



УДК 577.151

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА СПЕЦИФИЧЕСКОГО ФАКТОРА ТРАНСКРИПЦИИ *EXP1* В ПРОЦЕССЕ МОРФОГЕНЕЗА КСИЛОТРОФНОГО БАЗИДИОМИЦЕТА *LENTINUS EDODES*

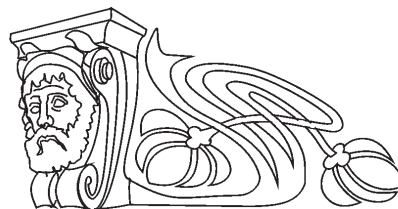
Е. П. Ветчинкина¹, М. А. Купряшина¹, С. В. Петров²,
В. Ю. Горшков³, Ю. В. Гоголев³, В. Е. Никитина¹

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

²Саратовский государственный университет

³Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН

E-mail: elenavetrus@yandex.ru



Установлено, что при культивировании ксилотрофного базидиомицета *Lentinus edodes* (шиитакэ) на древесном субстрате, при переходе от вегетативной стадии развития к генеративной, активируется экспрессия гена *exp1*, кодирующего специфический фактор транскрипции. Особенно это характерно для стадии, предшествующей плодоношению, связанной с появлением коричневой мицелиальной пленки. Показано, что при образовании данной морфоструктуры транскрипционная активность гена *exp1* повышается в 10 раз, при этом в примордиях и плодовых телах отмечен спад активности данного гена. При культивировании на искусственных питательных средах активность гена *exp1* на всех стадиях развития подавлена, в то время как при выращивании в естественных условиях на древесном субстрате уровень активности специфического фактора транскрипции выше в 15–150 раз, в зависимости от стадии морфогенеза. По мере созревания базидиомицета активность *exp1* возрастала и в старых плодовых телах транскрипционная активность гена была в 4–5 раз выше, чем в примордиях. По всей вероятности, специфический фактор транскрипции *exp1* у шиитакэ может быть вовлечен в процесс старения. Таким образом, активация гена *exp1* может служить маркером готовности ксилотрофных грибов к плодоношению, а также показателем степени адекватности условий культивирования.

Ключевые слова: морфогенез базидиомицетов, *Lentinus edodes*, экспрессия генов, специфический фактор транскрипции.

Gene Expression of Specific Factors Transcription *Exp1* during Morphogenesis Xylotrophic Basidiomycete *Lentinus Edodes*

Е. П. Vetchinkina, М. А. Kupryashina, S. V. Petrov,
V. Yu. Gorshkov, Yu. V. Gogolev, V. E. Nikitina

It was established that gene expression *exp1*, encoding a specific transcription factor was activated during transition the vegetative to the generative stage of development in cultivating xylotrophic basidiomycete *Lentinus edodes* (shiitake) on wood substrate. Especially this is characteristic from stage previous of fruiting and connected with the formation of brown mycelial mat. A study showed that *exp1* gene transcriptional activity increased 10-fold during formation of the morphological structure, while drop in activity of the gene was marked for primordial and fruiting bodies. In cultivation on artificial nutrient media *exp1* gene activity in all stages of development was suppressed, whereas when grown in vivo on the wood substrate level of activity above that a specific transcription factor 15–150-fold, depending of the stage

of morphogenesis. *Exp1* increased activity as maturation basidium. In old fruit bodies of transcriptional activity of the gene was 4–5 of times larger than that of the primordial. In all likelihood, a specific transcription factor *exp1* from shiitake may be involved in the aging process. Thus, the activation of the gene may serve as marker *exp1* readiness xylotrophic fungi to fruit, as well as an indicator of the adequacy of the culture conditions.

Key words: morphogenesis of basidiomycetes, *Lentinus edodes*, gene expression, specific transcription factor.

DOI: 10.18500/1816-9775-2015-15-4-67-74

Базидиомицет *Lentinus edodes* (шиитакэ) обладает большой пищевой ценностью и высокими вкусовыми качествами плодовых тел, а также содержит уникальный комплекс биологически активных и лекарственных веществ [1, 2]. Шиитакэ относится к ксилотрофам – деструкторам древесины, благодаря чему для культивирования этих грибов в качестве пищевых субстратов можно использовать отходы лесной и деревообрабатывающей промышленности [3].

Несмотря на очевидную актуальность и практическую значимость, вопрос о возможной оптимизации искусственного выращивания ценных съедобных и лекарственных базидиомицетов до настоящего времени окончательно не решен. Одна из главных причин заключается в особенностях жизненного цикла макромицетов и недостаточной изученности вопросов, касающихся молекулярно-физиологических аспектов морфогенеза.

Для расширения представлений о регуляции механизмов морфогенеза базидиомицетов и факторах, определяющих формирование плодовых тел, представляется важным выявление и анализ экспрессии генов, характеризующих морфологические структуры и принимающие участие в развитии *L. edodes*.

Гены, которые детерминируют процессы роста и дифференцировки, часто называют генами-регуляторами (переключателями) развития.



Они кодируют особые белки или белковые комплексы – транскрипционные факторы, контролирующие программы формирования органов и тканей. Специфические факторы транскрипции являются частью системы, координирующей передачу генетической информации в клетке, причем они могут способствовать как активации транскрипции, так и ее репрессии, то есть обеспечивать включение или выключение определенных генов в нужный момент развития организма [4].

Именно транскрипционные факторы отвечают за селективность и специфичность генной регуляции в различных клетках и тканях. В процессе клеточной дифференцировки появление нового транскрипционного фактора служит сигналом для активации (или подавления) транскрипции генов на определенной стадии морфогенеза и появления необходимых генных продуктов [5].

Так, например, у растений факторы транскрипции участвуют в регуляции морфогенеза, развитии, формировании и прорастании семян, росте проростков, формировании различных органов (побегов, цветков и т.п.) [6–8]. Факторы транскрипции задействованы в регуляции клеточного цикла, они определяют, до какого размера должна вырасти клетка, когда именно она должна вступить в процесс деления и когда завершить такой процесс, а также они необходимы в регуляции развития многоклеточных организмов – онтогенезе [9, 10]. В ответ на полученный сигнал такие факторы транскрипции включают или выключают транскрипцию генов, что приводит к изменению морфологии клетки, определяет ее дифференциацию, играет определенную роль в росте клетки и апоптозе [11–13].

Можно предположить, что особенности экспрессии генов, участвующих в процессе цитодифференцировки грибного мицелия, могут являться маркерами той или иной стадии морфогенеза.

Исследования, посвященные изучению генов-переключателей развития и белков в связи с регуляцией роста и морфообразования базидиомицетов, крайне немногочисленны. Поэтому исследование специфических факторов транскрипции, выявление специфических генов и белков-маркеров морфогенетических процессов представляются перспективными для развития фундаментальной науки и имеют прикладное значение.

В процессе развития *L. edodes* образует хорошо дифференцируемые морфоструктуры: вегетативный непигментированный мицелий, коричневую мицелиальную пленку, примордии и плодовые тела [14]. Результаты наших предыдущих исследований показали существенные

изменения внутриклеточного полипептидного состава в зависимости от стадии морфогенеза [15]. Наиболее выраженные различия были в тканях мицелиальной пленки, структуры, предварительное образование которой необходимо для формирования полноценных плодовых тел шиитаке.

Целью данного исследования послужило изучение динамики активности гена специфического фактора транскрипции *exp1* в процессе цитодифференцировки и плодообразования *Lentinus edodes*.

Материалы и методы исследования

Организмы и условия культивирования.

В работе использовали 3 штамма ксилотрофного базидиомицета *Lentinus edodes* (Berk.) Sing [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] (шиитаке): штаммы F-249 и 2-Г из коллекции высших базидиальных грибов кафедры микологии и альгологии МГУ им. М. В. Ломоносова, а также штамм 363, полученный из коллекции шляпочных грибов Института ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины. В качестве инокулята брали 14-суточную культуру, выращенную в пробирках на скошенном агар-агаре и пивном сусле (4° по Баллингу) при 26 °С.

Базидиомицеты культивировали на чашках Петри с аналогичной средой при 26 °С, а также интенсивным способом, наиболее приближенным к естественному, на древесном субстрате в лабораторных условиях [14]. В качестве исследуемого материала изучали непигментированный мицелий, коричневую мицелиальную пленку, примордии и плодовые тела *L. edodes*.

Выделение РНК *L. edodes*. Ткани вышеперечисленных морфоструктур трех штаммов *L. edodes* отделяли, мгновенно замораживали и гомогенизировали, растирая в фарфоровой ступке в жидком азоте. Выделение тотальной РНК из грибных клеток проводили при помощи коммерческого набора «RNeasy Plant Mini Kit» («Qiagen», Германия) согласно протоколу производителя. Концентрацию РНК определяли спектрофотометрически на приборе NanoDrop ND-1000 («NanoDrop Technologies», США). Качество выделенной РНК оценивали по спектрам электрофоретического разделения в 1 %-ном агарозном геле после окрашивания бромистым этидием [16].

Количественная полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (кОТ-ПЦР). Для получения кДНК использовали 1,5 мкг тотальной РНК, предварительно обработанной ДНКазой (0,1 ед./мкл; «Fermentas»,



Литва) при 37 °С в течение 30 минут. Реакцию обратной транскрипции проводили в реакционной смеси объемом 25 мкл, содержащей 100 мкМ праймеров олиго-dT₁₈, 300 мкМ дезоксирибонуклеотидфосфатов, 100 ед. ревертазы M-MuLV («Fermentas») с соответствующим буфером. На первой стадии раствор РНК в присутствии олигонуклеотидных затравок (олиго-dT₁₈) прогревали при 70 °С в течение 5 мин, а затем помещали на лед. На второй стадии добавляли остальные компоненты и инкубировали при 37 °С в амплификаторе DNA Engine thermocycler («Bio-Rad», США) в течение часа. Реакцию терминировали прогреванием смеси до 70 °С в течение 10 мин; 2 мкл полученной кДНК использовали для проведения ПЦР.

Для амплификации участков ДНК (кДНК) *L. edodes* нами были сконструированы праймеры,

комплементарные фрагментам генов *exp1* и *gpd*, кодирующих специфичный фактор транскрипции и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу. Последний ген был использован в качестве референсного.

Конструирование праймеров и олигонуклеотидных флуоресцентных зондов TaqMan проводили при помощи пакета программ Vector NTI версия 9 на основе нуклетидных последовательностей *L. edodes*. Поскольку информация о последовательности генома шиитакэ в базах данных крайне ограничена, в ряде случаев ее недостаток удавалось восполнить построением консенсусных последовательностей кодирующих областей генов с использованием базы данных по другим видам базидиомицетов [17]. Праймеры и зонды синтезировали в НПО «Синтол», (Москва) (таблица).

Список праймеров и флуоресцентных зондов TaqMan

Праймеры и зонды	Последовательность 5'-3'
gpd F	gACgCACTgACAATCTgACTg
gpd R	gATgCgAgAgTTCAggTTTTAC
gpd Z	(FAM-C)CCTgTCCgAg(T-BHQ-1)CCTTCCgTgATAC
exp1F	gACTTCCATTTCTCCCgCTg
exp1R	gAgATggCTATgAgATggCg
exp1Z	(FAM-C)ACTCCTgC(T BHQ-1)TCATCTCgCCCgTCTg

ПЦР проводили в реакционной смеси объемом 10 мкл, содержащей буфер (67 мМ Трис-НСl (рН 8,8), 17 мМ (NH₄)₂SO₄, 2,5 мМ MgCl₂ и 0,1 % Tween 20), 100 мкМ каждого из дезоксирибонуклеозидтрифосфатов, 2 мкл кДНК, 0,1 мкМ каждого праймера и зонда TaqMan и 0,04 ед. Taq полимеразы («Fermentas»).

Температурно-временной режим реакции (10 с при 94 °С и 1 мин при 60 °С) и изменение флуоресценции контролировали с помощью термоциклера с оптическим модулем CFX96 («Bio-Rad»). Продолжительность реакций составляла 40 циклов. Содержание кДНК, соответствующей транскриптам каждого из исследованных генов, оценивали относительно калибровочных кривых, построенных по результатам реакций с четырьмя десятикратными разведениями кДНК. Оценку эффективности реакций и построение калибровочных кривых осуществляли с помощью программного обеспечения CFX Manager Software («Bio-Rad»). Отсутствие значимых количеств геномной ДНК подтверждали, проводя ПЦР с образцами, в которых при пробоподготовке был исключен

этап обратной транскрипции. Относительный уровень экспрессии определяли сопоставлением количества кДНК, соответствующей целевому гену *exp1* и референсному гену *gpd*.

Статистическая обработка результатов.

Эксперименты были проведены в 3 повторностях в 3 независимых экспериментах. Статистический анализ данных проводили с применением стандартных математических методов (расчет среднеквадратического отклонения, сравнение средних по критерию Стьюдента) средствами программ Microsoft Excel-2000.

Результаты и их обсуждение

Особенности экспрессии гена специфического фактора транскрипции (*exp1*) в процессе морфогенеза у штаммов *L. edodes* при культивировании на агаризованной среде. При культивировании базидиомицета *L. edodes* на искусственной агаризованной среде транскрипты гена *exp1* удавалось детектировать на разных стадиях морфогенеза в клетках непигментированного мицелия, коричневой мицелиальной пленки и в примордиях, однако уровень



экспрессии исследуемого гена специфического фактора транскрипции был незначителен (рис. 1). После четырех недель культивирова-

ния активность гена увеличивалась в два раза, однако на момент образования мицелиальной пленки опускалась до первоначального уровня.

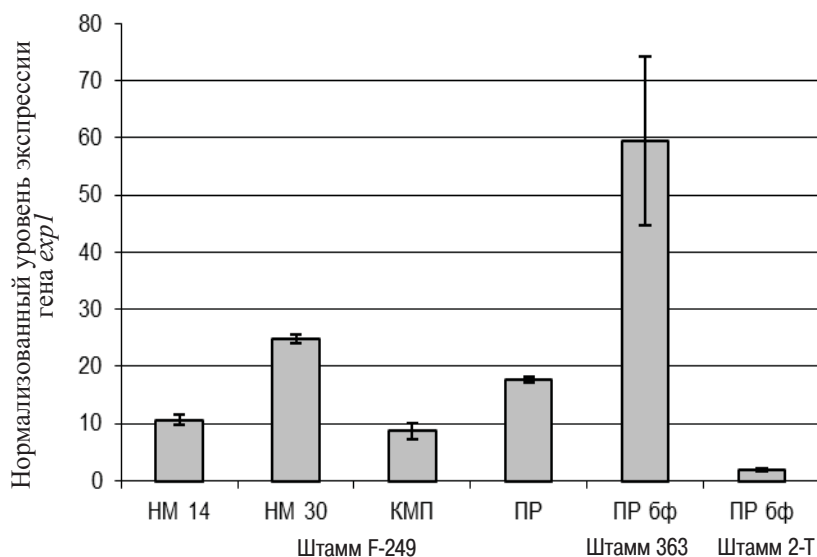


Рис. 1. Уровень экспрессии гена специфического фактора транскрипции (*exp1*) у базидиомицета *L. edodes* на разных стадиях морфогенеза при культивировании на среде с сусло-агаром. Данные нормализованы по транскрипционной активности гена глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (*gpd*): HM – непигментированный мицелий (14, 30 суток культивирования); КМП – коричневая мицелиальная пленка; ПР – примордии; ПРбф – бесформенные примордии

У штамма F-249 при культивировании на чашках Петри с сусло-агаровой средой развивались нормальные примордии, но уровень экспрессии исследуемого гена был также на очень низком уровне и дальнейшего развития не происходило. При данных условиях эксперимента нам не удалось получить плодовых тел шиитаке. У штаммов 2-T и 363 формирования нормальных примордий не наблюдалось, на данном субстрате происходило образование бесформенных «неплотных» примордий, либо кораллоподобной, либо шарообразной формы. Активность гена специфического фактора транскрипции у штамма 2-T была минимальной; у штамма 363 уровень экспрессии *exp1* был достаточно высоким, по сравнению с другими штаммами. Ни в одном из исследованных вариантов, при культивировании данных штаммов *L. edodes* на искусственной агаризованной среде, перехода к плодоношению не происходило.

По всей вероятности, при определенных условиях культивирования грибов, в том числе при отсутствии древесины, основного источника фенольных субстратов для нормального питания и морфогенеза ксилотрофных базидиомицетов, могут наблюдаться отклонения в морфологиче-

ском развитии, регулируемом специфическими факторами транскрипции. Например, у *Saccharomyces cerevisiae* при культивировании на среде с достаточным количеством моно- и дисахаридов репрессированы все гены, ответственные за метаболизм альтернативных источников углеводов. При отсутствии легкодоступных питательных веществ факторы транскрипции включают данные гены [18]. Кроме того, у дрожжей при изменении условий выращивания может наблюдаться регулируемое факторами транскрипции морфологическое развитие в волокнистую структуру [19].

Стоит отметить, что специфические транскрипционные факторы выполняют свою функцию либо самостоятельно, либо в комплексе с другими белками, «сообщая» РНК-полимеразе, какой именно ген необходимо активировать. Они находятся только в тех клетках, в которых они необходимы для активации (или репрессии) определенных генов. Любое изменение условий окружающей среды улавливают рецепторные системы клетки, специфический сигнал проходит к факторам транскрипции, следствием чего является активация или репрессия генов, продукты которых задействованы в адаптации к изменившимся условиям [20]. Вероятно, при



данных условиях культивирования (отсутствие древесного субстрата) происходит сбой в программе нормального плодоношения, что может являться одной из причин, по которой получить базидиомы шиитаке на искусственных средах не удается. В связи с этим ген *exp1* может служить маркером степени адекватности условий для культивирования данного гриба и прогнозировать развитие плодовых тел.

Экспрессия гена специфического фактора транскрипции (*exp1*) у штаммов *L. edodes* в процессе морфогенеза при культивировании на древесном субстрате. При выращивании ксилотрофного базидиомицета *L. edodes* на древесном субстрате, в условиях, наиболее приближенных к естественному культивированию, уровень экспрессии специфического фактора транскрипции существенно зависел от стадии развития. Максимальная транскрипционная активность гена *exp1* у шиитаке была отмечена в коричневой мицелиальной пленке – стадии, предшествующей образованию примордиев и

плодовых тел. Данная морфоструктура представляет собой сплетение толстостенных сильно меланизированных гиф, образовывается поверх вегетативного мицелия и выполняет защитную функцию, особенно в начале формирования базидиом. Нами было отмечено, что полноценные плодовые тела шиитаке образует только после формирования коричневой мицелиальной пленки. Структура эта характерна практически для всех штаммов *L. edodes*. Некоторые штаммы шиитаке, не образующие мицелиальную пленку, также не были способны и к плодоношению [14]. Нам известно только одно исключение – штамм 363, который без формирования данной структуры на непигментированном мицелии может образовывать нормальные примордии и плодовые тела. Интересно, что у данного штамма в транскрипционной активности гена *exp1* не наблюдалось заметных изменений и скачков на протяжении всего цикла развития базидиомицета, в отличие от двух других изучаемых штаммов *L. edodes* F-249 и 2-T (рис. 2).

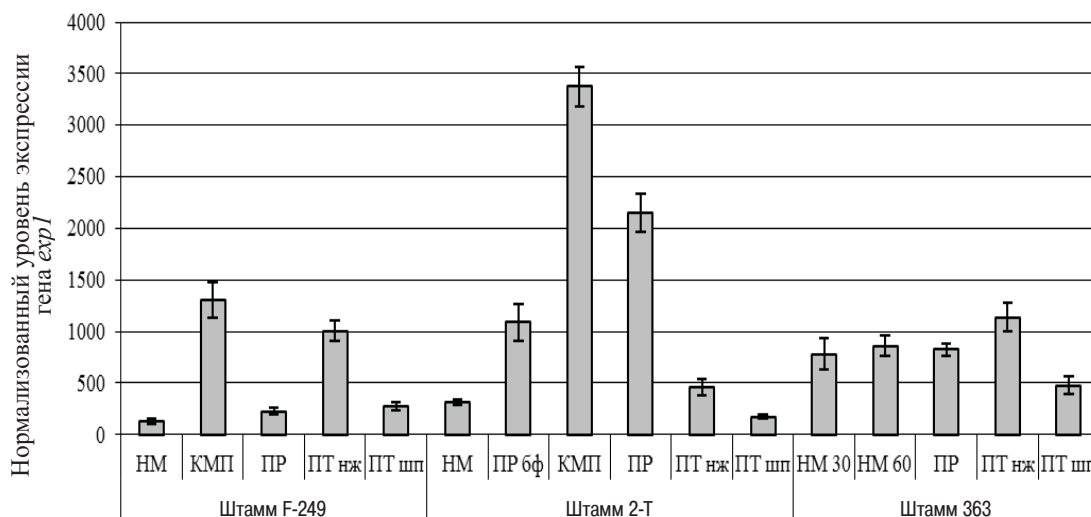


Рис. 2. Уровень экспрессии гена специфического фактора транскрипции (*exp1*) у штаммов F-249, 2-T и 363 базидиомицета *L. edodes* на разных стадиях морфогенеза при культивировании на древесном субстрате. Данные нормализованы по транскрипционной активности гена глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (*gpd*): НМ – непигментированный мицелий (30, 60 суток культивирования); КМП – коричневая мицелиальная пленка; ПР – примордии; ПРбф – бесформенные примордии; ПТнж – плодовое тело (ножка); ПТшп – плодовое тело (шляпка)

На начальных этапах развития, когда вегетативные гифы активно растут, делятся и осваивают субстрат, наблюдается довольно высокая, по сравнению с предыдущим экспериментом (культивированием на суло-агаре), экспрессия гена *exp1* (рис. 3). Однако при формировании коричневой мицелиальной пленки, когда начинается подготовка к процессу плодоношения, у штамма F-249 резко (в 10 раз) повышается экспрессия

данного гена. Штамм F-249 является типовым, в процессе морфогенеза он образует характерные практически для всех штаммов шиитаке морфоструктуры: вегетативный непигментированный мицелий, коричневую мицелиальную пленку, примордии и плодовые тела [14]. У штамма 2-T наблюдается сбой в программе нормального плодоношения. После колонизации субстрата и уплотнения мицелия гриб не формирует мицели-



альную пленку, а образует гипертрофированные бесформенные примордии, которые развиваются в нетипичные плодовые тела, не дифференцированные на шляпку и ножку. Спустя некоторое время непигментированный мицелий покрывается слоем плотно переплетенных толстостенных меланизированных гиф, формируется коричневая мицелиальная пленка, а затем нормальные примордии и плодовые тела.

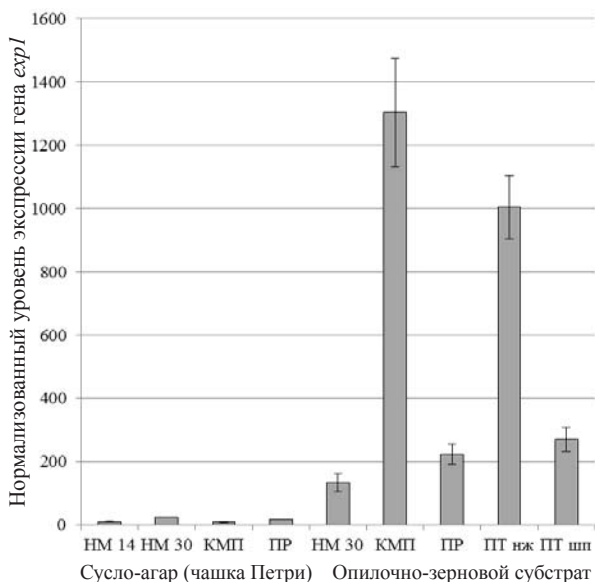


Рис. 3. Уровень экспрессии гена специфического фактора транскрипции (*exp1*) у штамма F-249 *L. edodes* на разных стадиях морфогенеза при культивировании на сусло-агаре в чашке Петри и на древесном субстрате. Данные нормализованы по транскрипционной активности гена глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (*gpd*). Обозначения см. на рис. 1, 2

У данного штамма, так же как и у F-249, на стадии мицелиальной пленки происходит многократное увеличение активности гена специфического фактора транскрипции: в 10 раз выше по сравнению со стадией непигментированного мицелия и в 3 раза – относительно бесформенных примордиев (см. рис. 2). В примордиях и плодовых телах этих штаммов отмечен спад активности гена *exp1*, по сравнению с коричневой мицелиальной пленкой.

Очевидно, что мицелиальная пленка в процессе морфогенеза выполняет не только защитную функцию, но и является биохимически активной структурой. Вероятно, эта стадия является критической для формирования правильного транскрипционного профиля, отвечающего за переход в фазу плодоношения. По всей вероятности, сбой в этой программе служит одной из причин, по которой не удается получить полноценных плодовых тел.

Изменение транскрипционной активности гена *exp1* в процессе формирования и старения плодового тела у базидиомицета *L. edodes*. Мы сравнили экспрессию гена *exp1* *L. edodes* F-249 на разных этапах созревания органов плодоношения. Было отмечено, что в примордиях и молодых, только сформировавшихся плодовых телах уровень транскрипционной активности исследуемого гена был на одном уровне или чуть выше по сравнению со стадией непигментированного мицелия. По мере созревания активность *exp1* возрастала и в старых плодовых телах, где были отмечены физиологические изменения, такие как лизис клеточной стенки, пигментация гимениального слоя, транскрипционная активность гена была в 4 – 5 раз выше, чем в примордиях (рис. 4).

По всей вероятности, специфический фактор транскрипции *exp1* у базидиомицета *L. edodes* может быть вовлечен в процесс старения плодового тела. Так, например, показано, что у *Coprinopsis cinerea* транскрипционный фактор с высоким сходством с *exp1* шиитаке участвует в автолизе гименофора шляпки плодового тела в процессе высвобождения спор [21]. Специфический фактор транскрипции в этом случае может включать регуляторные гены, кодирующие ферменты, ответственные за лизис клеточных стенок у базидиомицета. Таким образом, *exp1* участвует в развитии, формировании морфологии плодового тела базидиомицетов, а также ответственен за процесс старения органов плодоношения грибов.

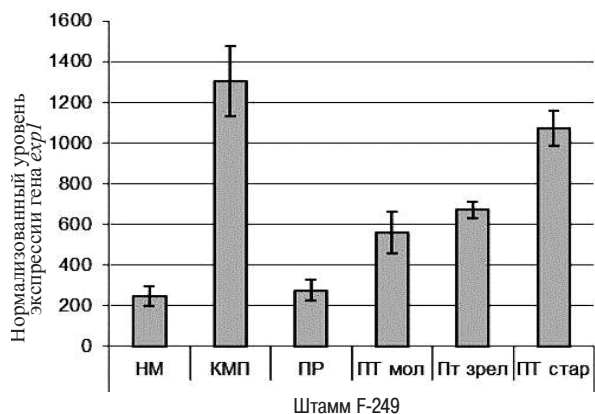


Рис. 4. Уровень экспрессии гена специфического фактора транскрипции (*exp1*) у штамма F-249 *L. edodes* на разных стадиях морфогенеза, а также в процессе формирования и старения плодового тела при культивировании на древесном субстрате. Данные нормализованы по транскрипционной активности гена *gpd*: NM – непигментированный мицелий; KMP – коричневая мицелиальная пленка; PR – примордии; PT мол – молодое плодовое тело; PT зрел – зрелое плодовое тело; PT стар – старое плодовое тело



Таким образом, проведенные исследования показали постоянное присутствие и изменение активности специфического фактора транскрипции в зависимости от стадии развития базидиомицета *L. edodes*, что представляет особенность гриба и может свидетельствовать о важной роли гена *exp1* в процессе морфогенеза шиитаке. На стадии коричневой мицелиальной пленки, образование которой необходимо для дальнейшего полноценного плодоношения, уровень транскрипционной активности гена *exp1* был максимальный. Многократное повышение активности перед стадией плодоношения может свидетельствовать о важной роли гена *exp1* в иницировании и формировании базидиом. Кроме того, очевидно, что мицелиальная пленка в процессе развития грибного организма выполняет не только защитную функцию, но является также биохимически активной структурой. Вероятно, эта стадия является также критической для формирования правильного транскрипционного профиля, отвечающего за переход в фазу плодоношения. При культивировании ксилотрофа *L. edodes* на искусственных питательных средах активность гена *exp1* на всех стадиях развития подавлена, в то время как в естественных условиях на древесном субстрате уровень активности *exp1* многократно повышался. Возможно, происходит сбой в программе нормального плодоношения, что является одной из причин, по которой получить полноценные базидиомы на искусственных средах не удастся. В связи с этим активация гена *exp1* может служить маркером готовности ксилотрофных грибов к плодоношению, а также степени адекватности условий культивирования. Повышение уровня активности гена *exp1* в старых плодовых телах, где были отмечены физиологические изменения, может говорить о вовлечении фактора транскрипции в процесс старения культуры шиитаке.

Полученные результаты позволяют говорить о многоплановой роли специфического фактора транскрипции в процессе развития базидиомицета *L. edodes*, указывающего на его важную роль в освоении субстрата, смене стадий морфогенеза, образовании полноценных базидиом, лизисе клеточной стенки, пигментации гимениального слоя, что дает основание предполагать регуляторную деятельность гена *exp1* или его продуктов в процессе развития грибного организма. Эти данные могут быть использованы и учтены при разработках и оптимизации культивирования гриба шиитаке, представляющего большой интерес в силу пищевой ценности и исключительных целебных свойств.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 15-04-02926).

Список литературы

1. *Feofilova E. P.* Mycelial fungi as a source for obtaining new medical products with immunomodulating, antitumoral, and wound healing activities // *Immunopathology, Allergology, Infectology (Moscow)*. 2004. Vol. 1. P. 27–33.
2. *Bender S., Lonergan G.T., Backhaus J., Cross R. F., Baker W. L.* The antibiotic activity of the edible and medicinal mushroom *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. // *Intern. J. Medicinal Mushrooms*. 2001. Vol. 3, № 2–3. P. 118.
3. *Okeke B. C., Paterson A., Smith J. E., Watson-Craik I. A.* The relationship between phenoloxidase activity, soluble protein and ergosterol with growth of *Lentinus species* in oak sawdust logs // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1994. Vol. 41. P. 28–31.
4. *Latchman D. S.* Transcription factors: an overview // *Intern. J. Biochem. Cell Biol.* 1997. Vol. 29. P. 1305–1312.
5. *Lobe C. G.* Transcription factors and mammalian development // *Curr. Top. Develop. Biol.* 1992. Vol. 27. P. 351–383.
6. *Honma T., Goto K.* Complexes of MADS-box proteins are sufficient to convert leaves into floral organs // *Nature*. 2001. Vol. 409. P. 525–529.
7. *Xu G., Kong H.* Duplication and divergence of floral MADS-box genes in grasses: evidence for the generation and modification of novel regulators // *J. Integ. Plant Biol.* 2007. Vol. 49. P. 927–939.
8. *Zhu T., Budwort P., Han B., Brown D., Chang H.-S., Zou G., Wang X.* Toward elucidating the global gene expression patterns of developing *Arabidopsis*: Parallel analysis of 8300 genes by a high-density oligonucleotide probe array // *Plant Physiol. Biochem.* 2001. Vol. 39. P. 221–242.
9. *Serna L.* BHLH protein know when to make a stoma // *Trend. Plant Sci.* 2007. Vol. 12. P. 483–485.
10. *Chen Y. H., Yang X. Y., He K., Liu M. H., Li J. G., Gao Z. F., Lin Z. Q., Zhang Y. F., Wang X. X., Qiu X. M., Shen Y. P., Zhang L., Deng X. H., Luo J. C., Deng X. W., Chen Z. L., Gu H. Y., Qu L. J.* The MYB transcription factor superfamily of *Arabidopsis*: expression analysis and phylogenetic comparison with the rice MYB family // *Plant Molec. Biol.* 2006. Vol. 60. P. 107–124.
11. *Eulgem Th., Rushton P.J., Robatzek S., Somssich I.* The WRKY superfamily of plant transcription factors // *Trend. Plant Sci.* 2000. Vol. 5. P. 199–206.
12. *Hake S., Ori N.* Plant morphogenesis // *Nature Gen.* 2000. Vol. 31. P. 121–122.
13. *Ulker B., Somssich I. E.* WRKY transcription factors : from DNA binding towards biological function // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2004. Vol. 7. P. 491–498.
14. *Ветчинкина Е. П., Никитина В. Е.* Морфологические особенности роста мицелия и плодоношения некоторых штаммов съедобного ксилотрофного базидиомицета *Lentinus edodes* // *Известия Самар. науч. центра РАН*. 2007. Т. 9, № 4. С. 1085–1090.
15. *Ветчинкина Е. П., Никитина В. Е.* Сравнительный анализ белкового комплекса морфологических струк-



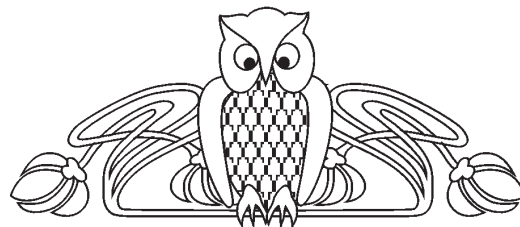
- тур культивируемого ксилотрофного базидиомицета *Lentinus edodes* // Микология и фитопатология. 2008. Т. 42, № 2. С. 173–177.
16. *Остерман Л. А.* Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование. М.: Наука, 1981. 288 с.
17. *Sakamoto Yu., Nakade K., Sato T.* Characterization of the post-harvest changes in gene transcription in the gill of the *Lentinula edodes* fruiting body // *Curr Genet.* 2009. Vol. 55. P. 409–423.
18. *Trumbly R. J.* Glucose repression in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* // *Molecular Microbiology.* 1992. Vol. 6, № 1. P. 15–21.
19. *Huang G. H., Nie X. Y., Chen J. Y.* CaMac1, a *Candida albicans* copper ion-sensing transcription factor, promotes filamentous and invasive growth in *Saccharomyces cerevisiae* // *Acta Biochim. Biophys. Sin.* 2006. Vol. 38, № 3. P. 213–220.
20. *Roeder R. G.* The role of general initiation factors in transcription by RNA polymerase II // *Trends Biochem. Sci.* 1996. Vol. 21, № 9. P. 327–335.
21. *Muraguchi H., Fujita T., Kishibe Y., Konno K., Ueda N., Nakahori K., Yanagi S.O., Kamada T.* The *exp1* gene essential for pileus expansion and autolysis of the inky cap mushroom *Coprinopsis cinerea* (*Coprinus cinereus*) encodes an HMG protein // *Fung Genet. Biol.* 2008. Vol. 45. H. 890–896.

УДК 579.22:574.23

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ БИОАККУМУЛЯЦИИ КАДМИЯ (II) РИЗОБАКТЕРИЕЙ *BACILLUS* sp. 14

И. Ю. Сунгурцева¹, Е. В. Любунь²,
А. Ю. Муратова², Е. В. Плешакова¹

¹Саратовский государственный университет
²Институт биохимии и физиологии растений
и микроорганизмов РАН, Саратов
E-mail: airinmind@yandex.ru



Для изучения устойчивости к кадмию (II) у выделенного штамма ризобактерии *Bacillus* sp. 14 было проведено исследование по биоаккумуляции данного металла. Показана аккумулирующая способность микробных клеток в экспоненциальной фазе роста микроорганизма. Выяснена доминирующая роль поверхности растущих клеток *Bacillus* sp. 14 в устойчивости к кадмию (II).

Ключевые слова: ризобактерии, *Bacillus*, кадмий, биоаккумуляция.

Bioaccumulation of Cadmium (II) by *Bacillus* sp. 14 Rhizobacteria

I. U. Sungurtseva, Ye. V. Lyubun,
A.Y. Muratova, E. V. Pleshakova

To study the resistance of isolated rhizobacterium *Bacillus* sp. 14 to cadmium (II), bioaccumulation of the metal by this microorganism was investigated. It was shown that accumulation of cadmium (II) occurs during the exponential phase of the microorganism's growth. The predominant role of the extracellular surface of the growing cells *Bacillus* sp. 14 in the cadmium (II) resistance was clarified.

Key words: rhizobacteria, *Bacillus*, cadmium, bioaccumulation.

DOI: 10.18500/1816-9775-2015-15-4-74-77

Одной из важнейших проблем современности является повсеместное загрязнение верхних слоев почв тяжелыми металлами, в частности кадмием. Кадмий токсичен для живых организмов

и относится к первому классу опасности среди тяжелых металлов. Аккумулируясь в сельскохозяйственных культурах, кадмий, таким образом, перемещается вверх по пищевой цепи и вызывает различные заболевания животных и человека.

Недорогим и экологичным решением проблемы является фиторемедиация – технология очистки загрязненных почв с использованием растений для адсорбции, аккумуляции и детоксификации загрязняющих агентов в ходе физических, химических и биологических процессов. Однако зачастую гипераккумуляторы – это растения, медленно растущие и медленно аккумулирующие металл [1]. Поэтому в настоящее время для растений активно ведется поиск способов стимуляции продуктивности и адсорбции тяжелых металлов.

Известны устойчивые к действию кадмия микроорганизмы, которые исследуются на способность к колонизации корней растений и стимуляции их роста [2–4]. Таким образом, наряду с выбором растения также важно создание растительно-микробных ассоциаций, эффективных в процессе фиторемедиации. Для создания подобных эффективно функционирующих растительно-микробных сообществ необходимо изучение устойчивости микроорганизмов.