відповідають за синтез фоторецепторних білків, для багатьох видів грибів. Але питання хромофору фоторецепторів залишається досі невирішеним. Детально вивчено лише фоторецепторну систему *Neurospora crassa*, у якій хромофором фоторецепторного білка є речовини флавінової природи [6, 11]. Для *Phycomyces blakesleanus* було зроблено припущення, що рецептором синього світла є також флавіни, а вторинним хромофором – β -каротин [19].

Узагальнюючи одержані дані можна сказати, що меланінвмісні штами *C. cladosporioides* позитивно реагували на запропонований режим освітлення. Особливо помітною була реакція грибів на синє та жовте світло, коли інтенсивність їх радіального росту підвищилась на 72–98 % в заданих умовах освітлення. З літератури відомо, що саме синє світло позитивно впливає на розвиток світлочувливих видів грибів – викликає реакції позитивного фототропізму, стимулює ріст міцелію та спороношення, синтез біологічно активних речовин тощо [2]. За даними [13] синє та УФ світло еволюційно відігравали вирішальну роль у розподілі грибних

організмів на аскоміцетні та базидіоміцетні. Зелене світло, наприклад, стимулювало утворення спорангієносців *Mucor circinelloides* [21], а червоне світло пригнічувало конідієутворення *Aspergillus oryzae* [10] та синтез мікотоксинів у *Aspergillus nidulans* [18]. Відносно стимулюючої дії жовтого світла ми не знайшли будь-яких відомостей в літературі.

У мутантного штаму *C. cladosporioides* таке світло пригнічувало ріст порівняно з контролем (ріст у темряві). Інтенсивність освоєння щільного субстрату штамами світлозabarвленого виду *P. lilacinus* також знижувалась при опроміненні його світлом. Реакція штамів темнозabarвленого виду *H. resinae* на освітлення була незначною. Одержані результати можуть бути корисними для біотехнологічних розробок, що пов'язані з отриманням біомаси, оскільки отримана за допомогою освітлення стимуляція росту грибного міцелію практично в 2 рази є достатньо суттєвою величиною.

При вивченні впливу світла з такими ж параметрами (довжина хвилі, інтенсивність) на жирнокислотні профілі тих самих видів грибів ми спостерігали подібну тенденцію: найбільші зміни в складі клітинних жирних кислот відбувались під впливом синього та жовтого світла у штамів *C. cladosporioides*, що характеризується високим вмістом пігменту меланіну, а у якісному та кількісному складі жирних кислот штамів світлозabarвленого виду *P. lilacinus* жодних змін не спостерігали [2, 5].

Карпенко Ю.В.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины, Киев

ВЛИЯНИЕ СВЕТА РАЗНОГО СПЕКТРАЛЬНОГО СОСТАВА НА ПОКАЗАТЕЛИ РОСТА МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ

Были исследованы особенности радиального роста трех видов микроскопических грибов при освещении их желтым, синим, зеленым и красным светом. Изученные виды грибов различались между собой местом выделения (часть была выделена из местообитаний с высоким уровнем радиоактивного загрязнения, другие – из мест с фоновым уровнем радиоактивности) и степенью пигментации (меланосодержащие и светлоокрашенные виды). Были изучены параметры радиального роста, являющиеся интегральными показателями физиологического состояния грибного организма: скорость радиального роста, интенсивность ветвления мицелия, а также обобщающий показатель – интенсивность освоения субстрата. Показано, что меланиносодержащие штаммы вида *Cladosporium cladosporioides* в значительной мере реагировали на синий и желтый свет (стимуляция роста мицелия – почти в 2 раза). При этом у безпигментного мутанта этого же вида свет угнетал рост в сравнении с контролем. Реакция на свет другого пигментированного вида *Hormoconis resinae* была намного менее выраженной, а светлоокрашенный вид *Paecilomyces lilacinus* вообще никак не реагировал на предложенные режимы освещения.

К л ю ч е в ы е с л о в а: микроскопические грибы, свет разного спектрального состава, скорость радиального роста, единица гифального роста, интенсивность освоения субстрата.

Karpenko Yu. V.

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

INFLUENCE OF LIGHT OF DIFFERENT SPECTRAL COMPOSITION ON GROWTH CHARACTERISTICS OF MICROSCOPIC FUNGI

S u m m a r y

The features of radial growth of three microscopic fungi species were investigated at illumination by yellow, blue, green and red light. The studied species of fungi differed by isolation site (some of them were isolated from the places of high radioactive pollution, others – from the places with background level of radioactivity) and pigmentation degree (melanin-containing and light-colored). The parameters of radial growth, which are the integral indexes of the fungal organism physiology state were investigated: radial growth rate, branching degree and summarizing index - the intensity of substrate consumption. It was shown that the melanin-containing fungi *Cladosporium cladosporioides* growth was twice more rapid in response to blue and yellow light. Whereas such light depressed growth of non-pigmented strain of the same species as compared to control. A light response of other pigment-containing species *Hormoconis resinae* was far less expressed, and the light-colored species *Paecilomyces lilacinus* had no response to any offered conditions of illumination.

The paper is presented in Ukrainian.

Key words: microscopic fungi, light of different spectral composition, radial growth rate, hyphal growth unit, intensity of substrate consumption.

The authors address: Yu. V. Karpenko, Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine; 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv MSP, D 03680, Ukraine.

1. Блажеєвська Ю.В. Ростовые характеристики мікроскопічних грибів, активно ростущих в умовах 4-го блоку ЧАЕС // Мікробіол. журн. – 2003. – 65, № 3. – С. 30 - 34.
2. Жданова Н. Н., Василевська А. И. Меланінсодержачіе мікроміцети в екстремальних умовах. – Київ: Наук. думка, 1988. – 194 с.
3. Жданова Н.Н., Люличев А.Н., Василевська А.И., Антоненко А.Л. Выживаемость некоторых видов темноокрашенных грибов под влиянием искусственного солнечного излучения // Космические исследования на Украине. – Киев: Наук. думка, 1978. – вып. 12. – С. 20 - 24.
4. Гильманов Т.Г., Базилевич Н.М. Теоретические основы и опыт экологического мониторинга. – М.: Наука, 1983. – С. 7–57.
5. Карпенко Ю.В. Вплив світла різного спектрального складу на жирно-кислотні профілі мікроскопічних грибів, виділених із зони відчуження ЧАЕС // Доп. НАН України. — 2008. – № 10. – С. 190 - 196.
6. Крицкий М.С., Белозерская Т. А., Соколовский В. Ю., Филиппович С. Ю. Фоторецепторный аппарат гриба *Neurospora crassa*. // Молекул. биол. – 2005. – 39, № 4. – С. 602-617.
7. Aziz, N.H., Moussa, L.A. Influence of white light, near-UV irradiation and other environmental conditions on production of aflatoxin B1 by *Aspergillus flavus* and ochratoxin A by *Aspergillus ochraceus* // Nahrung. – 1997. – 43, N 3. – P. 150 – 154.
8. Calvo, M.A., Agut, M., Calvo, R.M., Larrondo J. Effect of ultraviolet light irradiation and nitrosoguanidine on viability of 46 strains of *Arthrinium* and their antibiotic production // Microbiol. – 1999. – 98, N 391. – P. 179 – 187.
9. Chebotarev, L.N. Role of oxygen in the photoinactivation of the spores of microscopic fungi // Mikrobiologia. – 1982. – 51, N 2. – P. 255 – 258.
10. Hatakeyama R, Nakahama T, Higuchi Y, Kitamoto K. Light represses conidiation in koji mold *Aspergillus oryzae*. // Biosci. Biotechnol. Biochem. – 2007. – 71, N 8. – P. 1844 – 1849.
11. He Q., Liu Y. Molecular mechanism of light responses in *Neurospora*: from light-induced transcription to photoadaptation // Genes Dev. – 2005. – 19, N 23. – P. 2888 – 2899.
12. Hellingwerf, K.J., Hoff, W.D., Crieelaard, W. Photobiology of microorganisms: how photosensors catch a photon to initialize signaling // Mol. Microbiol. – 1996. – 21, N 4. – P. 683 – 693.
13. Idnurm A, Heitman J. Light controls growth and development via a conserved pathway in the fungal kingdom // PLOS Biol. – 2005. – 3, N 4. – P. 615 – 626.
14. Karpenko Yu.V., Redchitz T.I., Zhdanova N.N., Dighton J., Zheltonozhsky V.A. Comparative responses of microscopic fungi to ionizing radiation and low intensity light. // Folia microbiologica. – 51, N 1. – 2006. – P. 45 – 49.
15. Kotov V.N., Reshetnikov S.V. A stochastic model for early mycelial growth // Mycological Research. – 1990. – 94, N 5. – P. 577 – 586.
16. Lucas J. A., Kendrick R. E., Givan C. V. Photocontrol of fungal spore germination // Plant Physiol. – 1975. – 56, N 8. – P. 847 – 849.
17. Moore D. Hyphal growth. Metabolism and biochemistry of hyphal systems. In: Fungal morphogenesis – Cambridge: University Press. – 1998 – P. 26–134.
18. Purschwitz J., Muller S., Kastner C. Functional and physical interaction of blue-and red-light sensors in *Aspergillus nidulans*. // Cur. Biol. – 2008. – 18, N 2. – P. 255 – 259.
19. Rodríguez-Romero J., Corrochano L.M. Regulation by blue light and heat shock of gene transcription in the fungus *Phycomyces*: proteins required for photoinduction and mechanism for adaptation to light. // Mol. Microbiol. – 2006. – 61, N 4. – P. 1049 – 1059.
20. Ruiz-Hidalgo M.J., Benito E.P., Sandmann G., Eslava A.P. The phytoene dehydrogenase gene of *Phycomyces*: regulation of its expression by blue light and vitamin A // Mol. Gen. Genet. – 1997. – 253, N 6. – P. 734 – 744.
21. Silva F., Torres-Martinez S., Garre V. Distinct white collar-1 genes control specific light responses in *Mucor circinelloides* // Mol. Microbiol. – 2006. – 61, N 4. – P. 1023–1037.
22. Velayos A., Blasco J.L., Alvarez M.I., Iturriaga E.A., Eslava A.P. Blue-light regulation of phytoene dehydrogenase (car B) gene expression in *Mucor circinelloides* // Planta. – 2000. – 210, N 6. – P. 938 – 946.
23. Weitz H.J., Ballard A.L., Cambell C.D., Killham K. The effect of culture conditions on the mycelial growth and luminescence of naturally bioluminescent fungi // FEMS Microbiol. Lett. – 2001. – 202, N 2. – P. 165 – 170.

Отримано 22.09.2009