

# ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ ЭНДО-И ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ В ВОДЕ

## FLUORESCENCE SPECTROSCOPY OF ENDO-AND EXOMETABOLITES OF SOME MICROSCOPIC FUNGI SPECIES IN WATER

Для выявления флуоресцентных особенностей грибных метаболитов проведены спектральные исследования культуральной жидкости и водной суспензии грибных спор шести штаммов разнопигментированных микроскопических мицелиальных грибов — типичных обитателей водных и наземных биотопов, потенциальных патогенов и агентов биокоррозии материалов. Все изученные штаммы, *Trichoderma harzianum*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus ustus*, *A. terreus* и *Fusarium solani*, разделены на три группы в зависимости от паттернов флуоресценции при длинах волн возбуждения 280, 310 и 370 нм. Первую группу составляют *A. alternata*, *C. cladosporioides* и *A. terreus*, экзометаболиты которых представлены меланинами и меланино-подобными соединениями, сходными с гуминовыми веществами по спектральным характеристикам. Паттерны флуоресценции второй группы, представленной образцами *T. harzianum* и *F. solani*, свидетельствуют о превалировании в спектрах свечения НАД(Ф)Н. Образец *A. ustus*, у которого максимумы испускания флуоресценции располагались в длинноволновой области (500–520 нм), что характерно для флавиновых соединений, отнесен к третьему типу. Инструментальные флуоресцентные методы анализа эффективны для обнаружения в водной среде специфических грибных структур и связанных с ними эндо- или экзометаболитов.

**Ключевые слова:** водные среды, биопленки, мицелиальные грибы, флуоресценция, меланины, НАД(Ф)Н

The spectral studies of cultural liquid and aqueous suspension of fungal spores of six strains of microscopic filamentous fungi with various colors (typical inhabitants of aquatic and terrestrial habitats, potential pathogens and agents of bio-corrosion materials) were carried out for the detection of fluorescent characteristics of fungal metabolites. All studied strains, *Trichoderma harzianum*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus ustus*, *A. terreus*, and *Fusarium solani* were divided into three groups depending on the fluorescence patterns under the excitation at 280, 310, and 370 nm. The first group consisted of *A. alternata*, *C. cladosporioides* and *A. terreus*, whose exometabolites were represented by melanins and melanin-like compounds similar to humic substances by their spectral characteristics. The luminescence of NAD(P)H prevailed in the fluorescence patterns of the second group that was represented by samples of *T. harzianum* and *F. solani*. The maximum emission of sample *A. ustus* that was related to the third type was located in the long wavelength region (500–520 nm), which is typical for flavin compounds. Instrumental fluorescent methods of analysis are effective for detection of specific fungal structures and associated endo — or exometabolites in the aquatic environment.

**Key words:** aquatic environments, biofilms, filamentous fungi, fluorescence, melanins, NAD(P)H

**Е.В. Федосеева\***, кандидат биологических наук, ассистент, ФГБОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России

**С.В. Пацаева**, кандидат физико-математических наук, доцент, физический факультет ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

**В.А. Терехова**, доктор биологических наук, руководитель лаборатории экотоксикологического анализа почв, факультет почвоведения, ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова; профессор, ФГБОУ ВО Российский научно-исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России; ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук

**А.Е. Иванова**, кандидат биологических наук, научный сотрудник, факультет почвоведения Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова; ведущий инженер, ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук

**В.А. Карпов**, доктор технических наук, заместитель директора, ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук

**E.V. Fedoseeva\***, PhD of Biological Sciences, Pirogov Russian National Research Medical University

**S.V. Patsaeva**, PhD of Physical and Mathematical Sciences, Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University

**V.A. Terekhova**, Doctor of Biological Sciences, Head of laboratory, Faculty of Soil Science, Lomonosov Moscow State University; Professor, Pirogov Russian National Research Medical University; Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences

**A.E. Ivanova**, PhD of Biological Sciences, Faculty of Soil Science, Lomonosov Moscow State University; Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences

**V.A. Karpov**, Doctor of Technology Sciences, Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences

\*Адрес для корреспонденции: elenfedoseeva@gmail.com

Е.В. Федосеева и др. // № 10-12 октябрь-ноябрь-декабрь 2018. с. 139–145.

DOI:10.18334/watchemec.11.10-12.139-145

### Значение грибов в водных экосистемах

**М**икроскопические мицелиальные грибы в водных экосистемах такой же неотъемлемый компонент, как и в наземных [1, 2]. Ввиду сложностей применения методических приемов к гидромицетам классическими микологами водные грибы слабо изучены. Плотность распределения их в водных массах далеко неравномерна. Как правило, в жидких средах разнообразные микроорганизмы (грамотрицательные и грамположительные бактерии, простейшие, водоросли и грибы) встроены в матрицу внеклеточных полимерных веществ, состоящую из экзополисахаридов, ДНК и белков [3]. Впервые открытая в 1978 г. специфическая форма существования бактерий в виде биопленок [4] признана преобладающей формой микробной жизни на нашей планете.

Биопленки определяют как особую форму организации микроорганизмов, образующихся на разделе двух фаз, интенсивно обменивающихся генетической информацией и способных координировать свое поведение за счет секреции молекулярных сигналов — *Quorum Sensing*. Для них характерна способность выдерживать концентрации антибиотиков в 100-1000 раз больше, чем планктонные клетки [5]. В 2000 — 2010-е годы стало очевидно, что изучение биопленок полезно во многих практических приложениях: медицинской микологии, микробной экологии природных и промышленных вод. Открытие биопленок приводит к необходимости лучшего понимания механизмов вирулентности и персистенции патогенных микроорганизмов, в числе которых немало мицелиальных форм грибов [6]. Практическая значимость изучения планктонной и биопленочной форм обитания микроорганизмов в водных средах обусловлена актуальностью повышения эффективности биоцидной защиты конструкций и сооружений.

Биопленки бактериального и дрожжевого происхождения лучше исследованы, чем биопленки, образованные с участием мицелиальных грибов [4, 7]. Вместе с тем, показано, что модели формирования биопленки как мицелиальными грибами, так и не мицелиальными формами (бактериями и дрожжами), очень схожи [8].

В экологической группе водных грибов выделяют первичноводные и вторичноводные виды, типичные для наземных местообитаний [9, 10]. Водные грибы вступают в симбиотические отношения с другими обитателями водоемов, действуют как инфицирующие агенты для гидробионтов и человека, вызывают биоповреждения и процессы старения материалов [11-13]. Как и в наземных, в водных экосистемах грибы могут служить индикаторами экологического качества среды, скорости трансформации органического

вещества. Загрязнения и другие деструктивные экологические процессы приводят к структурно-функциональным деформациям грибных сообществ [14, 15]. Очевидно, что обнаружение, идентификация и изучение процессов, протекающих при росте грибов на закрепленном субстрате или в виде планктонных составляющих гидроценозов, представляется необходимым также для оценки биоразнообразия и экологического мониторинга водных экосистем.

К наиболее точным методам обнаружения грибов и их метаболитов относятся требующие специальное оборудование и знания лабораторные методы: культуральные, молекулярно-генетические, хроматография и ЭПР-, ЯМР-спектроскопия [16, 17]. Флуоресцентная спектроскопия является одной из перспективных методик бесконтактных исследований микроорганизмов. Флуоресценция используется для мониторинга биохимических и физиологических процессов в грибных культурах, для обнаружения биогенных флуорофоров без применения красителей, дифференцировки микробных систем, регистрации стрессовых реакций клеток микроорганизмов [18-20].

Представляется важным широкое внедрение инструментальных методов в микробную экологию водных экосистем [21]. Флуоресцентные измерения, проведенные на грибных структурах, может быть полезным инструментом для оценки грибной биомассы, эндо- и экзометаболитов и связанной с ними вирулентности. Настоящее исследование посвящено выявлению флуоресцирующих метаболитов культур микроскопических мицелиальных грибов в водных средах с использованием спектральных методов анализа.

## Материалы и методы исследований

### Грибные культуры

**И**сследования проводились на шести изолятах разнопигментированных мицелиальных грибов, принадлежащих к широко распространенным в водных средах видам: зеленого оттенка *Trichoderma harzianum* Rifai; темнопигментированные *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl и *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) G. A. de Vries; темный с желтым оттенком *Aspergillus ustus* (Bainier) Thom&Church; темный с розовым оттенком *A. terreus* Thom, и непигментированный *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. Культуры предоставлены из коллекции кафедры биологии почв факультета почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова. Исследуемые виды являются активными продуцентами вторичных метаболитов и токсинов, различаются по способности синтезировать меланиновые пигменты, по степени вирулентности и биологической активности.

### Дизайн экспериментов

Мицелиальные культуры грибов выращивались при 22 °С на среде Чапека со следующим минеральным составом (г/л):  $\text{NaNO}_3$ –3,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ –1,0;  $\text{MgSO}_4$ –0,5;  $\text{KCl}$ –0,5;  $\text{FeSO}_4$ –0,001; pH 5,5–6,0. Сахароза добавлялась в качестве источника углерода – 30 г/л. Применялись два метода культивирования: на твердых (минеральная основа, сахароза, 15 г/л агара) и жидких (минеральная основа и сахароза; без агара) средах. В первом случае анализировалась водная суспензия спор с небольшими фрагментами грибных гиф, смытых с мицелиальных колоний, во втором – культуральная жидкость, отделенная от грибных мицелиальных пеллет. Это позволяло разделить вклад в спектральные характеристики флуорофоров внеклеточных (экзо-метаболиты в культуральной жидкости) и внутриклеточных (эндометаболиты спор).

### Спектральные измерения

Спектры излучения флуоресценции измерялись с помощью люминесцентного спектрометра Solar CM2203 на нескольких длинах волн возбуждающего излучения (280, 310, 370 нм) для образцов, помещенных в кварцевые кюветы.

## Результаты и их обсуждение

### Флуоресценция грибов, выращенных на твердой питательной среде

Типичные спектры флуоресценции водных суспензий грибных спор и фрагментов мицелия исследованных микромицетов при возбуждении дли-

ной волны 280 нм состоят из трех перекрывающихся полос: УФ-полоса с максимумом при 300–350 нм, похожая на флуоресценцию белков; широкая полоса с максимумом при 400–500 нм, сходная с флуоресценцией НАД(Ф)Н или меланинов; и полоса с максимумом при 520–560 нм, напоминающая флуоресценцию флавиновых соединений (рис. 1). В спектрах *C. cladosporioides* обнаружены небольшие дополнительные пики при 450–460 нм, что может быть связано с регистрацией свечения эумеланинов [22].

При детальном анализе спектров флуоресценции все изучаемые грибы могут быть разделены на три группы, которые различались особенностями флуоресценции при длинах волн возбуждения 280, 310 и 370 нм (рис. 2).

Первая группа объединяет виды *A. alternata*, *C. cladosporioides* и *A. terreus*, у которых положение максимума испускания флуоресценции (420–460 нм) смещено в синюю область спектра (рис. 3 а,б,е). Спектральные характеристики проб этих грибов напоминают таковые в растворах гуминовых веществ. Это сходство выражается в сложном характере полосы флуоресценции в видимом диапазоне длин волн и близких длинах волн испускания. Максимум испускания флуоресценции гуминовых веществ природной воды или водных почвенных экстрактов обычно находится в диапазоне 420–460 нм [23]. Кроме того, как при флуоресценции гуминового типа, тут наблюдается смещение полосы флуоресценции при изменении длины волны возбуждения, так называемый «синий сдвиг».

Ко второй группе можно отнести виды *T. harzianum* и *F. solani*, максимумы испускания флуоресценции (440–450 нм) которых были одинаковыми при возбуждении на трех длинах волн без

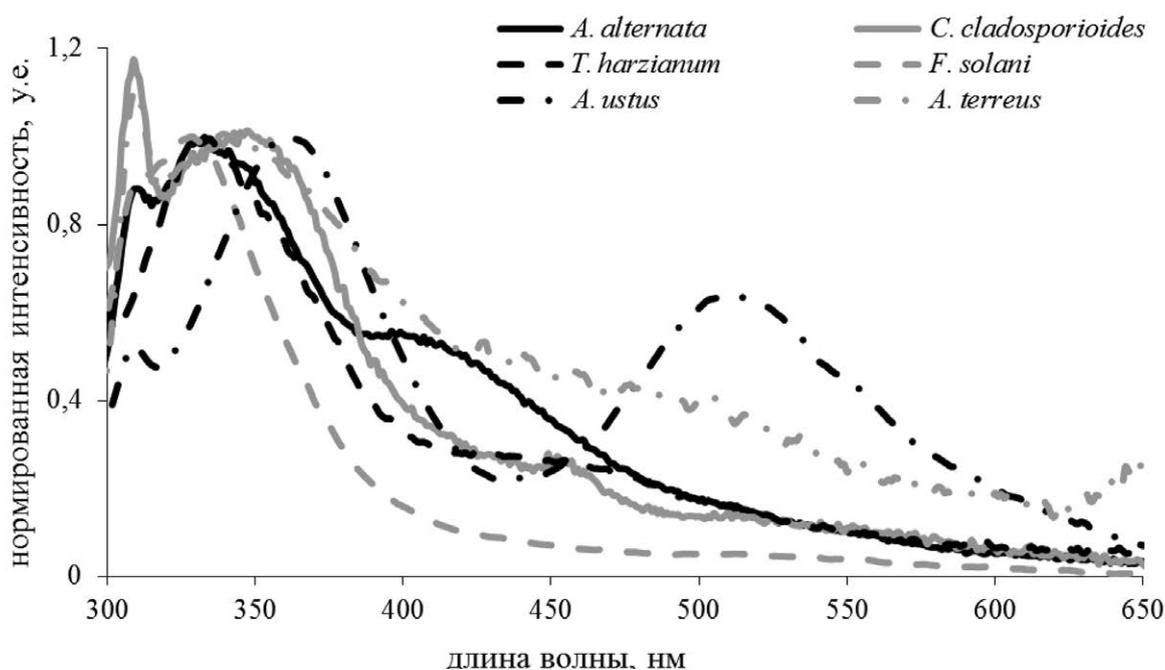


Рис. 1. Спектры испускания флуоресценции метаболитами микроскопических мицелиальных грибов, культивируемых на твердой среде, при возбуждении на 280 нм.

смещения в синюю область спектра (рис. 2в,г). Скорее всего это обусловлено наличием НАД(Ф)Н с более однородными структурами, чем в первой группе видов. Известно, что при возбуждении длиной волны 370 нм наблюдается максимальная интенсивность излучения НАД(Ф)Н [6, 18]. Свободные и энзим-связанные НАД(Ф)Н и меланины имеют перекрывающиеся спектральные характеристики, что вносит сложности в спектральный анализ [24, 25].

Наконец, для образца *A. ustus* максимум испускания флуоресценции расположен в области 500-520 нм, что может свидетельствовать о присутствии флавиновых соединений в исследуемых пробах (рис. 2д).

### Флуоресценция грибов, выращенных в жидкой питательной среде

Типичные спектры флуоресценции образцов грибов, культивируемых в жидких средах, при возбуждении на 280 нм состоят из трех перекрывающихся полос. При этом полной идентичности спектров испускания флуоресценции образцов, полученных на жидких и твердых средах, не наблюдалось (рис. 1, 3).

Различия для образцов *T. harzianum* выражаются в том, что при культивировании в жидких средах регистрируется полоса с максимумом на 510-530 нм, которой не было видно в образцах с твердых сред (рис. 2в, 4в). В образцах *A. alternata* и *A. terreus*, выращенных в жидких средах, широкая полоса в синей области с максимумом при 400-500 нм становится еще слабее по срав-

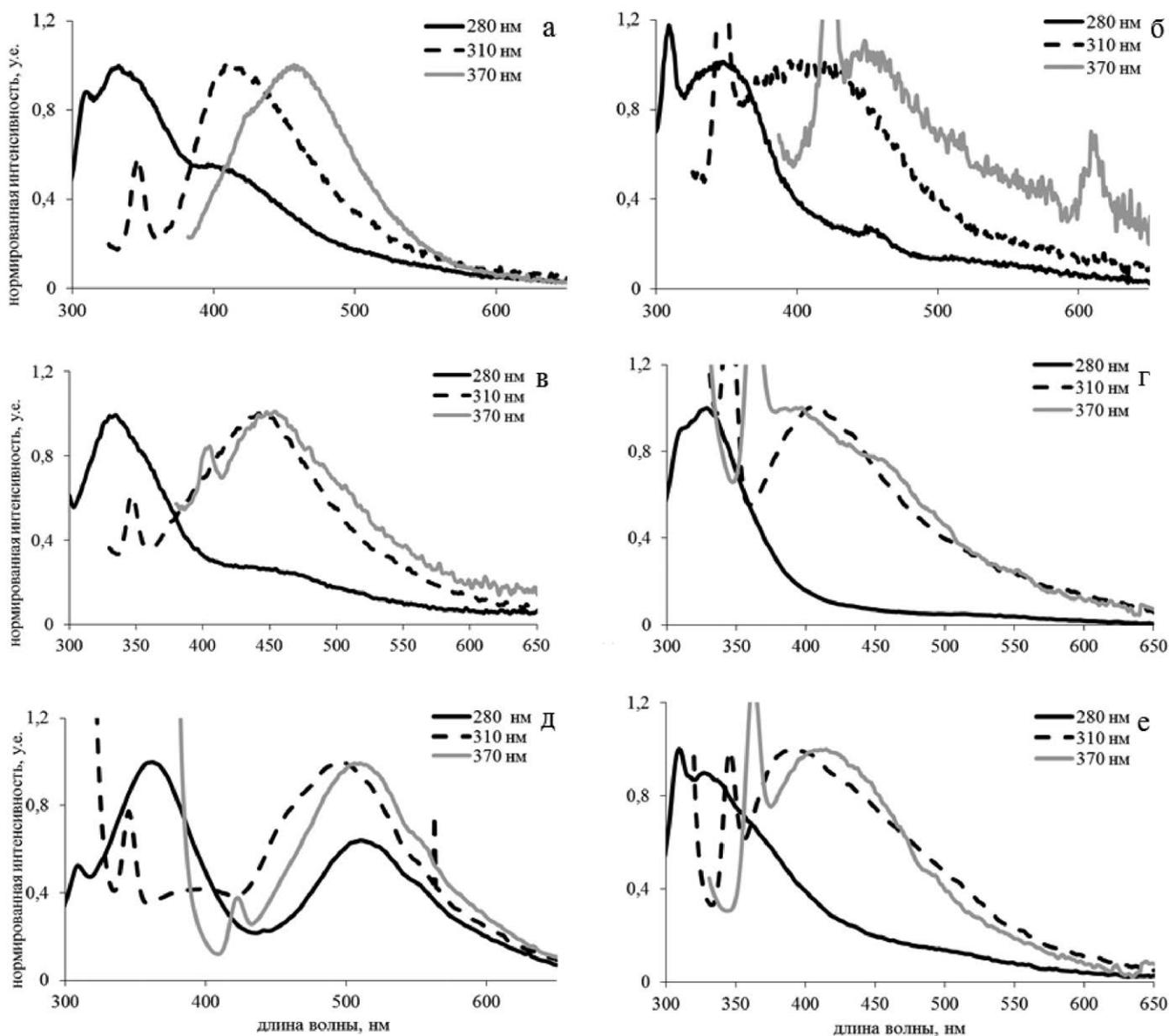


Рис. 2. Спектры испускания флуоресценции метаболитами микроскопических мицелиальных грибов, культивируемых на твердой среде, при возбуждении на 280, 310 и 370 нм: а) *Alternaria alternata*; б) *Cladosporium cladosporioides*; в) *Trichoderma harzianum*; г) *Fusarium solani*; д) *Aspergillus ustus*; е) *A. terreus*.

нению с образцами, выращенными на твердых средах (рис. 2а, 4а, 2е, 4е). В образцах *A. ustus* с жидких сред УФ-полоса с максимумом при 300-350 нм становится менее интенсивной, а полоса с максимумом на 500-510 нм, наоборот, интенсивнее по сравнению с образцами с твердых сред (рис. 2д, 4д).

Эти различия свидетельствуют, скорее всего, о том, что, во-первых, культивирование на жидких средах обеспечивает более эффективное накопление внеклеточных метаболитов. Во-вторых, основным источником флуорофоров в грибах, выращенных на агаризованных средах, являются грибные споры, не образующиеся при культивировании в жидких средах. Авторы [21] предполагают, что характер флуоресценции спор грибов объясняется главным образом присутствием меланинов, защищающих от воздействия ультрафиолетовых солнечных лучей, или флавинов.

## Заключение

К флуоресцирующим молекулам грибов относят никотинамидадениндинуклеотид (НАДН) и его фосфат (НАДФН), триптофан, пиридоксин (витамин В<sub>6</sub>), рибофлавин (витамин В<sub>2</sub>), флавинадениндинуклеотид (ФАД), флавиномононуклеотид (ФМН) и меланины [18, 25]. Флуорофоры грибов могут участвовать в энергетических процессах, патогенезе или защитных клеточных механизмах; им придается большое значение для изучения фундаментальных основ и прикладных аспектов развития грибов [25]. Большинство из этих флуорофоров были зарегистрированы нами в пробах микроскопических мицелиальных грибов. Отмечается, что флуоресцентные измере-

ния достаточно широко применялись для изучения бактериальных и дрожжевых культур [18, 19, 20]. Исследования автофлуоресценции, проведенные на мицелиальных микроскопических грибах, не так многочисленны [24, 25]. Наши исследования в определенной степени восполняют этот пробел.

В результате проведенной работы при исследовании спектров флуоресценции культуральных жидкостей и водных суспензий грибных спор шести разнопигментированных микромицетов, *T. harzianum*, *A. alternata*, *C. cladosporioides*, *A. ustus*, *A. terreus* и *F. solani*, выявлены следующие особенности:

1. Спектры испускания флуоресценции при возбуждении длинами волн 280, 310 и 370 нм состоят из двух-трех перекрывающихся полос: УФ-полосы с максимумом при 300-350 нм, аналогичной флуоресценции белков; широкой полосы в синей области с максимумом при 400-500 нм, напоминающей флуоресценцию НАД(Ф)Н или меланинов, и 520-530 нм, характерной для флавиновых соединений.

2. Условия выращивания влияют на спектральные особенности и интенсивность флуоресценции грибов. Культивирование в жидких средах обеспечивает более эффективное накопление внеклеточных метаболитов (флуорофоров) в образцах. В пробах грибов, выращенных на агаризованных средах, доминирующую долю флуорофоров представляют собой эндометаболиты спор.

3. Спектральные свойства *A. alternata*, *C. cladosporioides* и *A. terreus* аналогичны спектральным свойствам гуминовых веществ. Сходство выражается, во-первых, в сложном характере полосы флуоресценции в видимом диапазоне и схожих длинах волн испускания (максимум испускания в диапазоне 420-460 нм). Во-вторых, в зависимости флуоресценции гуминового типа от длины волны возбуждения, смещение этой полосы излучения в

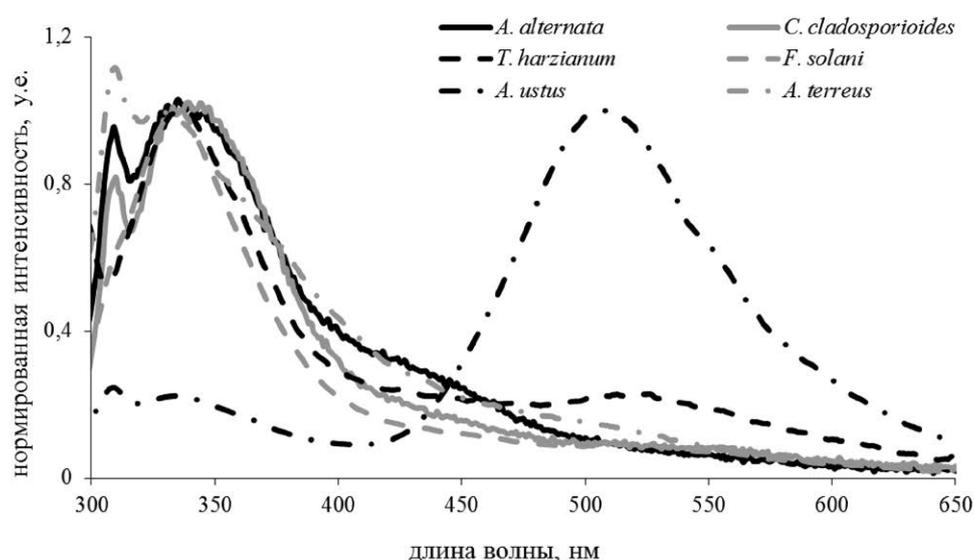
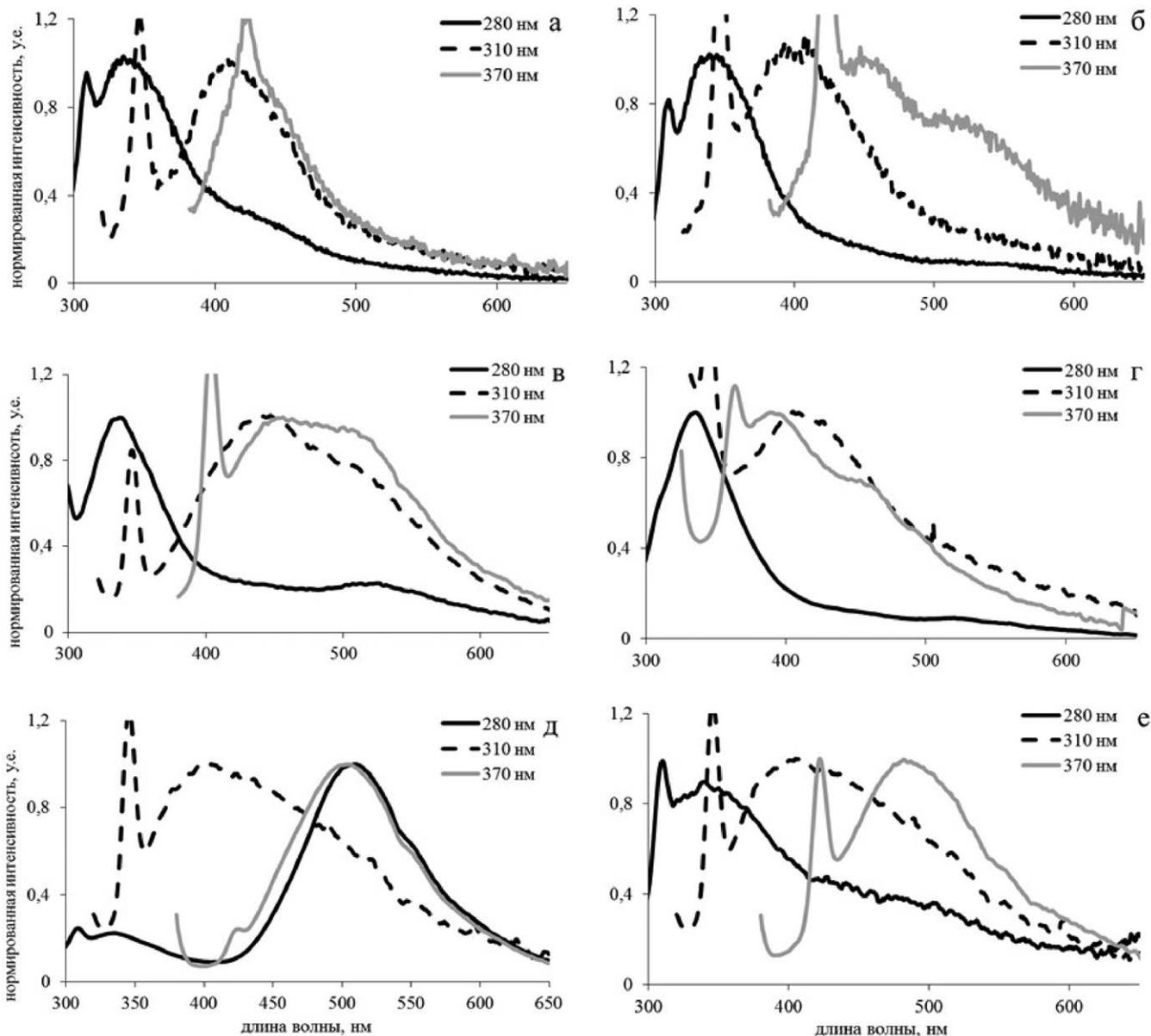


Рис. 3. Спектры испускания флуоресценции метаболитами микроскопических мицелиальных грибов, культивируемых на жидкой среде, при возбуждении на 280 нм.



**Рис. 4.** Спектры испускания флуоресценции метаболитами микроскопических мицелиальных грибов, культивируемых на жидкой среде, при возбуждении на 280, 310 и 370 нм: а) *Alternaria alternata*; б) *Cladosporium cladosporioides*; в) *Trichoderma harzianum*; г) *Fusarium solani*; д) *Aspergillus ustus*; е) *A. terreus*.

сторону более коротких длин волн при увеличении длины волны возбуждения от 270 до 310 нм.

4. Паттерны флуоресценции проб с *T. harzianum* и *F. solani* свидетельствуют о наличии НАД(Ф)Н с более однородными структурами, чем для *A. alternata*, *C. cladosporioides* и *A. terreus*.

5. Максимумы испускания проб с *A. ustus* располагались в более длинноволновой области (500-520 нм), что может быть характерно для флавиновых или каких-либо других специфических соединений.

Полученные паттерны флуоресценции разнопигментированных изолятов могут быть полезны для прогнозных исследований по мониторингу водных экосистем на наличие различных грибных культур, а также для изучения биохимических и физиологических процессов, протекающих в грибных культурах в лабораторных условиях.

*Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (грант 18-016-00078).*

## Литература

1. Одум Ю. Экология. М.: Мир, 1986. Т.1. 328 с.
2. Одум Ю. Экология. М.: Мир, 1986. Т.2. 376 с.
3. Ivleva N.P. Raman microspectroscopy, surface-enhanced Raman scattering microspectroscopy, and stable-isotope Raman microspectroscopy for biofilm characterization / N.P. Ivleva, P. Kubryk, R. Niessner // *Anal. Bioanal. Chem.* 2017. V.409, №18. P. 4353-4375.
4. Costerton J.W. How bacteria stick / J.W. Costerton, G.G. Geesey, K-J. Cheng // *Sci. Amer.* 1978. №238. P. 86-95.
5. El-Azizi M. In vitro activity of vancomycin, quinupristin/dalfopristin, and linezolid against intact and disrupted biofilms of staphylococci / M. El-Azizi, S. Rao, T. Kanchanapoom, N. Khardori // *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* Электронный ресурс: <https://ann-clinmicrob.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-0711-4-2>
6. Farabegoli G. Study on the use of NADH fluorescence measurements for monitoring wastewater treatment systems / G. Farabegoli, C. Hellinga, J.J. Heijnen, M.C.M. van Loosdrecht // *Water Resources.* 2003. V.37, №11. P. 2732-2738.
7. Andrews J.S. Biofilm formation in environmental bacteria is influenced by different macromolecules depending on genus and species / J.S. Andrews, S.A. Rolfe, W.E. Huang, J.D. Scholes, S.A. Banwart // *Environ. Microbiol.* 2010. V.12, №9. P. 2496-2507.
8. Harding M.W. Can filamentous fungi form biofilms? / M.W. Harding, L. Marques, R.J. Howard, M.E. Olson // *Trends in Microbiology.* 2009. V.17, №11. P. 475-480.
9. Shearer C.A. Fungal biodiversity in aquatic habitats / C.A. Shearer, E. Descals, B. Kohlmeyer, J. Kohlmeyer, L. Marvanová, D. Padgett, D. Porter, H.A. Raja, J.P. Schmit, H.A. Thorton, H. Voglymayr // *Biodiversity and Conservation.* 2007. V.16, №1. P. 49.
10. Terekhova V.A. The study of benthic microflora by a near-bottom disk / V.A. Terekhova, T.A. Semenova // *Hydrobiological Journal.* 2001. V.37, №1. P. 67-72.
11. Moh. Al-gabr H. Occurrence and quantification of fungi and detection of mycotoxigenic fungi in drinking water in Xiamen City, China / H. Moh. Al-gabr, Z. Tianling, Y. Xin // *Sci. Total Environ.* 2013. №466-467. P. 1103-1111.
12. Денисов А.А. Биокоррозия бетонных строительных конструкций в контакте с пресной водой / А.А. Денисов, А.М. Ганяев // *Известия Самарского научного центра РАН.* 2011. Т.13, №5(2). P. 158-161.
13. Пивкин М.В. Морские грибы и их метаболиты / М.В. Пивкин, Т.А. Кузнецова, В.В. Сова. Владивосток: Дальнаука, 2006. 248 с.
14. Ivanova A.E. Soil fungal communities as bioindicators of ancient human impacts in medieval settlements in different geographic regions of Russia and southwestern Kazakhstan / A.E. Ivanova, O.E. Marfenina // *Quaternary International.* 2015. V.365, №16. P. 212-222.
15. Терехова В.А. Значение микологических исследований для контроля качества почв // *Почвоведение.* 2007. №5. С. 643-648.
16. Prella A. A new method for detection of five *Alternaria* toxins in food matrices based on LC-APCI-MS / A. Prella, D. Spadaro, A. Garibaldi, M.L. Gullino // *Food Chemistry.* 2013. V.140, №1-2. P. 161-167.
17. Yamada T. Tandyukisin, a novel ketoaldehyde decalin derivative, produced by a marine sponge-derived *Trichoderma harzianum* / T. Yamada, Y. Mizutani, Y. Umebayashi, N. Inno, M. Kawashima, T. Kikuchi, R. Tanaka // *Tetrahedron Letters.* 2014. V.55, №3. P. 662-664.
18. Assawajaruwan S. On-line monitoring of relevant fluorophores of yeast cultivations due to glucose addition during the diauxic growth / S. Assawajaruwan, P. Eckard, B. Hitzmann // *Process Biochemistry.* 2017. №58. P. 51-59.
19. Bhatta H. Use of fluorescence spectroscopy to differentiate yeast and bacterial cells / H. Bhatta, E.M. Goldys, R.P. Learmonth // *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2006. №71. P. 121-126.
20. Podrazky O. Monitoring the growth and stress responses of yeast cells by two-dimensional fluorescence spectroscopy: first results / O. Podrazky, G. Kuncova, A. Krasowska, K. Sigler // *Folia Microbiologica.* 2003. №48. P. 189-192.
21. Saari S.E. Fluorescence spectroscopy of atmospherically relevant bacterial and fungal spores and potential interferences / S.E. Saari, M.J. Putkiranta, J. Keskinen // *Atmospheric Environment.* 2013. №71. P. 202-209.
22. Perna G. Fluorescence properties of natural eumelanin biopolymer / G. Perna, G. Palazzo, A. Mallardi, V. Capozzi // *Journal of Luminescence.* 2011. №131. P. 1584-1588.
23. Gosteva Yu.O. Fluorescence of aqueous solutions of commercial humic products / Yu.O. Gosteva, A.A. Izosimov, S.V. Patsaeva, O.S. Yakimenko, V.I. Yuzhakov // *Journal of Applied Spectroscopy.* 2012. V.78, №6. P. 884-891.
24. Herbrich S. Label-free spatial analysis of free and enzyme-bound NAD(P)H in the presence of high concentrations of melanin / S. Herbrich, M. Gehder, R. Krull, K.H. Gericke // *Journal of Fluorescence.* 2012. V.22, №1. P. 349-355.
25. Knaus H. Label-free fluorescence microscopy in fungi / H. Knaus, G.A. Blab, G.J. Van Veluw, H.C. Gerritsen, H.A.B. Wösten // *Fungal biology reviews.* 2013. №27. P. 60-66.