

УДК 579.222:57.042

ВЛИЯНИЕ ДОНОРА И ИНГИБИТОРА СИНТЕЗА МОНООКСИДА АЗОТА НА УРОВЕНЬ СТРЕССОВЫХ МЕТАБОЛИТОВ БАЗИДИОМИЦЕТОВ В УСЛОВИЯХ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВ

© 2025 г. Е. А. Лощинина^{1,*}, М. А. Купряшина¹¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ Саратовский научный центр РАН
410049 Саратов, просп. Энтузиастов, 13, Россия

*E-mail: loshchinina@yandex.ru

Монооксид азота у грибов принимает участие в процессах размножения, патогенеза и адаптации к условиям окружающей среды. Вещества, влияющие на содержание NO в грибных культурах, оказывают воздействие на ростовые процессы и синтез других метаболитов. Исследовали влияние донора и ингибитора синтеза NO на продукцию стрессовых метаболитов базидиомицетов *Lentinus edodes* и *Grifola frondosa* в абиотических стрессовых условиях (высоко- и низкотемпературный шок, недостаток углерода и/или азота в питательной среде). При всех изученных условиях внесение в среду *L-NAME* (ингибитор синтеза NO) стимулировало, а *SNP* (нитропруссид натрия, донор NO) подавляло рост грибного мицелия. При этом содержание протекторных стрессовых метаболитов трегалозы, маннита и пролина у обоих базидиомицетов повышалось до 70% на средах с *SNP* и снижалось до 65% на средах с *L-NAME*. Наиболее выраженным влияние *SNP* и *L-NAME* на рост грибных культур и накопление ими протекторных соединений оказалось при воздействии температурного стресса.

Ключевые слова: абиотический стресс, *Lentinus edodes*, *Grifola frondosa*, монооксид азота, доноры и ингибиторы синтеза NO, стрессовые метаболиты.

DOI: 10.31857/S0002188125020093, **EDN:** VAUVRM

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время в мире все больше развивается промышленное грибоводство. Важными задачами этой отрасли сельского хозяйства являются разработка и оптимизация методов выращивания мицелия и плодовых тел съедобных и лекарственных макромицетов, защиты их от вредителей и патогенов, повышение качества получаемой продукции. Древоразрушающие культивируемые базидиомицеты не только используются для получения плодовых тел и мицелиальной биомассы, но и помогают утилизировать различные растительные отходы сельского хозяйства, деревообрабатывающей и целлюлозно-бумажной промышленности и получать из них ценные органические удобрения [1]. Отработанные грибные субстраты повышают содержание органических веществ и микроэлементов в почве, улучшают ее структуру, позволяют осуществлять биоконтроль за микробной популяцией и бороться с возбудителями заболеваний сельскохозяйственных растений, а также их можно использовать в качестве биосорбентов для ремедиации почв, загрязненных пестицидами.

Базидиальным грибам, как и другим живым организмам, на протяжении всего своего жизненного цикла необходимо адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды. Факторы неживой природы, негативно влияющие на живые организмы, объединяют термином абиотический стресс [2]. К числу наиболее важных абиотических факторов, влияющих на рост и развитие грибных культур, относятся низко- и высокотемпературный стресс и недостаток питательных веществ в субстрате. Важная роль в жизнедеятельности грибов принадлежит протекторным соединениям, стабилизирующим клеточные структуры и защищающим биополимеры и липиды клетки от повреждений при стрессорных воздействиях [3, 4]. При этом использование в защитных процессах тех или иных протекторов зависит от видовой принадлежности культур и может изменяться в зависимости от условий окружающей среды.

К числу важных соединений-протекторов, широко представленных у базидиомицетов, принадлежат трегалоза, маннит и пролин [3]. Дисахарид трегалоза участвует в защите грибных клеток от негативного влияния высоких температур, а также других абиотических факторов, включая холодовой, окислительный,

осмотический, химический стрессы, голодание и обезвоживание [2, 4, 5]. Полиол маннит служит протектором при низкотемпературном, осмотическом и солевом стрессе, принимает участие в процессах патогенеза и споруляции [3, 6, 7]. Аминокислота *L*-пролин также является полифункциональным протекторным соединением и отвечает за защиту от обезвоживания, солевого и температурного стресса, воздействия патогенов, тяжелых металлов и других соединений [8, 9].

Одним из важнейших биологических медиаторов у живых организмов является монооксид азота (NO), принимающий участие во множестве физиологических и патофизиологических процессах [10, 11]. NO одновременно является токсичным свободным радикалом, вызывающим химическое повреждение белков, липидов и ДНК клетки, индуцируя апоптоз, и в то же время выполняет роль важного медиатора в различных процессах жизнедеятельности. Синтез и функции NO хорошо исследованы у бактерий, растений и млекопитающих, однако у грибов, в особенности высших, это соединение до сих пор изучено достаточно мало [12, 13]. Тем не менее, имеющиеся научные исследования указывают на то, что NO играет важную роль в жизнедеятельности грибных культур и активно вовлекается в их метаболизм, участвуя в споруляции, прорастании спор, образовании плодовых тел, процессах патогенеза и адаптации к условиям окружающей среды. Например, показано, что в условиях теплового стресса NO может нейтрализовать негативное влияние температурных изменений и принимает участие в регуляции накопления одного из важнейших стрессорных метаболитов грибов – трегалозы [14, 15]. Установлено, что соединения, стимулирующие и ингибирующие синтез NO, одновременно оказывают влияние на ростовые процессы грибов, а также синтез ими других метаболитов, включая стрессовые соединения [14–18].

Таким образом, представляет интерес дальнейшее углубленное изучение влияния регуляторов синтеза NO на рост мицелия и метаболизм стрессовых соединений у грибов, культивируемых при различных абиотических стрессовых воздействиях. Цель работы – изучение уровня содержания протекторных соединений ксилотрофных базидиомицетов *Lentinus edodes* и *Grifola frondosa* в условиях абиотических стрессов (температурного шока, недостатка углерода и азота в среде выращивания) и исследование влияния донора и ингибитора NO на синтез стрессовых метаболитов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования и условия культивирования.

В данной работе были использованы культуры базидиальных грибов *L. edodes* (Berk.) Pegler, штамм F-249, полученный из Коллекции высших базидиальных грибов кафедры микологии и альгологии

МГУ (Москва, Россия), и *G. frondosa* (Dicks.) Gray, штамм 0917, полученный из Коллекции культур базидиомицетов БИН РАН (Санкт-Петербург, Россия).

Базидиомицеты выращивали при 26°C в темноте в условиях жидкофазного погруженного культивирования без перемешивания на среде с 9 г/л глюкозы и 1.5 г/л *L*-аспарагина (контроль). В качестве инокулята использовали 14-суточные культуры базидиомицетов, выращенные на сусло-агаре (4° по Баллингу) при 26°C. С помощью металлического инструмента в стерильных условиях вырезали блоки агара с мицелием диаметром 5 мм и инокулировали в жидкие питательные среды из расчета 2 диска на 20 мл среды.

В качестве стрессорных факторов использовали низко- или высокотемпературный шок (5°C или 50°C, 1 ч), а также культивирование на средах, обедненных по углероду (среда 1: глюкоза 0.9 г/л + *L*-аспарагин 1.5 г/л), азоту (среда 2: глюкоза 9 г/л + *L*-аспарагин 0.15 г/л) или углероду и азоту (среда 3: глюкоза 0.9 г/л и *L*-аспарагин 0.15 г/л). Донор NO нитропруссид натрия (*SNP*) и ингибитор NO гидрохлорид метилового эфира нитроаргинина (*L-NAME*) (Sigma, США) вносили в среду культивирования в стерильных условиях в конечной концентрации 0.1 или 1 мМ.

Определение ростовых характеристик базидиомицетов. Влияние стрессорных факторов на рост грибов определяли в динамике роста по накоплению сухой мицелиальной биомассы. Глубинный мицелий фильтровали через предварительно взвешенные бумажные фильтры (“Экрос”, Россия), высушивали до постоянной массы и вновь взвешивали.

Получение образцов мицелия и культуральных жидкостей *L. edodes* и *G. frondosa*. Мицелий отделяли от культуральной жидкости фильтрованием через бумажные фильтры (“Экрос”, Россия), промывали дистиллированной водой, механически измельчали с помощью ступки и пестика, экстрагировали дистиллированной водой, отделяли фильтрат с помощью бумажных фильтров. Полученные экстракты мицелия и культуральные жидкости пропускали через мембранные фильтры Durapore® в membrane filters, 0.22 мкм (Millipore, Ирландия) и анализировали на наличие трегалозы, маннита и пролина.

Спектрофотометрический анализ образцов. Спектрофотометрические измерения проводили на фотометре Multiskan Ascent (ThermoLabsystems, Финляндия) в Центре коллективного пользования (ЦКП) научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии “Симбиоз” Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН.

Определение стрессовых соединений. Содержание трегалозы в составе мицелия и культуральных жидкостей *L. edodes* и *G. frondosa* определяли трегалазным методом [19]. Трегалозу гидролизировали до глюкозы

с использованием трегалазы (EC3.2.1.28) (Sigma, США), а затем определяли изменение уровня глюкозы в образцах с использованием Glucose Assay Kit (Sigma, США). Содержание маннита определяли акваупроматным методом [20], пролина – с помощью кислого нингидринового реактива [21].

Статистическая обработка результатов. Эксперименты проводили в 3-х параллельных повторностях, для статистической обработки полученных данных использовали статистический пакет анализа данных программы Microsoft Office Excel. Представленные данные имеют соответствующие доверительные интервалы при уровне надежности 0.95.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение влияния температурного шока и недостатка углерода и/или азота в среде культивирования на накопление глубинной биомассы мицелия показало, что все эти факторы угнетали рост мицелия *L. edodes* и *G. frondosa*. При этом культура *G. frondosa* оказалась более чувствительной к недостатку питательных веществ в среде, а холодовой и тепловой шок вызывали сильное торможение роста вегетативного мицелия обеих культур (рис. 1).

У *L. edodes* при росте на обедненных средах накопление биомассы глубинной культуры на 14-е сут роста снижалось на 15–20%, а при высоко- и низкотемпературном шоке – на 40–45% по сравнению с контрольным вариантом. У *G. frondosa* наблюдали ингибирование накопления мицелиальной биомассы на 25–35% на обедненных средах и на 45% при температурном стрессе. Для обеих культур не отмечено значимых различий в подавлении мицелиального роста между воздействием холодового и теплового шока, а также между 3-мя использованными обедненными средами.

Таким образом, подавление ростовых процессов у *L. edodes* и *G. frondosa* вызывали оба изученных

абиотических фактора. При этом кратковременный стрессорный фактор (температурный шок) оказывал более выраженное подавляющее воздействие на мицелиальный рост обеих культур, тогда как длительно действующий стрессор – обедненная питательная среда – влиял на культуру *G. frondosa* сильнее по сравнению с *L. edodes*.

Далее проанализировали содержание стрессовых соединений – трегалозы, маннита и пролина в образцах мицелия и фильтратов культуральных жидкостей базидиомицетов, выращенных в условиях температурного шока и недостатка питательных веществ. Было обнаружено, что при данных условиях в культуральных жидкостях *L. edodes* и *G. frondosa* исследованные соединения на протяжении всего времени выращивания содержались в незначительных количествах. Иную закономерность наблюдали в составе грибного мицелия, где были выявлены заметные изменения в уровне содержания трегалозы, маннита и пролина.

Полифункциональный невосстанавливающий дисахарид трегалоза широко распространен в природе и встречается у бактерий, грибов, растений, насекомых [2]. В жизнедеятельности грибов, в том числе в адаптационных процессах, это соединение играет важнейшее значение. Трегалоза не только служит запасным углеводом, но и стабилизирует белки и мембранные липиды при стрессовых воздействиях, защищая их от разрушения [22, 23]. Наиболее хорошо изучена протекторная функция этого дисахарида при воздействии повышенных температур. В условиях теплового стресса трегалоза защищает ферменты грибов от инактивации и уменьшает агрегацию белков [24]. Наряду с тепловым шоком, трегалоза принимает участие в защите грибных клеток и от влияния низких температур, а также множества других факторов: обезвоживания, истощения питательных субстратов, влияния токсичных веществ, окислительного и осмотического стресса [23, 25, 26]. У патогенных грибов трегалоза принимает участие в сопротивлении

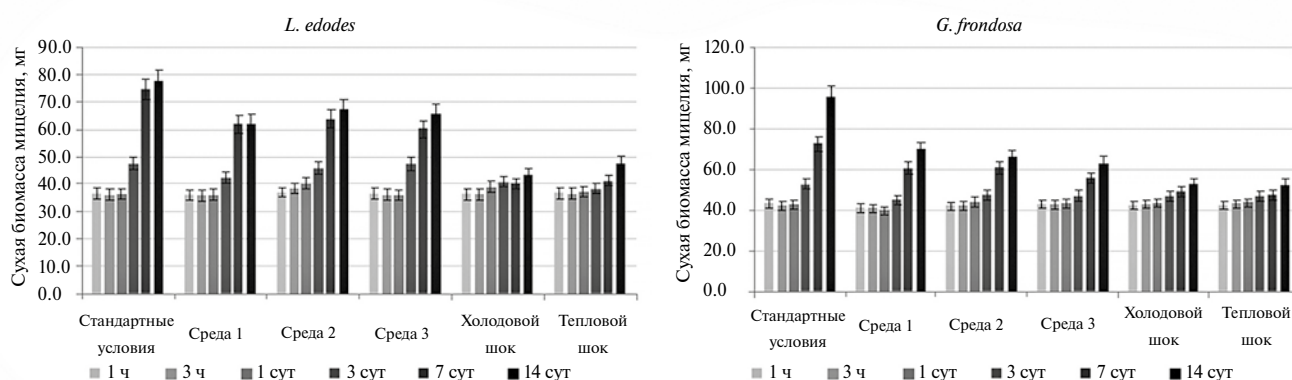


Рис. 1. Влияние абиотических стрессорных факторов на накопление биомассы глубинными культурами базидиомицетов.

защитным системам организма-хозяина [23]. Трегалоза накапливается как в вегетативных, так и в генеративных морфоструктурах грибов, в особенно высоких количествах — во время торможения ростовых процессов в стрессовых условиях [2]. Быстрое образование трегалозы происходит, как правило, при незапрограммированном стрессе [5], но сообщается и о возможности накопления трегалозы в нестрессовых условиях, например у термофильных грибов активный синтез этого дисахарида происходит, напротив, во время стадий активного роста [27]. Все это свидетельствует о необходимости дальнейшего

изучения метаболизма трегалозы у различных видов грибов и исследования ее роли в жизнедеятельности грибного организма и адапционных процессах.

У изученных нами культур *L. edodes* и *G. frondosa* наблюдали повышение содержания трегалозы при всех абиотических воздействиях, особенно выраженное при холодном и тепловом шоке, — в 2–4 раза в зависимости от возраста культуры (рис. 2).

На обедненных средах количество трегалозы в мицелии оказалось больше по сравнению с контролем на 30–50% у *L. edodes* и на 25–50% — у *G. frondosa*.

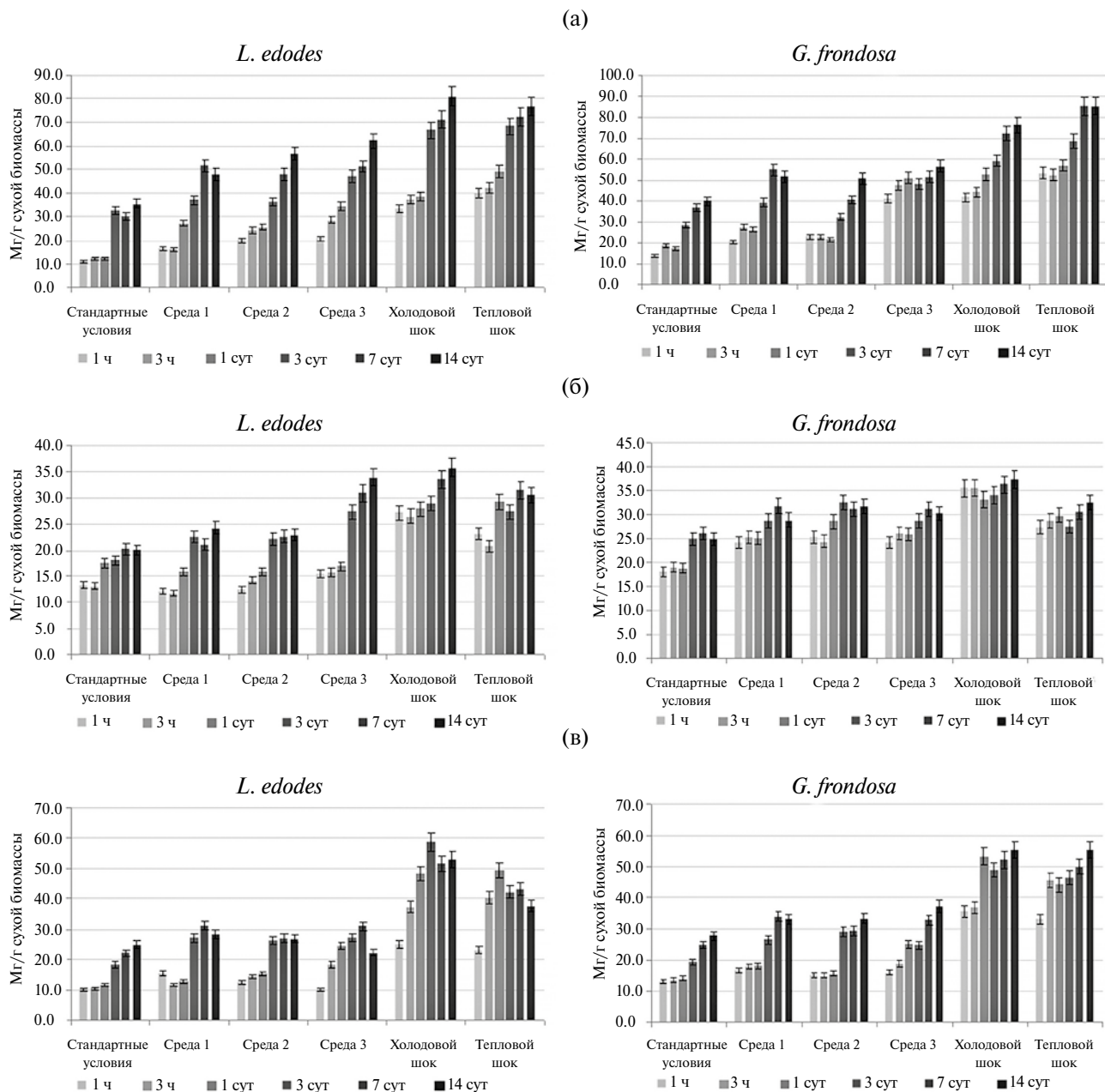


Рис. 2. Изменение содержания стрессовых метаболитов в мицелии базидиомицетов при голодании и температурном шоке: (а) — трегалоза, (б) — маннит, (в) — пролин.

Исключением стала культура *G. frondosa*, растущая на среде, обедненной по углероду и азоту, которая отличалась от других вариантов опыта более выраженным усилением синтеза трегалозы на ранних сроках стрессового воздействия (в 2.4–3.0 раза по сравнению с контролем). В нашем эксперименте заметную и сравнимую по количественным показателям стимуляцию выработки трегалозы наблюдали и при тепловом, и при холодовом стрессе, хотя у *L. edodes* через 1 ч–3 сут, а у *G. frondosa* – при всех изученных возрастах культуры тепловой шок вызывал более сильное повышение содержания данного метаболита по сравнению с низкотемпературным шоком.

Несмотря на то что усиление синтеза трегалозы наиболее часто связывают с адаптацией грибов к повышенным температурам, этот дисахарид, как и многие другие соединения, участвующие в адаптации грибного организма к неблагоприятным воздействиям, является полифункциональным протектором, выполняющим сразу ряд защитных функций, которые позволяют грибам приспосабливаться к меняющимся условиям окружающей среды и выживать в различных стрессовых условиях.

Помимо трегалозы, функцию протекторных соединений у грибов выполняют и другие вещества, в том числе полиолы [5]. Полиол маннит является одним из наиболее широко распространенных в биосфере сахароспиртов, он отсутствует у животных, но обнаружен у бактерий, водорослей и растений, а особенно широко представлен в грибах [28, 29]. Как и трегалоза, маннит является полифункциональным соединением и выполняет многочисленные функции, в том числе служит антиоксидантом, защищает от разнообразных негативных воздействий окружающей среды, участвует в процессах морфогенеза, спороношения и патогенеза [6, 7, 29]. Наиболее хорошо у базидиальных грибов изучено усиление синтеза маннита в условиях холодового

шока, с которым в первую очередь и связывают образование этого метаболита.

При изученных нами условиях содержание маннита в мицелии *L. edodes* оставалась на уровне контроля или незначительно повышалось на средах, обедненных по углероду и по азоту (рис. 3).

На среде с низким содержанием и углерода, и азота наблюдали резкое повышение содержания маннита на 50–70% после 3-х сут роста. После воздействия низко- и высокотемпературного шока содержание маннита в мицелии *L. edodes* возрастало на 60–80% в зависимости от времени роста культуры. Несколько иную закономерность наблюдали в случае *G. frondosa*. Для этой культуры во временном интервале до 1-х сут после стрессового воздействия наблюдали сильное увеличение накопления маннита (до 2-х раз) во всех вариантах опыта, при более поздних возрастах культуры различия с контрольным вариантом опыта уменьшались.

Еще одним мультифункциональным веществом, накапливающимся в высоких концентрациях у различных живых организмов, в том числе грибов, в ответ на стрессорные воздействия, является аминокислота пролин [30]. Он оказывает влияние на множество происходящих в клетках процессов, включая дифференциацию, рост и апоптоз, и принимает участие в защите от воздействия высоких и низких температур, ультрафиолетового излучения, тяжелых металлов, патогенов, обезвоживания, солевого стресса [31, 32]. Роль пролина в стрессовых реакциях и процессах защиты организма от неблагоприятных факторов наиболее полно изучена у растений, тогда как грибы в этом отношении остаются малоисследованными.

В нашем эксперименте содержание пролина в мицелии базидиомицетов *L. edodes* и *G. frondosa* при росте на обедненных средах увеличивалось незначительно (рис. 4), однако температурный шок вызывал у обеих культур резкий скачок содержания этой

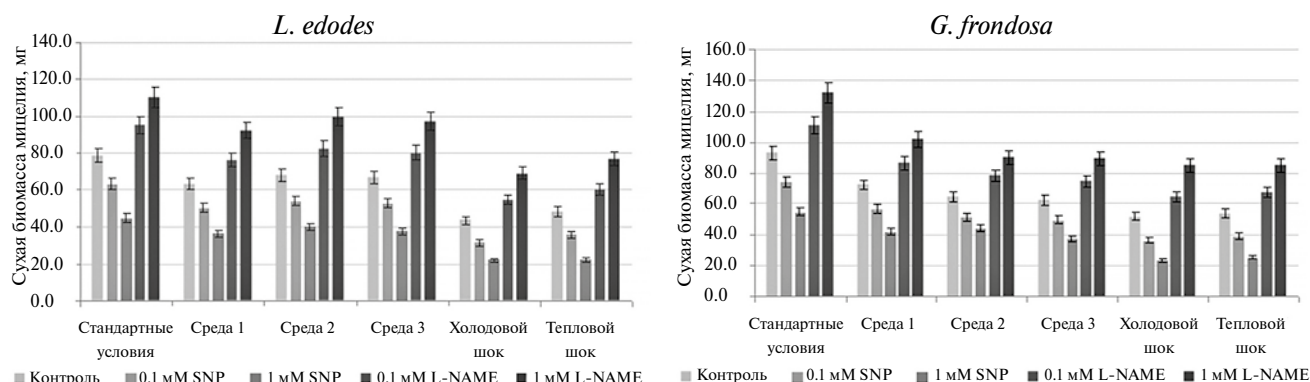


Рис. 3. Накопление биомассы глубинных культур базидиомицетов (14 сут) в условиях абиотических стрессов под влиянием *SNP* и *L-NAME*.

аминокислоты (в 1.5–5.0 раз в зависимости от времени культивирования).

При этом холодовой стресс вызывал более интенсивную выработку пролина, чем тепловой, особенно у *L. edodes*.

На следующем этапе наших исследований было изучено влияние донора и ингибитора синтеза NO на рост глубинного мицелия базидиомицетов *L. edodes* и *G. frondosa* и продукцию стрессовых соединений этими грибами в условиях температурного стресса,

а также недостатка углерода и/или азота в среде культивирования. В качестве донора NO в своем исследовании использовали нитропруссид натрия (*SNP*), ингибитора — гидрохлорид метилового эфира нитроаргина (*L-NAME*).

Известно, что соединения, регулирующие уровень NO, оказывают влияние также и на ростовые процессы грибов. При этом доноры NO угнетают рост грибных культур, тогда как ингибиторы синтеза NO, напротив, стимулируют рост мицелия. Например,

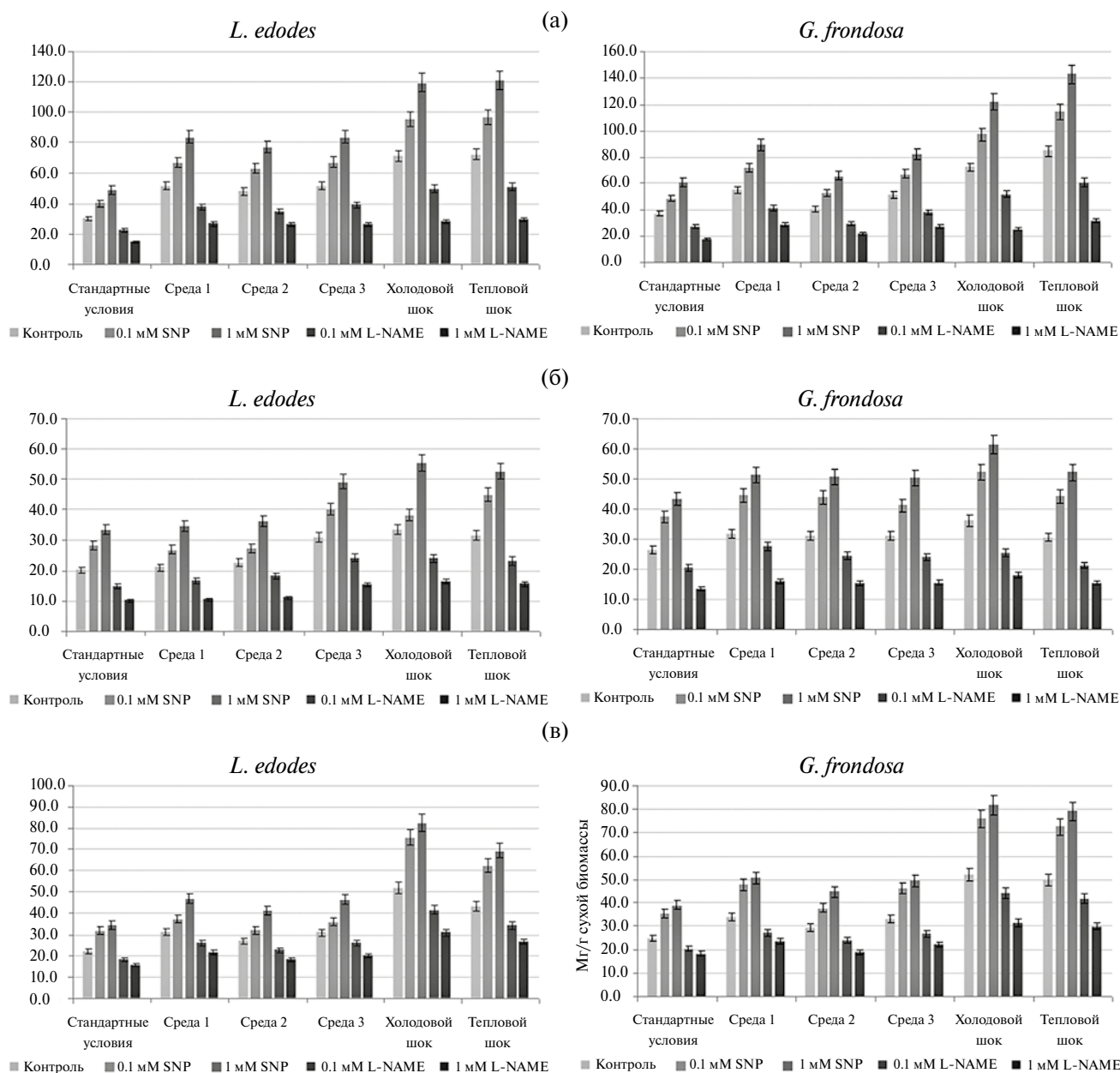


Рис. 4. Изменение содержания стрессовых метаболитов в мицелии базидиомицетов под влиянием донора и ингибитора NO: (а) — трегалоза, (б) — маннит, (в) — пролин.

у ксилотрофного базидиомицета *Ganoderma lucidum* при добавлении донора NO *SNP* биомасса снижалась почти в 1.5 раза [18]. У аскомицета *Colletotrichum coccodes* NO был обнаружен в прорастающих конидиях на всех стадиях развития [17], при этом экзогенное внесение NO замедляло, а обработка ингибиторами синтеза NO — ускоряла прорастание конидий. Для базидиомицета *Flammulina velutipes* было показано участие NO в образовании плодовых тел: *SNP* ускорял, а ингибиторы синтеза NO замедляли плодотворение [16].

Изучили влияние *SNP* и *L-NAME* в концентрации 0.1 и 1 мМ на накопление глубинной биомассы мицелия *L. edodes* и *G. frondosa* в контрольных и стрессовых условиях. Оба соединения оказывали заметное влияние на скорость роста грибного мицелия как в контрольном варианте опыта, так и при выращивании в условиях абиотических стрессов. При всех изученных условиях, как стрессовых, так и контрольных, *L-NAME* стимулировал, а *SNP* подавлял рост, причем влияние этих соединений на рост грибов было прямо пропорционально их концентрации. По сравнению с контролем без добавления донора и ингибитора NO, *L-NAME* в концентрации 0.1 мМ стимулировал накопление биомассы у обоих видов грибов на 20–25%, а в концентрации 1 мМ — на 40–65%. В то же время 0.1 мМ *SNP* ингибировали рост глубинного мицелия на 20–30%, 1 мМ *SNP* — на 40–55%. При этом сильнее всего влияние донора и ингибитора NO на рост проявилось при температурном стрессе, в контроле и при культивировании на обедненных средах — в меньшей степени.

Проанализировали содержание стрессовых соединений — трегалозы, маннита и пролина — в образцах мицелия и фильтратов культуральных жидкостей *L. edodes* и *G. frondosa*, выращенных в течение 7-ми сут в присутствии 0.1 и 1 мМ *SNP* и *L-NAME* в условиях высоко- и низкотемпературного шока или недостатка питательных веществ в среде. В изученных образцах культуральных жидкостей базидиомицетов исследованные соединения содержались в незначительных количествах. В то же время в составе грибного мицелия наблюдали заметные изменения содержания трегалозы, маннита и пролина. При этом отсутствовали выраженные различия между 2-мя исследованными видами базидиальных грибов.

Добавление *SNP* и *L-NAME* в среду культивирования изученных культур *L. edodes* и *G. frondosa* вызывало изменение уровня трегалозы в мицелиальной биомассе грибов. При этом содержание трегалозы в мицелии *L. edodes* и *G. frondosa* под влиянием *SNP* и *L-NAME* изменялось противоположным по сравнению с биомассой образом: повышалось на средах с *SNP* и снижалось на средах с *L-NAME*, что соответствовало данным литературы. При внесении в среду 0.1 мМ *SNP* содержание трегалозы

повышалось на 30–35%, 1 мМ *SNP* — на 60–70% по сравнению с контролем. 0.1 мМ *L-NAME* ингибировал аккумуляцию трегалозы на 25–30%, 1 мМ *L-NAME* — на 45–65%. При этом влияние донора и ингибитора NO на уровень трегалозы в мицелии оказалось наиболее выраженным в условиях холодового и теплового шока, а на обедненных средах проявлялось в меньшей степени.

Как и в случае с трегалозой, *SNP* и *L-NAME* влияли на содержание маннита в мицелии *L. edodes* и *G. frondosa*. *SNP*, подавлявший рост культур, стимулировал выработку маннита, а *L-NAME*, усиливавший рост, понижал накопление данного полиола у обеих культур. На средах с 0.1 мМ *SNP* содержание маннита увеличивалось на 20–50%, с 1 мМ *SNP* — на 60–70% по сравнению с контролем без *SNP*. Под влиянием 0.1 мМ *L-NAME* содержание маннита в мицелии *L. edodes* и *G. frondosa* понижалось на 15–30%, 1 мМ *L-NAME* — на ≈50%. Наиболее выраженным воздействием регуляторов уровня NO на уровень маннита оказалось при холодовом стрессе.

Воздействие *SNP* и *L-NAME* на уровень пролина в мицелии *L. edodes* и *G. frondosa* было сходным с трегалозой и маннитом. На средах с 0.1 мМ *SNP* концентрация пролина в мицелии возрастала на 15–50%, с 1 мМ *SNP* — на 60–70% по сравнению с контролем. Внесение в среду культивирования 0.1 и 1 мМ *L-NAME* вызывало снижение уровня пролина на 15–20 и 30–40% соответственно. Из всех изученных абиотических соединений наиболее сильное повышение содержания пролина (в 2 раза) по сравнению с культурами, не подвергнутыми стрессу, вызывали холодовой и тепловой шок. Добавление в среду культивирования *SNP* усиливало синтез пролина еще сильнее — до 4 раз по сравнению с культурами, росшими при стандартной температуре на контрольной среде без добавления донора и ингибитора NO.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, под влиянием холодового и теплового шока и при культивировании в условиях голодания по углероду и/или азоту наблюдали повышение содержания протекторных соединений трегалозы, маннита и пролина в мицелии, что указывало на активацию связанных с этими соединениями защитных механизмов. Донор и ингибитор синтеза NO оказывали на рост мицелия выраженное влияние, прямо пропорциональное концентрации этих веществ. При всех изученных стрессовых условиях *L-NAME* стимулировал, а *SNP* подавлял рост грибного мицелия. Добавление *SNP* и *L-NAME* в среду культивирования *L. edodes* и *G. frondosa* также вызывало изменение уровня трегалозы, маннита и пролина в мицелии. Содержание веществ-протекторов изменялось противоположным по сравнению

с биомассой образом: повышалось на средах с *SNP* и снижалось на средах с *L-NAME*. Сильнее всего влияние на рост базидиомицетов и накопление в их мицелии трегалозы, маннита и пролина проявилось при воздействии высоко- и низкотемпературного стресса.

Изучение стрессовых метаболитов при адаптации ксилотрофных базидиомицетов к различным внешним факторам позволит расширить сведения об особенностях метаболизма, процессах роста и развития этих грибов, механизмах защиты от неблагоприятных условий окружающей среды, а также имеет практическое значение для оптимизации промышленного культивирования съедобных и лекарственных грибов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Rinker D.L. Spent mushroom substrate uses // Edible and medicinal mushrooms: technology and applications / Eds. Zied D.C., Pardo-Giménez A. John Wiley & Sons, 2017. P. 427–454.
2. Iordachescu M., Imai R. Trehalose and abiotic stress in biological systems // Abiotic stress in plants – mechanisms and adaptations / Shanker A. Rijeka, Croatia: InTechPublisher, 2011. P. 215–234.
3. Феофилова Е.П. Биохимическая адаптация грибов к температурному стрессу // Микробиология. 1994. Т. 63. № 5. С. 757–776.
4. Ocón A., Hampp R., Requena N. Trehalose turnover during abiotic stress in arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. 2007. V. 174. P. 879–891.
5. Феофилова Е.П., Усов А.И., Мысякина И.С., Кочкина Г.А. Трегалоза: особенности химического строения, биологические функции и практическое значение // Микробиология. 2014. Т. 83. № 3. С. 271–271.
6. Solomon P.S., Waters O.D.C., Oliver R.P. Decoding the mannitol enigma in filamentous fungi // Trends Microbiol. 2007. V. 15. № 6. P. 257–262.
7. Patel T.K., Williamson J.D. Mannitol in plants, fungi, and plant–fungal interactions // Trends Plant Sci. 2016. V. 21. № 6. P. 486–497.
8. Kaya C., Ashraf M., Alyemeni M.N., Corpas F.J., Ahmad P. Salicylic acid-induced nitric oxide enhances arsenic toxicity tolerance in maize plants by upregulating the ascorbate–glutathione cycle and glyoxalase system // J. Hazard. Mater. 2020. V. 399. № 15. P. 123020.
9. Ahanger M.A., Aziz U., Alsahli A.A., Alyemeni M.N., Ahmad P. Influence of exogenous salicylic acid and nitric oxide on growth, photosynthesis, and ascorbate–glutathione cycle in salt stressed *Vigna angularis* // Biomolecules. 2020. V. 10. № 1. P. 42.
10. Глянко А.К., Васильева Г.Г. Активные формы кислорода и азота при бобово-ризобийном симбиозе (обзор) // Прикл. биохим. и микробиол. 2010. Т. 46. № 1. С. 21–28.
11. Bhat J.A., Ahmad P., Corpas F.J. Main nitric oxide (NO) hallmarks to relieve arsenic stress in higher plants // J. Hazard. Mater. 2021. V. 406. № 15. P. 124289.
12. Cánovas D., Marcos J.F., Marcos A.T., Strauss J. Nitric oxide in fungi: is there NO light at the end of the tunnel? // Curr. Genet. 2016. V. 62. P. 513–518.
13. Zhao Y., Lim J., Xu J., Yu J.H., Zheng W. Nitric oxide as a developmental and metabolic signal in filamentous fungi // Mol. Microbiol. 2020. V. 113. № 5. P. 872–882.
13. Kong W.-W., Huang C.-Y., Chen Q., Zou Y.-J., Zhang J.-X. Nitric oxide alleviates heat stress-induced oxidative damage in *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis* // Fungal Genet. Biol. 2012a. V. 49. № 1. P. 15–20.
14. Kong W.-W., Huang C.-Y., Chen Q., Zou Y.-J., Zhao M.-R., Zhang J.-X. Nitric oxide is involved in the regulation of trehalose accumulation under heat stress in *Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis* // Biotechnol. Lett. 2012b. V. 34. P. 1915–1919.
15. Song N.-K., Jeong C.-S., Choi H.-S. Identification of nitric oxide synthase in *Flammulina velutipes* // Mycologia. 2000. V. 92. № 6. P. 1027–1032.
16. Wang J., Higgins V.J. Nitric oxide has a regulatory effect in the germination of conidia of *Colletotrichum coccodes* // Fungal Genet. Biol. 2005. V. 42. P. 284–292.
17. Gu L., Zhong X., Lian D., Zheng Y., Wang H., Liu X. Triterpenoid biosynthesis and the transcriptional response elicited by nitric oxide in submerged fermenting *Ganoderma lucidum* // Process Biochem. 2017. V. 60. P. 19–26.
18. Kienle I., Burgert M., Holzer H. Assay of trehalose with acid trehalase purified from *Saccharomyces cerevisiae* // Yeast. 1993. V. 9. № 6. P. 607–611.
19. Ковардаков С.А., Измestьева М.А., Шмелева В.Л. Содержание маннита, хлорофилла *a* и сухого вещества в тканях *Lainaria saccharina* (L.) при выращивании на разной глубине // Экол. моря. 2000. Т. 50. С. 32–36.
20. Шихалеева Г.Н., Будняк А.К., Шихалеев И.И., Иващенко О.Л. Модифицированная методика определения пролина в растительных объектах // Вісник Харків. нац. універ-ту ім. В.Н. Каразіна. Сер. біол. 2014. Т. 21. № 1112. С. 168–172.
21. Сергеева Я.Э., Галанина Л.А., Феофилова Е.П. О новой функции трегалозы и об особенностях липидообразования у мицелиальных грибов // Микробиология. 2010. Т. 79. № 4. С. 470–474.
22. Rubio-Texeira M., Van Zeebroeck G., Thevelein J.M. Trehalose metabolism: Enzymatic pathways and physiological functions // The Mycota (A Comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research). V. III. Biochemistry and Molecular Biology. Cham: Springer, 2016. P. 191–277.

23. Hottiger T., De Virgilio C., Hall M.N., Boller T., Wiemken A. The role of trehalose synthesis for the acquisition of thermotolerance in yeast. II. Physiological concentrations of trehalose increase the thermal stability of proteins *in vitro* // Eur. J. Biochem. 1994. V. 219. P. 187–193.
24. Tereshina V.M. Thermotolerance in fungi: the role of heat shock proteins and trehalose // Microbiology. 2005. 74. № 3. P. 247–257.
25. Zhao X., Song X., Li Y., Yu C., Zhao Y., Gong M., Shen X., Chen M. Gene expression related to trehalose metabolism and its effect on *Volvariella volvacea* under low temperature stress // Sci. Rep. 2018. V. 8. P. 1–14.
26. Ianutsevich E.A., Danilova O.A., Groza N.V., Kotlova E.R., Tereshina V.M. Heat shock response of thermophilic fungi: membrane lipids and soluble carbohydrates under elevated temperatures // Microbiology. 2016. V. 162. № 6. P. 989–999.
27. Iwamoto K., Shiraiwa Y. Salt-regulated mannitol metabolism in algae // Mar. Biotechnol. 2005. V. 7. № 5. P. 407–415.
28. Calmes B., Guillemette T., Teyssier L., Siegler B., Pigné S., Landreau A., Iacomini B., Lemoine R., Richomme P., Simoneau P. Role of mannitol metabolism in the pathogenicity of the necrotrophic fungus *Alternaria brassicicola* // Front. Plant Sci. 2013. V. 4. P. 1–18.
29. Kishor P.B.K., Sreenivasulu N. Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue? // Plant Cell Environ. 2014. V. 37. P. 300–311.
30. Liang X., Zhang L., Natarajan S.K., Becker D.F. Proline mechanisms of stress survival // Antioxid. Redox Signal. 2013. V. 19. № 9. P. 998–1011.
31. Chen C., Dickman M.B. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii* // Proceed. Nat. Acad. Sci. 2005. V. 102. № 9. P. 3459–3464.
32. Guo S., Yao Y., Zuo L., Shi W., Gao N., Xu H. Enhancement of tolerance of *Ganoderma lucidum* to cadmium by nitric oxide // J. Basic Microbiol. 2016. V. 6. № 1. P. 36–43.
33. Yu Y., Yang Z., Guo K., Li Z., Zhou H., Wei Y., Li J., Zhang X., Harvey P., Yang H. Oxidative damage induced by heat stress could be relieved by nitric oxide in *Trichoderma harzianum* LTR-2 // Curr. Microbiol. 2015. V. 70. № 4. P. 618–22.
34. Asgher M., Per T.S., Masood A., Fatma M., Freschi L., Corpas F.J., Khan N.A. Nitric oxide signaling and its crosstalk with other plant growth regulators in plant responses to abiotic stress // Environ. Sci. Pollut. Res. 2017. V. 24. № 3. P. 2273–2285.

Effect of the Nitrogen Monoxide Synthesis Donor and Inhibitor on the Stress Metabolites Level of Basidiomycetes under Abiotic Stress Conditions

E. A. Loshchinina^{a, #}, M. A. Kupryashina^a

^aRussian Academy of Sciences' Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, prosp. Entuziastov 13, Saratov 410049, Russia

[#]E-mail: loshchinina@yandex.ru

Nitrogen monoxide in fungi participates in the processes of reproduction, pathogenesis and adaptation to environmental conditions. Substances that affect the NO content in fungal cultures have an effect on growth processes and the synthesis of other metabolites. The effect of a donor and an inhibitor of NO synthesis on the production of stress metabolites of basidiomycetes *Lentinus edodes* and *Grifola frondosa* under abiotic stress conditions (high- and low-temperature shock, lack of carbon and/or nitrogen in the nutrient medium) was studied. Under all the conditions studied, the introduction of *L*-NAME (NO synthesis inhibitor) into the medium stimulated, and *SNP* (NO donor) suppressed the growth of fungal mycelium. At the same time, the content of the protective stress metabolites trehalose, mannitol and proline in both basidiomycetes increased to 70% in media with *SNP* and decreased to 65% in media with *L*-NAME. The most pronounced effect of *SNP* and *L*-NAME on the growth of fungal cultures and their accumulation of protective compounds turned out to be under the influence of temperature stress.

Keywords: abiotic stress, *Lentinus edodes*, *Grifola frondosa*, nitrogen monoxide, donors and inhibitors of NO synthesis, stress metabolites.