

УДК 579.64

БИОСИНТЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ**А.А. Далинова, Н.С. Волосатова, А.О. Берестецкий***Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, azhukomi@mail.ru*

Вторичные метаболиты грибов являются важным источником новых биологически активных веществ. Наиболее простой и эффективный подход к их поиску заключается в вариации легко изменяемых параметров культивирования грибов для получения множества соединений из одного штамма. К таким параметрам относятся способ культивирования, вид и соотношение источников углерода и азота, наличие микроэлементов и витаминов, pH питательной среды, условия аэрации и др.

Ключевые слова: вторичные метаболиты, параметры культивирования, микромицеты.

Вторичные метаболиты грибов являются одним из основных источников новых биологически активных соединений – антибиотиков, фитотоксинов, противоопухолевых, противовирусных, фунгицидных веществ и др.

Классический подход к поиску новых биологически соединений заключается в культивировании целевого микроорганизма на стандартных питательных средах, анализе культуральных фильтратов, экстракции и последующем выделении соединений хроматографическими методами. Используя этот подход и стандартные методики оценки биологической активности можно получить из каждого штамма исследуемого микроорганизма в лучшем случае 1–2 соединения с интересующим типом активности. Однако секвенирование геномов хорошо изученных микроорганизмов предсказывает гораздо больший синтетический потенциал, включающий в себя синтез как поликетидов и нерибосомальных пептидов, так и органических соединений других классов. Такие «молчащие» пути вторичного метаболизма представляют собой значительный интерес для поиска новых биологически активных веществ [Bode, 2002, Tudzinsky, 2014].

Вторичный метаболизм грибов контролируется с помощью комплекса регуляторных белков, которые отвечают различным стимулам окружающей среды. К таким стимулам относятся источники углерода и азота в питательной среде, температура, условия освещения, pH, наличие в среде необходимых аминокислот, активных формы кислорода, условия аэрации, образование биопленок и доступность микроэлементов, а также химические стимулы от других организмов [Craney, 2013]. Наиболее простой и эффективный подход к поиску новых биологически активных веществ заключается в вариации легко изменяемых параметров культивирования для получения множества соединений из одного штамма микроорганизма [Brakhage et al., 2012].

Для грибов рода *Aspergillus* изучено влияние источников углерода и азота на продукцию афлатоксина и стеригматоцистина. Биосинтез этих микотоксинов осуществляется по одной схеме, но в пути биосинтеза стеригматоцистина отсутствуют последние несколько шагов. Афлатоксины образуют грибы *A. flavus* и *A. parasiticus*, а стеригматоцистин – *A. nidulans*. Было показано, что простые сахара в качестве единственного источника углерода в среде стимулируют образование афлатоксинов, в то время как пептон и другие более сложные углеводы не поддерживают их биосинтез [Buchanan, Stahl 1984]. Вид источника азота оказывает различное влияние на продукцию афлатоксина и стеригматоцистина у различных грибов рода *Aspergillus*. Было показано, что присутствие

нитрата в качестве единственного источника азота в среде подавляет синтез предшественников афлатоксина у *A. parasiticus*, но увеличивает выход стеригматоцистина у *A. nidulans* [Calvo et. al., 2002]. Feng и Leonard [1998] пришли к выводу, что несмотря на схожие пути биосинтеза, образование этих микотоксинов регулируется различными механизмами.

В работе Paranagama с соавторами [2007] было показано, что гриб *Paraphaeosphaeria quadrisepata* образует различные мажорные метаболиты при культивировании на питательных средах, приготовленных на основе дистиллированной и водопроводной воды. Было установлено, что высокое содержание ионов Cu^{2+} , Cd^{2+} и Cr^{3+} стимулирует образование моноциллина I в культуре *P. quadrisepata*.

В работе Zhang с соавторами [2013] было оценено влияние способа культивирования на продукцию основных метаболитов *Monascus purpureus* – азафилонов и цитринина – при культивировании на рисовой среде. Содержание микотоксина цитринина в экстрактах из твердофазной культуры гриба было ниже, чем в экстрактах из жидкофазной культуры, в то же время на продукцию азафилонов способ культивирования не оказывал существенного влияния.

В лаборатории фитотоксикологии и биотехнологии ВИЗР мы оценили биосинтетический потенциал фитопатогенного гриба *Alternaria sonchi* при культивировании на различных твердых и жидких питательных средах. В качестве жидких питательных сред были использованы среда Чапека с добавлением витаминов, среды ДМГ и YES. Твердофазное культивирование проводили на перловой, рисовой и пшеничной крупах. Анализ метаболитных профилей, полученных методом ВЭЖХ, показал, что состав экстрактов значительно различался в зависимости от способа культивирования. Состав жидких питательных сред оказал большее влияние на метаболитные профили экстрактов *A. sonchi*, чем вид твердого субстрата; в экстрактах из жидкофазных культур гриба наблюдались качественные различия в составе метаболитных комплексов.

К другим способам повышения биосинтетической активности микроорганизмов можно отнести: методы генетической инженерии (гиперэкспрессия транскрипционных факторов и регуляторов, получение мутантных штаммов), методы эпигенетики (модификация хроматина), ингибирование различных ферментов, со-культивирование с микроорганизмами других видов.

Используя перечисленные подходы, можно получить расширенный набор соединений из одного штамма гриба за счет активации различных путей биосинтеза вторичных метаболитов.

Библиографический список (References)

- Brakhage A.A. Regulation of fungal secondary metabolism // *Nature Reviews Microbiology*. – 2013. – V. 11(1). – P.21–32.
- Buchanan R.L., Stahl H.G. Ability of various carbon sources to induce and support aflatoxin synthesis by *Aspergillus parasiticus* // *Journal of Food Safety*. – 1984. – V. 6(4), No 11. – P. 271–279.
- Calvo A.M., Wilson R.A., Bok J.W., Keller N.P. Relationship between Secondary Metabolism and Fungal Development // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. – 2002. – V. 66, N 3. – P. 447–459.
- Craney A., Ahmed S., Nodwell J. Towards a new science of secondary metabolism // *The Journal of Antibiotics*. – 2013. – P. 1–14.
- Feng G.H., Leonard T.G. Culture Conditions Control Expression of the Genes for Aflatoxin and Sterigmatocystin Biosynthesis in *Aspergillus parasiticus* and *A. nidulans* // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1998. – V. 64, No. 6. – P. 2275–2277.
- Paranagama P.A., Wijeratne K. E.M., Gunatilaka A.A. L. Uncovering Biosynthetic Potential of Plant-Associated Fungi: Effect of Culture Conditions on Metabolite Production by *Paraphaeosphaeria quadrisepata* and *Chaetomium chiwersii* // *J. Nat. Prod.* – 2007. – V. 70. – P. 1939–1945.
- Zhang L., Li Z., Dai B., Zhang W., Yuan Y. Effect of submerged and solid-state fermentation on pigment and citrinin production by *Monascus purpureus* // *Acta Biologica Hungarica*. – 2013. – V. 64(3). P. 385–394.
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 60–61

BIOSYNTHETIC POTENTIAL OF FILAMENTOUS FUNGI

A.A. Dalinova, N.S. Volosatova, A.O. Berestetskiy

All-Russian Institute of Plant Protection, azhukomi@mail.ru

Fungal secondary metabolites are an important source of new bioactive compounds with different types of biological activity – antibiotics, phytotoxins, cytotoxic agents. The most effective method for isolation of new bioactive compounds is variation of cultivation parameters, such as cultivation mode, media composition, carbon and nitrogen source, pH, aeration etc.