

**КОФЕЙНАЯ КИСЛОТА СТИМУЛИРУЕТ СВЕЧЕНИЕ МИЦЕЛИЯ ВЫСШИХ ГРИБОВ *NEONOTHOPANUS NAMBI*, *ARMILLARIA BOREALIS* *IN VIVO*****Ронжин Н.О.<sup>1</sup>, Посохина Е.Д.<sup>1</sup>, Ле В.М.<sup>2</sup>, Могильная О.А.<sup>1</sup>, Захарова Ю.В.<sup>3</sup>,  
Сухих А.С.<sup>2</sup>, Бондарь В.С.<sup>1</sup>**<sup>1</sup> Институт биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН

ул. Академгородок, 50/50, г. Красноярск, 660036, РФ; e-mail: roniol@mail.ru

<sup>2</sup> Кемеровский государственный университет

ул. Красная, 6, г. Кемерово, 650000, РФ

<sup>3</sup> Кемеровский государственный медицинский университет

ул. Ворошилова, 22а, г. Кемерово, 650056, РФ

Поступила в редакцию 07.07.2023. DOI: 10.29039/tusjbpс.2023.0592

**Аннотация.** В экспериментах *in vivo* установлено, что добавки кофейной кислоты к пеллетам светящегося мицелия высших грибов *Neonothopanus nambi* и *Armillaria borealis* стимулируют быстрое и значительное (на порядок и более) увеличение интенсивности их световой эмиссии. Высказано предположение, что наблюдаемый эффект активации грибного свечения может быть опосредован окислением кофейной кислоты ферментами лигнинолитического комплекса базидиомицетов (в частности, пероксидазами) с излучением квантов видимого света. При этом в параллельных экспериментах *in vivo* было показано, что добавки гиспидина (предшественник люциферина реакции светоизлучения высших грибов) не влияли на интенсивность световой эмиссии мицелия. В то же время, в исследованиях *in vitro* установлено, что кофейная кислота существенным образом подавляет активированную НАДФН и гиспидином реакцию излучения люминесцентных систем, выделенных из мицелия базидиомицетов *N. nambi* и *A. borealis*. Ингибирующий эффект кофейной кислоты рассматривается и обсуждается в работе с позиций понятия классической биохимии об ингибировании фермента продуктом реакции по принципу обратной отрицательной связи. В целом, результаты проведенных исследований развивают и дополняют представления о механизмах светоизлучения высших грибов и свидетельствуют в пользу того, что генерация квантов видимого света в базидиомицетах может осуществляться разными биохимическими путями с участием разных ферментов (или ферментных систем). Установление механизма стимуляции биолюминесценции высших грибов *in vivo* кофейной кислотой является приоритетной задачей дальнейших исследований.

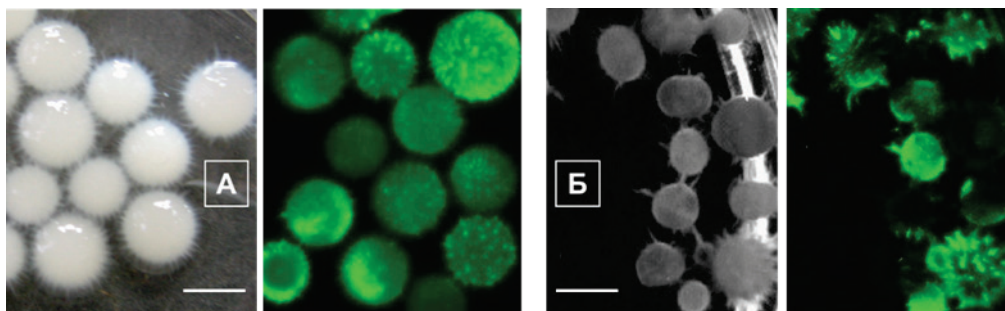
**Ключевые слова:** светящиеся высшие грибы, базидиомицеты, светящийся мицелий, грибные люминесцентные системы, кофейная кислота, гиспидин, восстановленные пиридиновые нуклеотиды.

Излучение видимого света живыми организмами (биолюминесценция) – широко распространенное явление в царстве грибов [1-3]. В настоящее время известно более 100 видов базидиомицетов, обладающих видимым в темноте свечением [4]. В исследованиях грибной биолюминесценции за последнее десятилетие достигнуты заметные успехи, однако молекулярные механизмы этого феномена, по-прежнему, недостаточно понятны и требуют дополнительного изучения. К настоящему моменту считается доказанным, что прекурсором люциферина светящихся грибов является гиспидин (ГП), трансформируемый НАДФН-зависимой гидроксилазой в люциферин (3-гидроксиписпидин), который окисляется люциферазой с излучением кванта видимого света [5]. Образующийся в результате катализируемой люциферазой реакции нестабильный высокоэнергетический компонент излучает свет и превращается в оксиписпидин, который преобразуется в 3,4-дигидроксикоричную (кофейную) кислоту под действием кофеилпируват-гидролазы [4,6]. В свою очередь, известно, что ГП образуется из кофейной кислоты (КК) в ее цикле под действием гиспидин-синтазы [7]. При этом следует отметить, что до сих пор остается неясно: какой фермент (или ферментный комплекс) выполняет в светящихся высших грибах функцию люциферазы, так как он не выделен в чистом виде и не охарактеризован; является ли люциферин-люциферазный механизм единственным механизмом грибного светоизлучения; является ли 3-гидроксиписпидин единственным субстратом люминесцентной реакции грибов. Надо сказать, что в недавних исследованиях нами были получены экспериментальные факты в пользу участия в видимом свечении высших грибов ассоциированной с мембранами ЭПР системы цитохрома P450 с вовлечением в этот процесс электронно-транспортных ферментных систем: НАДФН-зависимая редуктаза цитохрома P450 – цитохром P450 и НАДФН-зависимая редуктаза цитохрома b5 – цитохром b5 – цитохром P450 [8]. В свою очередь, это позволило сделать вывод о том, что в светящихся базидиомицетах генерация квантов видимого света может обеспечиваться разными биохимическими путями – функционированием системы НАДФН-зависимая гидроксилаза – люцифераза [5] и системы цитохрома P450 [8]. Необходимо также отметить, что в экспериментах с плодовыми телами светящегося базидиомицета *Muscena chlorophos* было обнаружено увеличение интенсивности свечения живых пластинок шляпки гриба под действием КК [9]. Автор этой работы в дальнейших исследованиях с плодовыми телами *M. chlorophos* высказал предположение, что активация свечения живых пластинок КК не связана с образованием ГП, поскольку добавки ГП не влияли на уровень их световой эмиссии [10,11]. В

предлагаемой работе приводятся экспериментальные данные об эффектах кофейной кислоты *in vivo* и *in vitro* на биолюминесценцию высших грибов *Neonothopanus nambi* и *Armillaria borealis*.

В исследованиях использовали мицелий высших грибов *N. nambi* (штамм IBSO 2391) и *A. borealis* (штамм IBSO 2328) из Коллекции культур микроорганизмов ССIBSO 836 Института биофизики ФИЦ КНЦ СО РАН (Красноярск). Эксперименты проводили с шарообразными пеллетами светящегося мицелия, которые получали при культивировании базидиомицетов в погруженных условиях в жидкой питательной среде PDB («HiMedia Laboratory», Индия) [12,13]. Выращенные пеллеты извлекали из питательной среды, многократно промывали деионизированной (ДИ) водой (Milli-Q system, «Millipore», США), инкубировали в ДИ воде в течение 10-12 часов при медленном перемешивании со скоростью 60-80 rpm (шейкер OS-10, «BIOSAN», Латвия) для более полного удаления остатков питательной среды и метаболитов. Отмытые пеллеты мицелия использовали для исследований. Методические особенности получения из биомассы мицелия изучаемых грибов «холодных» экстрактов, содержащих ферментные люминесцентные системы, подробно изложены нами в предыдущих работах [14,15]. Для проверки функциональной активности выделенных систем использовали НАДФН («Sigma-Aldrich», США) и «горячие» экстракты из мицелия несветящегося гриба *Pholiota squarrosa* (штамм IBSO 2376), поскольку известно, что в биомассе данного гриба содержится ГП [5]. Выше уже сообщалось, что ГП является предшественником субстрата реакции светоизлучения высших грибов и преобразуется НАД(Ф)Н-зависимой гидроксилазой в 3-гидроксигиспидин (люциферин), который окисляется люциферазой с излучением квантов видимого света [5]. Исходя из этого, световую эмиссию проверяемых люминесцентных систем активировали последовательными добавками восстановленного пиридинового нуклеотида, необходимого для их функционирования [16,17], и «горячего» экстракта из *P. squarrosa*, содержащего ГП. После этого протестированные «холодные» экстракты, содержащие активные люминесцентные системы, лиофильно высушивали (сушилка лиофильная ЛС-500, Россия) и хранили сухие препараты при -40 °С до момента использования. Показано, что ферменты люминесцентных систем высших грибов проявляют высокую активность после хранения сухих экстрактов в течение трех лет [15]. Для исследований высушенные препараты растворяли в ДИ воде и использовали в экспериментах. Эффекты КК на грибное свечение оценивали в экспериментах *in vivo* (на пеллетах мицелия) и *in vitro* (с использованием люминесцентных систем). КК выделяли из корневищ дикорастущего бодяка девясилородного (*Cirsium helenioides* (L.) Hill) с помощью водно-спиртового извлечения с последующим разделением и очисткой компонентов на сефадексе LH-20 («Sigma-Aldrich», США), модифицированном ванкомицином, доочисткой целевого продукта в условиях ВЭЖХ (хроматограф LC-20 Prominence «Shimadzu», Япония) на колонке Gemini 5 мкм C18 («Phenomenex», США) с подтверждением чистоты выделенного компонента ГХ-МС (газовый хроматограф Agilent 7000 В, «Agilent», США). Влияние КК на свечение пеллет мицелия оценивали следующим образом. Индивидуальные пеллеты помещали в прозрачные пластиковые пробирки объемом 1.5 мл («Erppendorf», Германия), содержащие 300 мкл ДИ воды. Пробирки устанавливали в измерительную камеру люменометра (Glomax® 20/20, «Promega BioSystems Sunnyvale, Inc.», США) и регистрировали исходный уровень свечения пеллет. После этого в образцы аккуратно (без перемешивания) вносили 5 мкл водных растворов КК с концентрацией вещества от 0,02 до 1,0 мг/мл и вновь регистрировали интенсивность и динамику световой эмиссии пеллет. В сравнительных исследованиях вместо КК к образцам пеллет мицелия добавляли 5 мкл водного раствора ГП высокой степени чистоты («Sigma-Aldrich», США) с концентрацией 33 мкМ, который готовили *in situ* последовательными разведениями ДИ водой исходного раствора ГП, приготовленного в метаноле. Эффекты КК на люминесцентные системы базидиомицетов *N. nambi* и *A. borealis* оценивали следующим образом. Прозрачные пробирки («Erppendorf»), содержащие 50 мкл препарата системы, устанавливали в люменометр и регистрировали начальный уровень ее световой эмиссии. Затем к препарату добавляли 5 мкл раствора 10 мМ НАДФН, приготовленного *in situ* в ДИ воде, и повторно регистрировали интенсивность и динамику свечения. Световые сигналы, регистрируемые после добавки НАДФН, с одной стороны указывают на наличие в тестируемых препаратах люминесцентных систем *N. nambi* и *A. borealis* эндогенного ГП, который утилизируется в ходе реакции светоизлучения, с другой – являются показателем активности ферментов люминесцентной системы [18]. После снижения иницированного НАДФН светового сигнала до стационарного уровня к препарату системы добавляли 5 мкл экстракта *P. squarrosa*, содержащего ГП, вновь регистрируя интенсивность и динамику световой эмиссии. В данном случае, после выхода светового сигнала на максимальный уровень к препарату системы добавляли 5 мкл раствора КК, оценивая ее эффект по изменению интенсивности и динамики свечения. Во всех рассматриваемых выше случаях тестирования люминесценции, интенсивность и динамику световых сигналов регистрировали на люменометре (Glomax® 20/20) в режиме одно измерение в секунду и выражали уровень световой эмиссии в относительных единицах.

В работе было показано, что при использованных экспериментальных условиях погруженного культивирования (объем питательной среды, объем инокулята, постоянное радиальное перемешивание культивируемого объема, температура и время выращивания) рост мицелия базидиомицетов *N. nambi* и *A. borealis* наблюдается в виде шарообразных пеллет с большим количеством поверхностных выростов – гиф (рис. 1). Как видно из представленных данных, выращенные в погруженных условиях пеллеты мицелия изучаемых грибов, после их отмывки ДИ водой и инкубации в течение длительного времени в ДИ воде для удаления остатков питательной среды и метаболитов обладают регистрируемым свечением. Для полученных



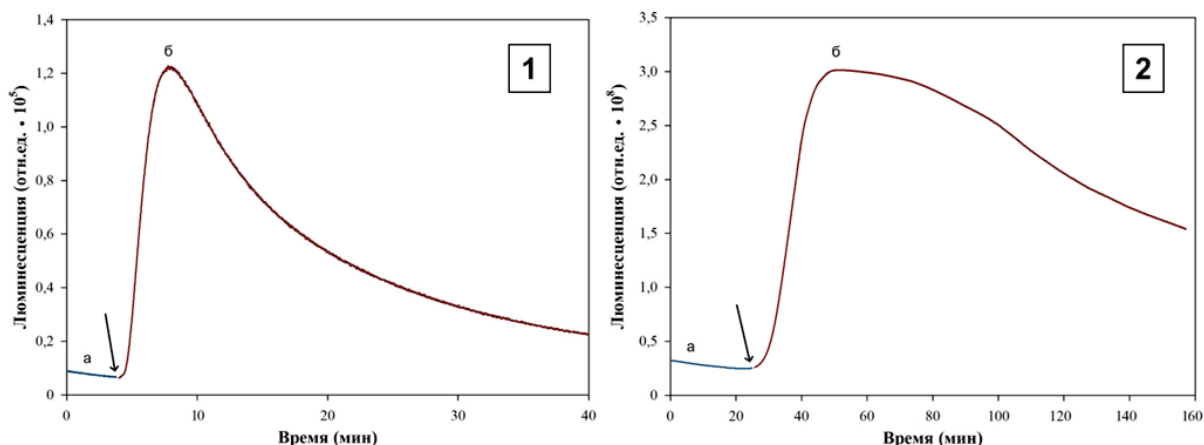
**Рисунок 1.** Внешний вид (слева) и свечение (справа) пеллет мицелия высших грибов *N. nambi* (А) и *A. borealis* (Б), полученных при культивировании в погруженных условиях. Изображения получены с помощью системы визуализации ChemiDoc™ XRS System («Bio-Rad», США). Масштабная линейка – 5 мм

индивидуальных пеллет мицелия наблюдаются различия в размерах, количестве поверхностных выростов и интенсивности свечения (рис. 1), что согласуется с результатами наших предыдущих работ по глубинному культивированию базидиомицетов *N. nambi* и *A. borealis* [12,13].

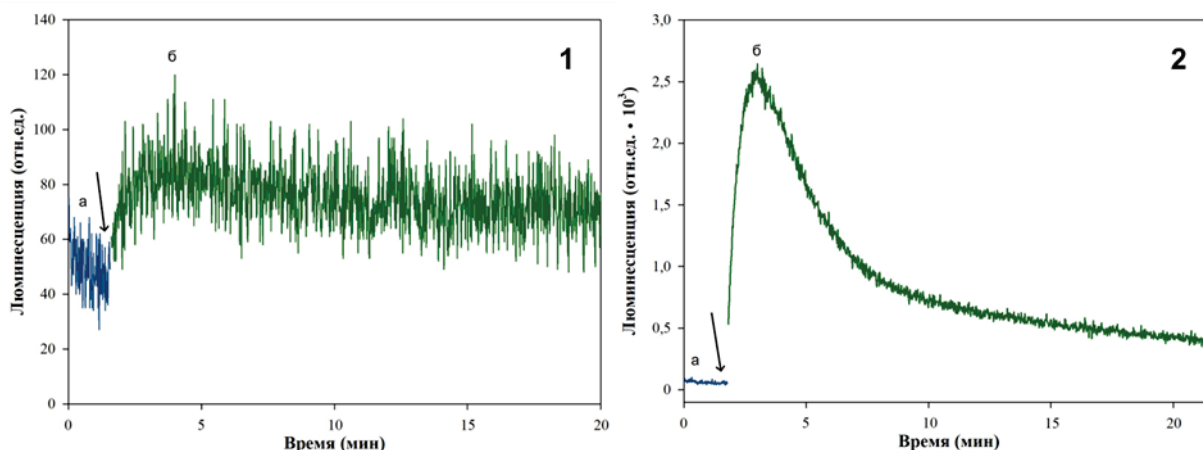
В исследованиях *in vivo* было установлено, что добавки КК (содержание вносимого в тестируемую пробу вещества от 0,1 до 5 мкг) к пеллетам светящегося мицелия грибов *N. nambi* и *A. borealis* стимулируют быстрое увеличение уровня их световой эмиссии, который может значительно (на порядок и более) превышать исходный уровень свечения (рис. 2). Как видно из представленных данных, повышение интенсивности светоизлучения пеллет регистрируется уже в течение первой минуты после добавления КК. В экспериментах было установлено, что стимулирующий свечение эффект КК является дозозависимым и нарастает с увеличением ее количества, добавляемого к пеллетам. Это следует из анализа максимального уровня свечения пеллет, стимулированного добавками разных количеств КК, и площадей под кривыми регистрируемых люминесцентных сигналов, отражающих суммарный квантовый выход. В то же время, в сравнительных экспериментах было показано, что добавки к пеллетам мицелия базидиомицетов *N. nambi* и *A. borealis* коммерческого высокоочищенного ГП, не вызывали сколько-нибудь заметных изменений в уровнях их световой эмиссии. По крайней мере, не было зарегистрировано каких-либо изменений в интенсивности свечения пеллет при добавках к образцам 5 мкл водного раствора высокоочищенного ГП с концентрацией 33 мкМ.

Данные, полученные нами в исследованиях *in vivo* со светящимся мицелием двух видов высших грибов (*N. nambi* и *A. borealis*) (рис. 2), согласуются с результатами активации КК свечения живых пластинок шляпки гриба *M. chlorophos* [9,10]. С одной стороны, это позволяет с большой долей уверенности предполагать, что стимулирующий свечения *in vivo* эффект КК является общим для всех видов базидиальных грибов, обладающих биолюминесценцией. В то же время, быстрая (в пределах одной минуты) кинетика развития люминесцентных сигналов при добавках КК к пеллетам мицелия *N. nambi* и *A. borealis* (рис. 2) указывает на то, что она может взаимодействовать с ферментами (или ферментными системами), находящимися на поверхности или в поверхностных структурах клеточной стенки грибов, например, с оксидазными ферментами лигнинолитического комплекса. В свою очередь, это позволяет нам высказать требующую дальнейшего изучения гипотезу, что эффект активации свечения высших грибов *in vivo* может быть опосредован окислением КК оксидазами лигнинолитического комплекса (в частности, пероксидазами) с излучением квантов видимого света.

В экспериментах *in vitro* было показано, что в препаратах люминесцентных систем, выделенных из биомассы мицелия базидиомицетов *N. nambi* и *A. borealis*, наблюдается увеличение уровня световой эмиссии



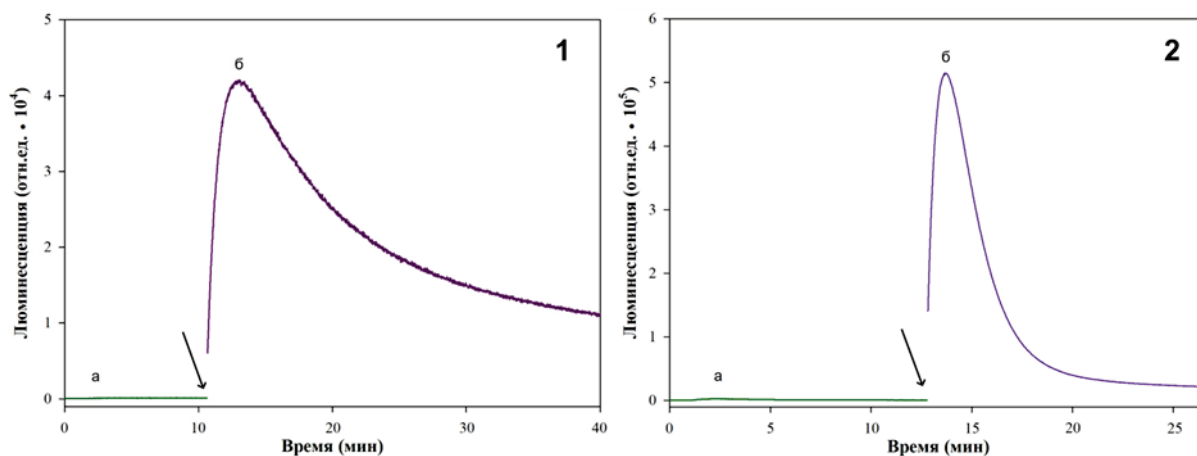
**Рисунок 2.** Стимуляция свечения пеллет мицелия базидиомицетов *N. nambi* (1) и *A. borealis* (2) кофейной кислотой: а – исходный уровень свечения пеллет, б – интенсивность и динамика световой эмиссии пеллет после добавления кофейной кислоты. Стрелками показаны моменты добавки в тестируемые пробы 5 мкл водного раствора кофейной кислоты (количество вносимого вещества 5 мкг)



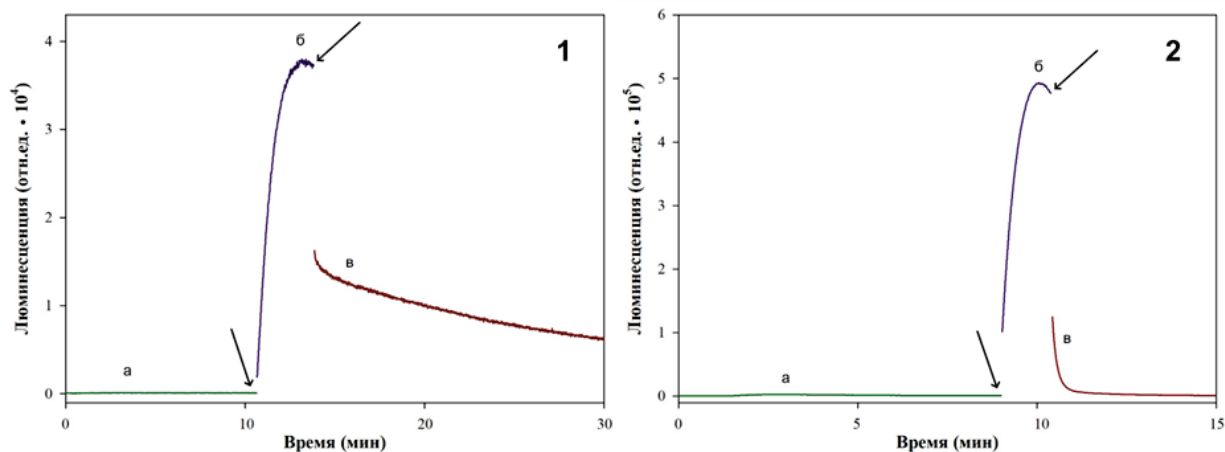
**Рисунок 3.** Стимуляция свечения люминесцентных систем из мицелия высших грибов *N. nambi* (1) и *A. borealis* (2) добавкой НАДФН: а – исходный уровень свечения, б – интенсивность и динамика светового сигнала после добавления восстановленного пиридинового нуклеотида. Стрелками показаны моменты внесения 5 мкл раствора 10 мМ НАДФН в тестируемые пробы

после добавки НАДФН (рис. 3). Регистрируемые после добавления восстановленного пиридинового нуклеотида световые сигналы указывают на наличие в препаратах люминесцентных систем эндогенного ГП, который утилизируется в реакции излучения. При этом из амплитуды и кинетики световых сигналов видно, что в препарате люминесцентной системы из мицелия *A. borealis* эндогенного ГП содержится существенно больше, по сравнению с препаратом системы из мицелия *N. nambi* (рис. 3). В то же время, наличие световых сигналов свидетельствует также о функциональной активности ферментов обеих систем, которые обеспечивают реакцию светоизлучения. Это подтверждается результатами оценки интенсивности световой эмиссии при последовательной добавке к системам НАДФН и содержащего ГП экстракта из *P. squarrosa* (рис. 4). Как видно из представленных данных, добавление экстракта к системам вызывает развитие люминесцентных сигналов, амплитуда которых превышает уровни свечения на фоне добавленного НАДФН на 2 порядка и более.

В то же время, в исследованиях *in vitro* было установлено, что КК подавляет светоизлучение люминесцентных систем из мицелия базидиомицетов *N. nambi* и *A. borealis*, активированных НАДФН и содержащим ГП экстрактом из мицелия гриба *P. squarrosa* (рис. 5). В экспериментах было показано, что ингибирующий свечение эффект КК нарастает от ее количества, вносимого в пробу в диапазоне 0,1 – 5 мкг. Мы полагаем, что экспериментально наблюдаемое ингибирование активности люминесцентных систем КК может объясняться с точки зрения классической биохимии, поскольку согласуется с понятием об ингибировании фермента продуктом реакции по принципу обратной отрицательной связи. В нашем случае, такой механизм действия КК представляется вполне правомочным, поскольку она является конечным продуктом трансформации ГП в светоизлучении высших грибов [4,6].



**Рисунок 4.** Стимуляция свечения люминесцентных систем из мицелия высших грибов *N. nambi* (1) и *A. borealis* (2) последовательными добавками НАДФН и «горячего» экстракта из мицелия несветящегося гриба *P. squarrosa*: а – уровень свечения систем после добавки 5 мкл раствора 10 мМ НАДФН, б – амплитуда и динамика светового сигнала после добавления экстракта. Стрелками показаны моменты внесения 5 мкл экстракта в тестируемые пробы



**Рисунок 5.** Эффект ингибирования кофейной кислотой свечения люминесцентных систем из мицелия базидиомицетов *N. namibi* (1) и *A. borealis* (2), активированного НАДФН и экстрактом из мицелия гриба *P. squarrosa*: а – уровень свечения систем после добавки 5 мкл раствора 10 мМ НАДФН, б – интенсивность световой эмиссии систем после добавки 5 мкл экстракта, в – динамика светового сигнала после добавления 5 мкл водного раствора кофейной кислоты (количество вносимого вещества 5 мкг). Стрелками показаны моменты внесения в тестируемые пробы экстракта и кофейной кислоты, соответственно

В целом, результаты проведенных исследований развивают и дополняют представления о механизмах светоизлучения высших грибов. Они свидетельствуют в пользу того, что генерация квантов видимого света в базидиомицетах может осуществляться разными биохимическими путями с участием разных ферментов (или ферментных систем) и разных субстратов. Это дает основания рассматривать регистрируемое (и визуально наблюдаемое) светоизлучение высших грибов, как интегральный показатель функционирования нескольких ферментных систем, в частности, системы НАД(Ф)Н-зависимая гидроксилаза – люцифераза [5], системы цитохрома P450 [8] и, по-видимому, оксидазных ферментов лигнинолитического комплекса. Исходя из этого, установление механизма стимуляции свечения базидиомицетов *in vivo* кофейной кислотой является одной из приоритетных задач дальнейших исследований.

*Исследования выполнены в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (проект № 0287-2021-0016).*

#### Список литературы / References:

1. Shimomura O. *Bioluminescence: chemical principles and methods*. Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 2006, 470 p.
2. Desjardin D.E., Oliveira A.G., Stevani C.V. Fungi bioluminescence revisited. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 2008, vol. 7, no. 2, doi: 10.1039/b713328f.
3. Bondar V.S., Shimomura O., Gitelson J.I. Luminescence of higher mushrooms. *Journal of Siberian Federal University. Biology*, 2012, vol. 4, no. 5, pp. 331-351.
4. Ke H.-M., Tsai I.J. Understanding and using fungal bioluminescence – recent progress and future perspectives. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 2022, vol. 33, art. 100570, doi: 10.1016/j.cogsc.2021.100570.
5. Purtov K.V., Petushkov V.N. et al. The chemical basis of fungal bioluminescence. *Angewandte Chemie International Edition*, 2015, vol. 54, no. 28, doi: 10.1002/anie.201501779.
6. Kotlobay A.A., Sarkisyan K.S. et al. Genetically encodable bioluminescent system from fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2018, vol. 115, no. 50, doi: 10.1073/pnas.1803615115.
7. Mitiouchkina T., Mishin A.S. et al. Plants with genetically encoded autoluminescence. *Nature Biotechnology*, 2020, vol. 38, no. 8, doi: 10.1038/s41587-020-0500-9.
8. Ronzhin N.O., Posokhina E.D., Mogilnaya O.A., Puzyr A.P., Gitelson J.I., Bondar V.S. Cytochrome P450 system may be involved in the light emission of higher fungi. *Russian Journal of Biological Physics and Chemistry*, 2022, vol. 7, no. 2, doi: 10.29039/rusjbp.2022.0522.
9. Teranishi K. Second bioluminescence-activating component in the luminous fungus *Mycena chlorophos*. *Luminescence*, 2017, vol. 32, no. 2, doi: 10.1002/bio.3165.
10. Teranishi K. A combination of NADHP and hispidin is not essential for bioluminescence in luminous fungal living gills of *Mycena chlorophos*. *Luminescence*, 2017, vol. 32, no. 5, doi: 10.1002/bio.3265.
11. Teranishi K. Trans-3-hydroxyhispidin is not an actual bioluminescence substrate in pileus gills of the luminous fungus *Mycena chlorophos*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, vol. 504, no. 1, doi: 10.1016/j.bbrc.2018.08.153.
12. Mogilnaya O.A., Ronzhin N.O., Artemenko K.S., Bondar V.S. Morphological properties and levels of extracellular peroxidase activity and light emission of the basidiomycete *Armillaria borealis* treated with  $\beta$ -glucosidase and chitinase. *Mycosphere*, 2017, vol. 8, doi: 10.5943/mycosphere/8/4/11.

13. Mogilnaya O., Ronzhin N., Posokhina E., Bondar V. Extracellular oxidase from the *Neonothopanus nambi* fungus as a promising enzyme for analytical applications. *The Protein Journal*, 2021, vol. 40, no. 5, doi: 10.1007/s10930-021-10010-z.
14. Bondar V.S., Puzyr A.P., Purtov K.V., Petunin A.I., Burov A.E., Rodicheva E.K., Medvedeva S.E., Shpak B.A., Tyaglik A.B., Shimomura O., Gitelson J.I. Isolation of luminescence system from the luminescent fungus *Neonothopanus nambi*. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2014, vol. 455, no. 1, doi: 10.1134/S1607672914020045.
15. Puzyr A.P., Medvedeva S.E., Artemenko K.S., Bondar V.S. Luminescence of cold extracts from mycelium of luminous basidiomycetes during long-term storage. *Current Research in Environmental and Applied Mycology*, 2017, vol. 7, doi: 10.5943/cream/7/3/9.
16. Airth R.L., McElroy W.D. Light emission from extracts of luminous fungi. *Journal of Bacteriology*, 1959, vol. 77, doi: 10.1128/jb.77.2.249-250.1959.
17. Airth R.L., Foerster G.E. The isolation of catalytic components required for cell-free fungal bioluminescence. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1962, vol. 97, doi: 10.1016/0003-9861(62)90124-8.
18. Puzyr A.P., Medvedeva S.E., Burov A.E., Zernov Yu.P., Bondar V.S. Detection of hispidin by a luminescent system from basidiomycete *Armillaria borealis*. *Doklady Biochemistry and Biophysics*, 2018, vol. 480, no. 1, doi: 10.1134/S1607672918030146.

**CAFFEIC ACID STIMULATES *IN VIVO* LUMINESCENCE OF THE MYCELIA OF THE HIGHER FUNGI  
*NEONOTHOPANUS NAMBI* AND *ARMILLARIA BOREALIS***

**Ronzhin N.O.<sup>1</sup>, Posokhina E.D.<sup>1</sup>, Le V.M.<sup>2</sup>, Mogilnaya O.A.<sup>1</sup>, Zakharova Ju.V.<sup>3</sup>, Sukhikh A.S.<sup>2</sup>, Bondar V.S.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Biophysics FRC KSC SB RAS

*Akademgorodok str., 50/50, Krasnoyarsk, 660036, Russia; e-mail: roniol@mail.ru*

<sup>2</sup>Kemerovo State University

*Krasnaya str., 6, Kemerovo, 650000, Russia*

<sup>3</sup>Kemerovo State Medical University

*Voroshilova str., 22a, Kemerovo, 650056, Russia*

Received 07.07.2023. DOI: 10.29039/rusjbp.2023.0592

**Abstract.** *In vivo* experiments have shown that the addition of caffeic acid to the luminous mycelia of the higher fungi *Neonothopanus nambi* and *Armillaria borealis* stimulates a rapid and significant (by an order of magnitude or more) increase in the intensity of their light emission. It has been suggested that the observed effect of fungal luminescence activation may be mediated by the oxidation of caffeic acid by enzymes of the ligninolytic complex of basidiomycetes (in particular, by peroxidases) with the emission of visible light quanta. Comparative *in vivo* experiments showed that the addition of hispidin (the precursor of luciferin in the light emission reaction of higher fungi) did not affect the intensity of bioluminescence of the mycelia. At the same time, *in vitro* studies found that caffeic acid significantly suppressed the NADPH-hispidin-activated emission reaction of luminescent systems isolated from the mycelia of *N. nambi* and *A. borealis*. The inhibitory effect of caffeic acid is considered and discussed in the work from the standpoint of the classical biochemistry concept on enzyme inhibition by the reaction product according to the negative feedback principle. In general, the results obtained develop and supplement the understanding of the mechanisms of light emission in higher fungi and testify in favor of the fact that the generation of visible light quanta in basidiomycetes can be carried out by different biochemical pathways involving different enzymes (or enzyme systems). Clarifying the mechanism of stimulation of *in vivo* bioluminescence of higher fungi by caffeic acid is a priority for further research.

**Key words:** *luminous higher fungi, basidiomycetes, luminous mycelium, fungal luminescent systems, caffeic acid, hispidin, reduced pyridine nucleotides.*