

## БИОТЕХНОЛОГИЯ / BIOTECHNOLOGY

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.52>**МОРФОЛОГИЯ ГЛОБУЛ МИЦЕЛИЯ БАЗИДИОМИЦЕТА *NEONOTHOPANUS NAMBI* И УРОВЕНЬ ПРОДУКЦИИ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ОКСИДАЗ ПРИ ГЛУБИННОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В РАЗНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ**

Научная статья

**Могильная О.А.<sup>1</sup>, Ронжин Н.О.<sup>2\*</sup>, Посохина Е.Д.<sup>3</sup>, Бондарь В.С.<sup>4</sup>**<sup>1</sup> ORCID : 0000-0002-1792-1602;<sup>2</sup> ORCID : 0000-0003-0735-3362;<sup>3</sup> ORCID : 0000-0002-8276-9213;<sup>4</sup> ORCID : 0000-0003-1555-6514;<sup>1, 2, 3, 4</sup> Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук, Красноярск, Российская Федерация

\* Корреспондирующий автор (roniol[at]mail.ru)

**Аннотация**

В работе исследованы морфология глобул мицелия базидиомицета *Neonothopanus nambi*, а также внеклеточная пероксидазная и алкогольоксидазная активности гриба при его погруженном культивировании в разных питательных средах. Выращивание биомассы проводили при температуре 27°C в течение 7 – 8 суток с постоянным орбитальным перемешиванием питательной среды. При таком режиме культивирования наблюдается рост грибного мицелия в виде шарообразных глобул диаметром 2 – 7 мм. При выращивании в питательных средах, содержащих солодовый экстракт или крахмал, наблюдается рост крупных глобул мицелия с большим количеством поверхностных пучков гиф. Культивирование гриба в среде, содержащей микологический пептон, сопровождается ростом большого количества глобул мицелия небольших размеров с практически гладкой поверхностью. Установлено, что выращивание в питательной среде на основе солодового экстракта увеличивает секрецию внеклеточных оксидаз гриба в окружающую среду (от 30% до нескольких раз, по сравнению с другими изучаемыми питательными средами). Обработка мицелия β-глюкозидазой использована для экстракции внеклеточных грибных ферментов (включая оксидазы). При этом наибольшая активность внеклеточных оксидаз выявлена в экстрактах из мицелия, выращенного в питательной среде на основе солодового экстракта: уровень пероксидазной активности был выше от 30% до порядка и более раз, а алкогольоксидазной активности в 2 – 5 раз выше, по сравнению с экстрактами из мицелия, выращенного в других питательных средах. Результаты исследования свидетельствуют о перспективности применения базидиомицета *N. nambi* в биотехнологиях получения внеклеточных грибных ферментов для аналитических приложений и создают предпосылки для увеличения их продукции в биомассе гриба на стадии культивирования.

**Ключевые слова:** базидиомицеты, мицелий, *Neonothopanus nambi*, глубинное культивирование, внеклеточные ферменты, оксидазы.

**MORPHOLOGY OF MYCELIAL GLOBULES OF THE BASIDIOMYCETE *NEONOTHOPANUS NAMBI* AND THE LEVEL OF EXTRACELLULAR OXIDASE PRODUCTION DURING DEEP CULTIVATION IN DIFFERENT NUTRIENT ENVIRONMENTS**

Research article

**Mogilnaya O.A.<sup>1</sup>, Ronzhin N.O.<sup>2\*</sup>, Posokhina E.D.<sup>3</sup>, Bondar V.S.<sup>4</sup>**<sup>1</sup> ORCID : 0000-0002-1792-1602;<sup>2</sup> ORCID : 0000-0003-0735-3362;<sup>3</sup> ORCID : 0000-0002-8276-9213;<sup>4</sup> ORCID : 0000-0003-1555-6514;<sup>1, 2, 3, 4</sup> Institute of Biophysics of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

\* Corresponding author (roniol[at]mail.ru)

**Abstract**

The morphology of mycelial globules of the basidiomycete *Neonothopanus nambi*, as well as the extracellular peroxidase and alcohol oxidase activities of the fungus during its submerged cultivation in different nutrient environments, were examined. The biomass cultivation was carried out at 27°C for 7-8 days with constant orbital agitation of the nutrient medium. Growth of fungal mycelium in the form of spherical globules with a diameter of 2-7 mm was observed under this cultivation regime. When growing in nutrient media containing malt extract or starch, the growth of large mycelial globules with numerous surface bundles of hyphae is observed. Cultivation of the fungus in medium containing mycological peptone is accompanied by the growth of numerous mycelial globules of small size with an almost smooth surface. It was found that cultivation in nutrient medium based on malt extract increases the secretion of extracellular oxidases of the fungus into the environment (from 30% to several times, compared to other studied nutrient media). Treatment of mycelium with β-glucosidase was used to extract fungal extracellular enzymes (including oxidases). The highest activity of extracellular oxidases was found in extracts from mycelium grown in nutrient medium based on malt extract: the level of peroxidase activity was higher from 30% to an order of magnitude or more, and alcohol oxidase activity was 2-5 times higher compared to extracts from mycelium grown in other nutrient media. The results of the study indicate the promising application of

basidiomycete *N. nambi* in the biotechnology of extracellular fungal enzymes for analytical applications and creation of prerequisites for increasing their production in the biomass of the fungus at the stage of cultivation.

**Keywords:** basidiomycetes, mycelium, *Neonothopanus nambi*, deep cultivation, extracellular enzymes, oxidases.

### Введение

Базидиальные грибы обладают огромным биотехнологическим потенциалом для получения широчайшего спектра ценных целевых продуктов, востребованных в медицине, биологии, фармакологии, пищевой и химической промышленности, экологии и т.д. Биомассу базидиомицетов (мицелий и плодовые тела) используют для выделения волокнистых полимерных материалов (полисахариды, хитин) [1], [2]; соединений с фармакологической активностью [3], [4], [5]; ферментов и ферментных систем, катализирующих разложение лигнина и целлюлозы [6], [7].

Большой интерес для ученых представляют внеклеточные оксидазы базидиомицетов (в частности, гем- и ФАД-содержащие), благодаря возможностям их использования в биотехнологических и биоаналитических приложениях. В частности, эти ферменты являются перспективными биокатализаторами для конструирования эффективных средств индикации и диагностики, в том числе, создания мультиферментных индикаторных и диагностических биосенсоров. Например, глюкозооксидазу, пиранозоксидазу и пероксидазу из базидиальных грибов успешно применяют в создании различных аналитических систем [8], [9], [10], [11], [12]. Внеклеточная ФАД-содержащая арилалкогольоксидаза базидиомицетов перспективна в биотехнологических приложениях, благодаря широкой субстратной специфичности фермента и простоте катализируемой им реакции [13], [14].

Следует заметить, что исследователи продолжают поиск для выявления среди базидиомицетов новых перспективных продуцентов известных оксидаз и обнаружения ферментов с новыми свойствами, разрабатывают подходы к созданию рекомбинантных штаммов-продуцентов внеклеточных оксидаз базидиальных грибов. В свою очередь, биотехнологическое использование базидиомицетов для производства ферментов (в том числе, оксидаз) связано с необходимостью изучения возможностей увеличения их продукции в грибной биомассе на стадии культивирования. Так, в работах ряда авторов показано, что соотношение углерода и азота в питательной среде при культивировании базидиомицетов влияет на уровень продукции грибами экзополисахаридного матрикса и внеклеточных ферментов [15], [16]. Это свидетельствует, что состав питательной среды является одним из ключевых факторов, оказывающих влияние на уровень биосинтеза внеклеточных ферментов базидиальными грибами на стадии их выращивания.

Светоизлучающий базидиомицет *Neonothopanus nambi* является хорошо известным объектом в исследованиях не только механизмов биолюминесценции высших грибов, но и применимости в биотехнологическом производстве ценных целевых продуктов, в том числе для аналитических приложений. Например, для применения в биоаналитике интерес могут представлять внеклеточные оксидазы *N. nambi* [11], [12]. При этом надо сказать, что интенсивность световой эмиссии данного гриба коррелирует с активностью его оксидазных ферментов, участвующих в разрушении лигнина [20]. Исходя из изложенного, представляет научный интерес и имеет практическое значение изучение возможностей и подходов для увеличения биосинтеза оксидазных ферментов в биомассе гриба *N. nambi*.

В представленной работе мы исследовали морфологию формирующихся глобул мицелия и уровень содержания внеклеточных оксидаз базидиомицета *Neonothopanus nambi* при глубинном культивировании гриба в питательных средах разного состава.

### Материалы и методы исследования

В экспериментах использовали мицелий светящегося высшего гриба *N. nambi* IBSO 2391 из Коллекции микроорганизмов (ССIBSO 836) Института биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН (Красноярск). При глубинном культивировании гриба были использованы жидкие питательные среды, в которых по нашим предварительным данным наблюдался достаточно быстрый (не более 7-8 суток) рост биомассы мицелия. Выращивание мицелия проводили в следующих питательных средах:

- (ME) – Питательная среда на основе солодового экстракта (декстроза – 2 г/л, солодовый экстракт – 20 г/л, микологический пептон – 1 г/л);
- (YM) – Питательная среда на основе дрожжевого и солодового экстрактов (дрожжевой экстракт – 3 г/л, солодовый экстракт – 3 г/л, декстроза – 10 г/л, микологический пептон – 5 г/л);
- (PD) – Картофельно-декстрозная питательная среда (картофельный экстракт – 4 г/л, глюкоза – 20 г/л);
- (PS) – Картофельно-сахарозная среда (бульон из свежесваренного картофеля – 200 г/л, сахароза – 20 г/л);
- (S) – Питательная среда Сабуро (декстроза – 40 г/л, микологический пептон – 10 г/л).

Готовые к использованию питательные среды и их ингредиенты были приобретены у HiMedia Laboratory (Индия). Перед использованием приготовленные жидкие среды автоклавировали при 120°C в течение 15 мин.

Мицелий *N. nambi*, выращенный в чашках Петри на картофельно-сахарозном бульоне в течение 8 – 10 суток, измельчали и использовали в качестве инокулята для глубинного культивирования гриба. Объем инокулята составлял 2 – 5% от объема питательной среды. Культивирование осуществляли в конических колбах объемом 300 мл, содержащих 100 мл питательной среды, при температуре 27°C и постоянном перемешивании со скоростью 160 – 180 об/мин на шейкере-инкубаторе ES-20 (BIOSAN, Латвия). Процесс выращивания останавливали на 7 – 8 сутки, поскольку ранее мы показали, что в это время гриб переходит в стационарную стадию роста [17].

Для выделения внеклеточных ферментов (в том числе оксидаз) базидиомицета *N. nambi* использовали обработку мицелия β-глюкозидазой. Такой способ позволяет без разрушения биомассы экстрагировать из мицелия внеклеточные белки в относительно мягких условиях и получать экстракты внеклеточных грибных ферментов с малым содержанием балластных примесей. Обработку мицелия проводили с использованием β-глюкозидазы из сладкого миндаля (Serva, Германия), исходный раствор фермента готовили в 10 мМ фосфатном буфере (pH 6,0). Экстракцию проводили

следующим образом. Выращенные глобулы мицелия *N. nambi* извлекали из питательной среды и промывали деионизированной (ДИ) водой (Milli-Q system, Millipore, США) для удаления остатков питательной среды и метаболитов. Отмытые глобулы помещали в ДИ воду, содержащую  $\beta$ -глюкозидазу в концентрации 1 МЕ/мл, и инкубировали при 25°C в течение 24 ч при постоянном перемешивании со скоростью 80 об/мин на шейкере OS-10 (BIOSAN, Латвия). После инкубации жидкую часть (водный экстракт, содержащий выделенные из мицелия внеклеточные ферменты) отделяли от биомассы фильтрацией через бумажный фильтр. Для концентрирования выделенных ферментов и удаления низкомолекулярных соединений проводили ультрафильтрацию экстракта через мембрану Amicon с пределом исключения 30 кДа (Merk Millipore, Германия). В ходе ультрафильтрации в образце трижды заменяли ДИ воду для более полного удаления низкомолекулярных примесей. Полученную надмембранную фракцию (концентрат ферментов) использовали для исследований.

Уровень внеклеточной оксидазной активности базидиомицета *N. nambi* оценивали:

- (1) – в нативных глобулах мицелия, полученных при культивировании гриба в разных питательных средах;
- (2) – в питательных средах после удаления выращенных глобул;
- (3) – в ферментных концентратах, полученных после обработки глобул  $\beta$ -глюкозидазой и последующей ультрафильтрации экстрактов.

Внеклеточную оксидазную активность в нативных глобулах мицелия оценивали следующим образом. Выращенные глобулы извлекали из питательной среды, промывали ДИ водой для удаления остатков питательной среды и метаболитов и использовали в исследованиях. При определении пероксидазной активности глобулы помещали в 1 мл ДИ воды, содержащей 6 мМ фенола (Fluka, Германия), 0,5 мМ 4-аминоантипирина (4-ААП) (Реахим, Россия) и 0,8 мМ  $H_2O_2$  (ОАО «Фармацевтическая фабрика Санкт-Петербурга», Россия). Пробы инкубировали в течение 1 ч при 25°C, после чего отбирали окрашенные растворы и оценивали количество образовавшегося хромогена (хинонимин) на спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu, Япония) при длине волны 506 нм. Для определения алкогольоксидазной активности глобулы помещали в 1 мл ДИ воды, содержащей 10 мМ вератрилового спирта (Sigma, США), и инкубировали пробы при указанных выше условиях. Количество образовавшегося продукта (вератриловый альдегид) оценивали спектрофотометрически при длине волны 310 нм. При тестировании пероксидазной активности в питательных средах и ферментных концентратах реакционная смесь объемом 600 мкл содержала: 6 мМ фенола, 0,5 мМ 4-ААП, 8 мМ  $H_2O_2$  и 100 мкл питательной среды или концентрата ферментов. При тестировании алкогольоксидазной активности реакционная смесь объемом 600 мкл содержала: 10 мМ вератрилового спирта и 50 мкл питательной среды или концентрата ферментов. В обоих случаях после добавления всех ингредиентов реакции пробы перемешивали в течение 3 сек на Vortex-Genie 2 g-560E (Scientific Industries, Inc., США) и инкубировали в течение 30 мин при 25°C. Выход продуктов реакций оценивали спектральным методом, как изложено выше. Активность ферментов выражали в единицах оптической плотности на 1 мл реакционной смеси при измерениях с нативными глобулами и питательными средами, или на 1 мг белка при тестировании ферментных концентратов. Концентрацию белка в концентратах ферментов определяли биуретовым методом с использованием реактива Бенедикта и БСА в качестве стандарта. Измерение оксидазных активностей проводили в пяти повторностях.

### Результаты и их обсуждение

Применение базидиальных грибов для производства ферментов требует изучения уровня их продукции в грибной биомассе и возможностей ее увеличения на стадии культивирования. Известно, что на эффективность биосинтеза внеклеточных ферментов в мицелии базидиомицетов могут оказывать влияние состав питательной среды и условия выращивания биомассы. Ранее было показано, что состав питательной среды и условия погруженного культивирования базидиомицетов (скорость перемешивания, температура, аэрация кислородом и др.) влияют на выход биомассы мицелия, уровень продукции и состав экзополисахаридного матрикса в мицелии [16], [18]. Экзополисахаридный матрикс играет важную роль в жизнедеятельности базидиомицетов. Хорошо известно, что полисахаридная капсула покрывает наружную поверхность клеточной стенки гиф мицелия, имеет поры и состоит из разветвленных  $\beta$ -D-глюканов, образующих гелеобразную сеть во внешней оболочке гиф и межклеточном пространстве. В гелеобразной сети находятся внеклеточные ферменты и удерживается вода, необходимая для их функционирования [17], [19].

Ранее нами было показано, что культивирование гриба *N. nambi* в погруженных условиях при постоянном орбитальном перемешивании питательной среды приводит к формированию шарообразных глобул мицелия диаметром от 2 до 7 мм, имеющих шероховатую поверхность за счет большого количества поверхностных выростов – пучков гиф [20]. При этом было показано, что длина отдельных гиф и пучков гиф, вырастающих на поверхности глобул мицелия данного гриба, может достигать нескольких миллиметров.

Как показали исследования, проведенные нами в данной работе, морфологические характеристики глобул мицелия *N. nambi* (размер глобул, обилие и длина отдельных гиф и пучков гиф на поверхности глобул) могут значительно варьировать, в зависимости от состава питательной среды, используемой для выращивания (рис. 1). Из представленных данных видно, что образование крупных глобул с большим количеством поверхностных пучков гиф наблюдается при росте мицелия в средах, содержащих солодовый экстракт (ME среда) или крахмал (PS и PD среды) (рис. 1а–в). При этом при культивировании гриба в питательной среде S, содержащей микологический пептон, наблюдалось образование большого количества глобул малых размеров с практически гладкой поверхностью, среди которых встречались экземпляры не шарообразной формы (рис. 1г). Видно, что в данной биомассе встречалось и некоторое количество крупных глобул, имеющих крайне редкие и короткие пучки гиф на поверхности. И, наконец, в биомассе, выращенной в среде YM, содержащей дрожжевой экстракт, встречались как глобулы небольшого и среднего размера с гладкой поверхностью, практически не содержащей выростов, так и более крупные экземпляры с короткими толстыми пучками гиф (рис. 1д). Следует сказать, что на поверхности гладких глобул, образование которых

наблюдалось при культивировании базидиомицета *N. nambi* в средах S и YM, длина поверхностных гиф (или пучков гиф) была крайне мала и составляла менее 200 мкм.

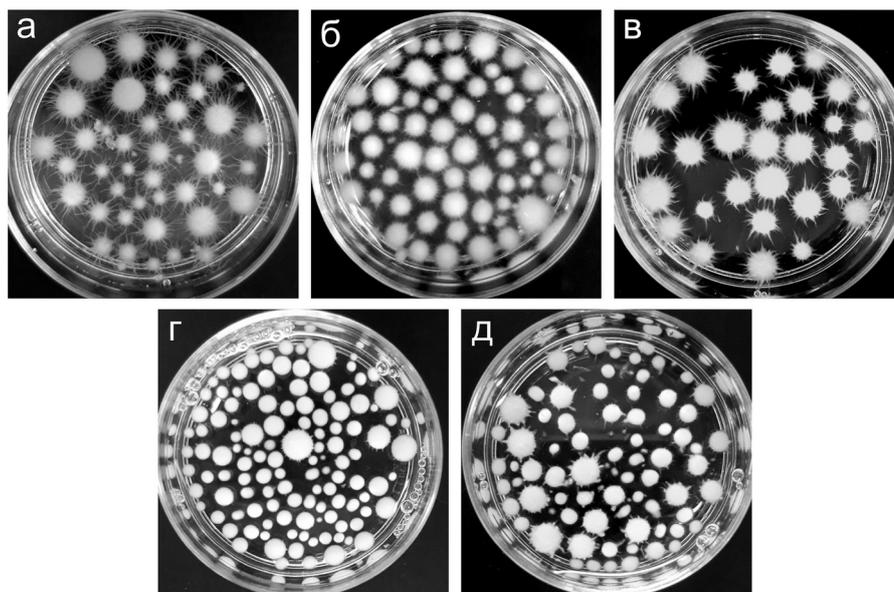


Рисунок 1 - Морфология глобул мицелия базидиомицета *N. nambi* при погруженном культивировании в разных питательных средах:

a – PD; б – PS; в – ME; г – S; д – YM

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.52.1>

Сравнительные исследования показали, что высокий уровень внеклеточной пероксидазной активности регистрируется в нативных глобулах *N. nambi*, выращенных в питательных средах YM, PD и PS (рис. 2а). В глобулах, выращенных в питательных средах S и ME, уровень этой активности был значительно (примерно в 5 – 10 раз) ниже. Следует отметить, что пероксидазная активность была обнаружена нами и во всех питательных средах после выращивания мицелия (рис. 2б). Из полученных данных видно, что наибольший уровень пероксидазной активности регистрируется в питательной среде ME, в то время как в питательных средах YM и S он был примерно на треть меньше. Уровень пероксидазной активности, который был зарегистрирован в питательных средах PD и PS, был наименьшим и составлял около 40 – 45% по сравнению с уровнем активности в питательной среде ME.

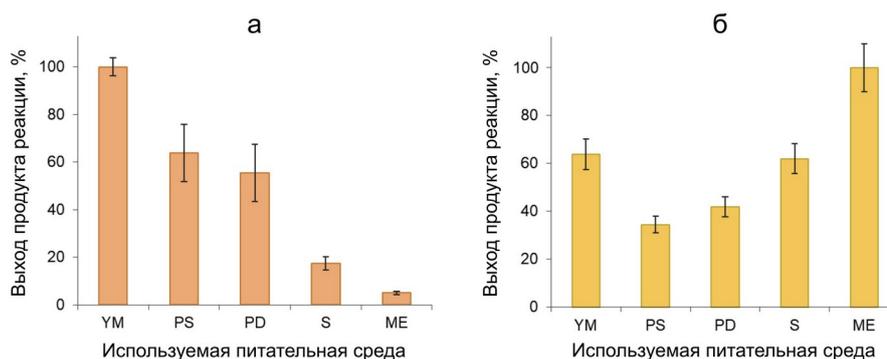


Рисунок 2 - Выход продукта реакции окислительного азосочетания, отражающий уровень пероксидазной активности в нативных глобулах мицелия *N. nambi* (а) и в питательных средах после культивирования гриба (б)

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.52.2>

Примечание: данные нормированы на максимальные уровни выхода продукта в рядах измерений:  $0.218 \pm 0.04$  отн.ед./мл и  $0.046 \pm 0.005$  отн.ед./мл, соответственно

В сравнительных экспериментах мы зарегистрировали практически одинаковый уровень внеклеточной алкогольоксидазной активности в нативных глобулах *N. nambi*, выращенных в разных питательных средах (рис. 3а). Исключением являлись только глобулы, выращенные в среде ME, в них уровень алкогольоксидазной активности был ниже примерно на 20 – 25%. После культивирования гриба алкогольоксидазная активность была обнаружена нами также и во всех питательных средах (рис. 3б). Из полученных данных следует, что распределение уровней

алкогольоксидазной активности в питательных средах, в целом, было примерно таким же, как и распределение уровней пероксидазной активности (рис. 2б). Наибольший уровень алкогольоксидазной активности регистрировался в средах YM и ME, средний – в среде PD и S, наименьший – в среде PS.

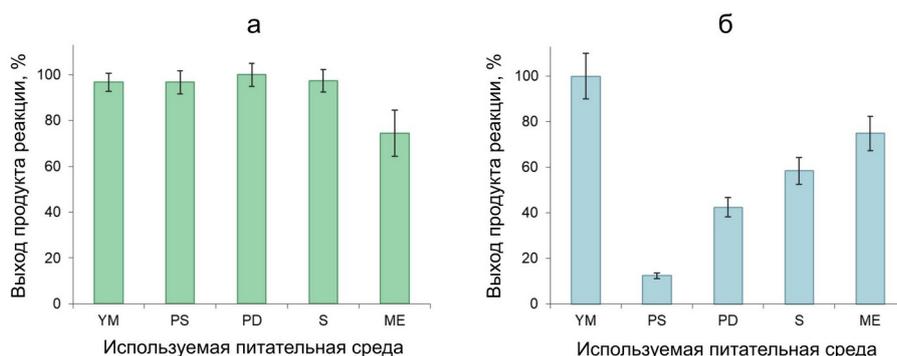


Рисунок 3 - Выход продукта реакции окисления вератрилового спирта, отражающий уровень алкогольоксидазной активности в нативных глобулах мицелия *N. nambii* (а) и в питательных средах после культивирования гриба (б)  
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.52.3>

Примечание: данные нормированы на максимальные уровни выхода продукта в рядах измерений:  $0.3 \pm 0.05$  отн.ед./мл и  $1.39 \pm 0.13$  отн.ед./мл, соответственно

Сопоставление результатов тестирования активности изучаемых оксидазных ферментов в питательных средах и нативных глобулах мицелия *N. nambii* (рис. 2 и 3) позволяет высказать следующее предположение. По-видимому, от состава питательной среды, используемой при культивировании мицелия базидиомицета *N. nambii*, может зависеть не только интенсивность биосинтеза внеклеточных оксидазных ферментов, но и продукция грибом экзополисахаридного матрикса и его структура. В свою очередь это может оказывать влияние на морфологические особенности полисахаридной капсулы, формирующейся на наружной поверхности клеточной стенки гиф мицелия (прежде всего, гелеобразной сети во внешней оболочке гиф и межклеточном пространстве) и, как следствие, определять интенсивность диффузии внеклеточных ферментов гриба во внешнюю среду. Такая версия представляется правомочной, поскольку согласуется с мнением других авторов [15], [21], [22]. В приведенных работах высказывалось суждение, что состав используемой для выращивания биомассы мицелия питательной среды может оказывать влияние на уровень продукции базидиомицетами внеклеточных ферментов и их секрецию в окружающую среду.

Как показали эксперименты с концентратами внеклеточных ферментов, полученных после обработки мицелия *N. nambii*  $\beta$ -глюкозидазой, во всех образцах регистрируется пероксидазная и алкогольоксидазная активности (рис. 4). Видно, что уровень активности изучаемых оксидаз, извлекаемых из биомассы мицелия данным способом, существенно различается, в зависимости от состава питательной среды, которая была использована для выращивания гриба. Так, высокий уровень пероксидазной активности регистрируется в ферментных концентратах, полученных из глобул, выращенных в средах PD, S и ME (рис. 4а). В концентратах из глобул, выращенных в средах YM и PS, уровень пероксидазной активности был значительно ниже. При тестировании алкогольоксидазной активности самый высокий ее уровень был зарегистрирован в ферментном концентрате, полученном из глобул, выращенных на среде ME. В ферментных концентратах, полученных из глобул, выращенных в средах PS, PD и S, регистрировался практически в 2 раза меньший уровень этой активности (рис. 4б). Как и при тестировании пероксидазной активности, наиболее низкий уровень алкогольоксидазной активности был зарегистрирован в концентрате из глобул, выращенных в среде YM (рис. 4б).

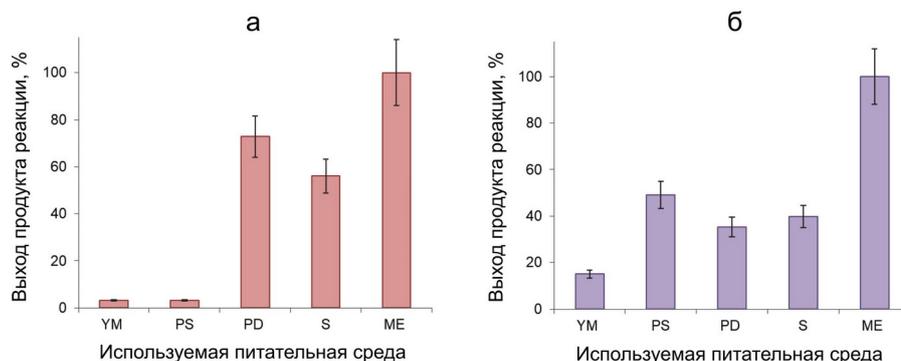


Рисунок 4 - Выход продуктов реакции окислительного азосочетания (а) и реакции окисления вератрилового спирта (б), отражающих уровни активности экстраклеточных оксидаз в водных концентратах из мицелия *N. nambi*  
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.52.4>

Примечание: данные нормированы на максимальные уровни выхода продуктов реакций в рядах измерений:  $0.418 \pm 0.06$  отн.ед./мг и  $1.51 \pm 0.18$  отн.ед./мг, соответственно

### Заключение

Обнаружение пероксидазной и алкогольоксидазной активностей в питательных средах после выращивания мицелия *N. nambi* открывает перспективы создания биореакторов на основе базидиомицетов для производства внеклеточных грибных ферментов, обладающих оксидазной функцией. Для выделения пула внеклеточных ферментов из базидиомицета *N. nambi* может быть рекомендована обработка биомассы мицелия  $\beta$ -глюкозидазой. Этот прием позволяет в относительно мягких условиях (без разрушения биомассы) получать из мицелия экстракты, обогащенные внеклеточными грибными ферментами и содержащие малое количество балластных примесей. В работе было выявлено, что наибольшая секреция внеклеточных оксидаз в окружающую среду и их наибольшая активность в экстрактах после обработки биомассы мицелия  $\beta$ -глюкозидазой наблюдаются при выращивании гриба *N. nambi* в питательной среде на основе солодового экстракта. В свою очередь, наличие таких питательных сред, содержащих внеклеточные ферменты базидиальных грибов, и экстрактов, полученных после обработки биомассы  $\beta$ -глюкозидазой и обогащенных данными ферментами, будет способствовать повышению эффективности технологий дальнейшей очистки этих ценных целевых продуктов, востребованных в аналитике.

### Конфликт интересов

Не указан.

### Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

### Conflict of Interest

None declared.

### Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

### Список литературы на английском языке / References in English

1. Wang W. Polysaccharides from Fungi: A Review on Their Extraction, Purification, Structural Features, and Biological Activities / W. Wang, J. Tan, L. Nima [et al.] // Food Chemistry: X. — 2022. — 15. — 100414.
2. Alimi B.A. Extraction, Quantification, Characterization, and Application in Food Packaging of Chitin and Chitosan from Mushrooms: A review / B.A. Alimi, S. Pathania, J. Wilson [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. — 2023. — 237. — 124195.
3. Erbiai E.H. Chemical Composition, Bioactive Compounds, and Antioxidant Activity of Two Wild Edible Mushrooms *Armillaria mellea* and *Macrolepiota procera* from Two Countries (Morocco and Portugal) / E.H. Erbiai, L.P. da Silva, R. Saidi [et al.] // Biomolecules. — 2021. — 11. — 575.
4. Chen P. Study on Chemical Constituents of an Edible Mushroom *Volvariella volvacea* and Their Antitumor Activity in Vitro / P. Chen, H.J. Qin, Y.W. Li [et al.] // Natural Product Research. — 2020. — 34. — P. 1417-1422.
5. Pathak M.P. Immunomodulatory Effect of Mushrooms and Their Bioactive Compounds in Cancer: A comprehensive review / M.P. Pathak, K. Pathak, R. Saikia [et al.] // Biomedicine & Pharmacotherapy. — 2022. — 149. — 112901.
6. Schneider W.D. Lignin Degradation and Detoxification of Eucalyptus Wastes by On-site Manufacturing Fungal Enzymes to Enhance Second-generation Ethanol Yield / W.D. Schneider, R.C. Fontana, H.M. Baudel [et al.] // Applied Energy. — 2020. — 262. — 114493.
7. Min K. Effect of Manganese Peroxidase on the Decomposition of Cellulosic Components: Direct Cellulolytic Activity and Synergistic Effect with Cellulase / K. Min, Y.H. Kim, J. Kim [et al.] // Bioresource Technology. — 2022. — 343. — 126138.

8. Wongnate T. The Substrate Oxidation Mechanism of Pyranose 2-oxidase and Other Related Enzymes in the Glucose—Methanol—Choline Superfamily / T. Wongnate, P. Chaiyen // *FEBS Journal*. — 2013. — 280. — P. 3009-3027.
9. Ji Q. Immobilized Multienzymatic Systems for Catalysis of Cascade Reactions / Q. Ji, B. Wang, J. Tan [et al.] // *Process Biochemistry*. — 2016. — 51. — P. 1193-1203.
10. Farrugia T. Multi-enzyme Cascade Reactions Using Protein-polymer Surfactant Self-standing Films / T. Farrugia, A.W. Perriman, K.P. Sharma [et al.] // *Chemical Communications*. — 2017. — 53. — P. 2094-2097.
11. Mogilnaya O.A. Creation of Bifunctional Indicating Complex Based on Nanodiamonds and Extracellular Oxidases of Luminous Fungus *Neonothopanus nambi* / O.A. Mogilnaya, N.O. Ronzhin, K.S. Artemenko [et al.] // *Doklady Biochemistry and Biophysics*. — 2018. — 480. — P. 135-138.
12. Mogilnaya O. Nanodiamonds as an Effective Adsorbent for Immobilization of Extracellular Peroxidases from Luminous Fungus *Neonothopanus Nambi* to Construct a Phenol Detection System / O. Mogilnaya, N. Ronzhin, K. Artemenko [et al.] // *Biocatalysis and Biotransformation*. — 2019. — 37. — P. 97-105.
13. Galperin I. An Aryl-alcohol Oxidase of *Pleurotus Sapidus*: Heterologous Expression, Characterization, and Application in a 2-enzyme System / I. Galperin, A. Javeed, H. Luig [et al.] // *Applied Microbiology and Biotechnology*. — 2016. — 100. — P. 8021-8030.
14. Tamaru Y. Characterization of an Aryl-alcohol Oxidase from the Plant Saprophytic Basidiomycete *Coprinopsis Cinerea* with Broad Substrate Specificity against Aromatic Alcohols / Y. Tamaru, K. Umezawa, M. Yoshida // *Biotechnology Letters*. — 2018. — 40. — P. 1077-1086.
15. Rosado F.R. Biomass and Exopolysaccharide Production in Submerged Cultures of *Pleurotus Ostreatus* SING. and *Pleurotus Ostreatus* “Florida” (Jack.: Fr.) Kummer / F.R. Rosado, S. Germano, E.R. Carbonero [et al.] // *Journal of Basic Microbiology*. — 2003. — 43. — P. 230-237.
16. Fraga I. Influence of Culture Medium Growth Variables on *Ganoderma Lucidum* Exopolysaccharides Structural Features / I. Fraga, J. Coutinho, R.M. Bezerra [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. — 2014. — 111. — P. 936-946.
17. Mogilnaya O.A. Extracellular Peroxidase Activity and Light Emission of the Mycelium of the Basidiomycete *Neonothopanus Nambi* in the Presence of  $\beta$ -glucosidase / O.A. Mogilnaya, N.O. Ronzhin, V.S. Bondar // *Biophysics*. — 2018. — 63. — P. 93-99.
18. Hsieh C. Production of Polysaccharides from *Ganoderma Lucidum* (CCRC 36041) under Limitations of Nutrients / C. Hsieh, M.H. Tseng, C.J. Liu // *Enzyme and Microbial Technology*. — 2006. — 38. — P. 109-117.
19. Fesel P.H.  $\beta$ -glucan: Crucial Component of the Fungal Cell Wall and Elusive MAMP in Plants / P.H. Fesel, A. Zuccaro // *Fungal Genetics and Biology*. — 2016. — 90. — P. 53-60.
20. Mogilnaya O.A. Comparative Evaluation of Total Peroxidase and Catalase Activities during Light Emission of Luminous Fungus *Neonothopanus Nambi* / O.A. Mogilnaya, N.O. Ronzhin, V.S. Bondar // *Mycosphere*. — 2016. — 7. — P. 499-510.
21. Qi-he C. Co-cultured Production of Lignin-modifying Enzymes with White-rot Fungi / C. Qi-he, S. Krügener, T. Hirth [et al.] // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. — 2011. — 165. — P. 700-718.
22. Lueangjaroenkit P. Morphological Characteristic Regulation of Ligninolytic Enzyme Produced by *Trametes Polyzona* / P. Lueangjaroenkit, C. Teerapatsakul, L. Chitradon // *Mycobiology*. — 2018. — 46. — P. 396-406.