

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-114

**ПОЛУЧЕНИЕ НОВОГО ШТАММА *ASPERGILLUS TERREUS*, ОБЛАДАЮЩЕГО АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ В ОТНОШЕНИИ *FUSARIUM OXYSPORUM*****OBTAINING A NEW STRAIN OF *ASPERGILLUS TERREUS* HAVING ANTIFUNGAL ACTIVITY AGAINST *FUSARIUM OXYSPORUM***В. А. Цыганов<sup>1</sup>, Е. В. Глаголева<sup>1</sup>, В. В. Джавахия<sup>1</sup>, Т. М. Воинова<sup>2</sup><sup>1</sup>Российский биотехнологический университет, Москва<sup>2</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, МоскваV.A. Tsyganov<sup>1</sup>, E.V. Glagoleva<sup>1</sup>, V.V. Djavakhia<sup>1</sup>, T.M. Voinova<sup>2</sup><sup>1</sup>Russian Biotechnological University, Moscow<sup>2</sup>All-Russian Research Institute of Phytopathology, Moscow

✉ ts\_wladimir@inbox.ru

**Аннотация**

Путем ступенчатого индуцированного УФ-мутагенеза из штамма *A. terreus* 25-33 — низкопроизводительного продуцента мевинолина (35 мг/л) — получен штамм *Aspergillus terreus* 33-127, обладающий повышенной продуктивностью по целевому вторичному метаболиту (1170 мг/л). Проведены испытания инактивированной биомассы полученного штамма на способность подавлять рост фитопатогенного тест-гриба *Fusarium oxysporum* МР-14-6. Было выявлено, что тестируемый продукт обладает ярко выраженной антифунгальной активностью, подавляя рост тест-культуры более чем на 50 %.

**Abstract**

*Aspergillus terreus* strain 33-127 was obtained from *A. terreus* 25-33 strain, a low-productivity producer of mevinoline (35 mg/l). The obtaining methodology was the stepwise induced UV mutagenesis. The obtained strain has increased productivity in the target secondary metabolite (1170 mg/l). The inactivated biomass of the resulting strain was tested for the ability to inhibit the growth of the phytopathogenic test fungus *Fusarium oxysporum* МР-14-6. It was revealed that the tested product has pronounced antifungal activity by suppressing the growth of the test culture up to over 50 %.

Постоянный поиск новых штаммов микроорганизмов, продуцирующих метаболиты с фунгицидными свойствами, позволяет расширить арсенал средств защиты растений и обеспечить устойчивое развитие сельского хозяйства. Известно о широком разнообразии биоактивных вторичных метаболитов, выделенных из изолятов микелиального гриба *Aspergillus terreus*. Некоторые из них проявили себя в качестве потенциальных антифунгальных агентов [1]. Ранее сотрудниками ВНИИ фитопатологии РАН были выполнены исследования, посвященные изучению фунгицидного потенциала статина, продуцируемого *A. terreus* — мевинолина. Установлено, что добавление мевинолина к агаризованной среде приводило к подавлению роста фитопатогенов *M. Grisea* и *S. Nodorum in vitro* [2]. Важной задачей для разработки антифунгального препарата на основе мевинолина является создание штаммов *A. terreus*, способных сверхпродуцировать целевой метаболит.

**Целью** работы являлось проведение ступенчатого индуцированного ненаправленного УФ-мутагенеза исходного штамма *Aspergillus terreus* 25-33 для повышения его антифунгальной активности в отношении тест-гриба *Fusarium oxysporum*.

**Повышение продуцирования мевинолина путем ненаправленного индуцированного ступенчатого УФ-мутагенеза**

В качестве исходного использовался непатогенный штамм *A. terreus* 25-33 (продуктивность по мевинолину 35 мг/л, 7 сут.), предоставленный сотрудниками лаборатории молекулярной биологии ВНИИ фитопатологии РАН. Выращивание культуры *A. terreus* 25-33 происходило в течение 7 дней на агаризованной среде при 26 °С в термостате. Далее готовилась клеточная суспензия необходимой концентрации. Обработку клеточной суспензии УФ-лучами проводили с использованием эксимерной лампы XeBr модели BD\_P мощностью 12,5 Вт, с длиной волны 220–280 нм. Время облучения подбирали путем построения корреляционных зависимостей времени облучения от выживаемости и количества образовавшихся мутантных колоний (рис. 1).

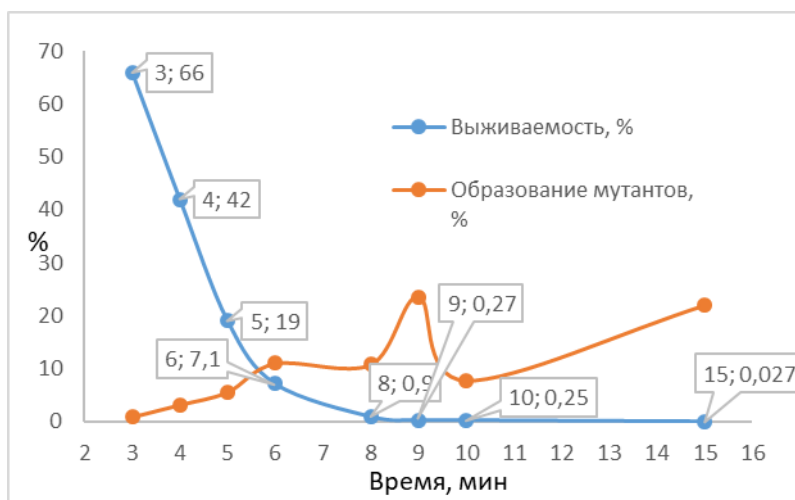


Рис. 1. Зависимость выживаемости колоний и образования мутаций от времени УФ-облучения

Установлены следующие параметры: время облучения 9 мин, расстояние от лампы 40 см. Полученные изоляты размещались на агаризованных средах и инкубировались в течение 7 сут., после чего высевались в ферментационную среду и глубинным методом культивировались в колбах (150 мл) в течение 7 дней. Количественное содержание мевинолина в культуральной жидкости определялось методом ВЭЖХ с УФ-спектрометрическим детектированием. Далее для обработки УФ-лучами последовательно использовали колонии с измененной морфологией и повышенной продуктивностью, полученные в предыдущем мутагенезе. В результате был получен штамм *A. terreus* 33-127 с продуктивностью по мевинолину 1170 мг/л (7 сут.).

#### Испытание лиофилизированной биомассы *A. terreus* на антифунгальную активность

Выращенную на 7-е сутки биомассу *A. terreus* инактивировали при температуре 80 °С в течение 30 мин и лиофилизировали. Полученную сухую биомассу использовали для определения антифунгальной активности методом радиального роста тест-патогена. Биомассу суспендировали и вносили в агаризованную среду до получения конечной концентрации — 1,0 г/л. В качестве тест-патогена использовался фитопатогенный штамм *Fusarium oxysporum* МР-14-6, предоставленный из Государственной коллекции фитопатогенных микроорганизмов ВНИИ фитопатологии РАН. Подготавливали суточную культуру тест-патогена. Затем в чашках Петри с *F. oxysporum* стерильным сверлом вырезали в агаре диски диаметром 10 мм, которые помещали в центр чашек со средой КГА, содержащей тестируемую биомассу *A. terreus*. Чашки инкубировали при температуре 24 °С. Рост тест-грибов на чашках в контрольных и опытных вариантах измеряли на 3, 7 и 15-е сутки. Эксперименты были осуществлены в трех повторностях, для расчета брали среднеарифметическое значение. Антифунгальная активность проявилась во всех случаях (рис. 2).

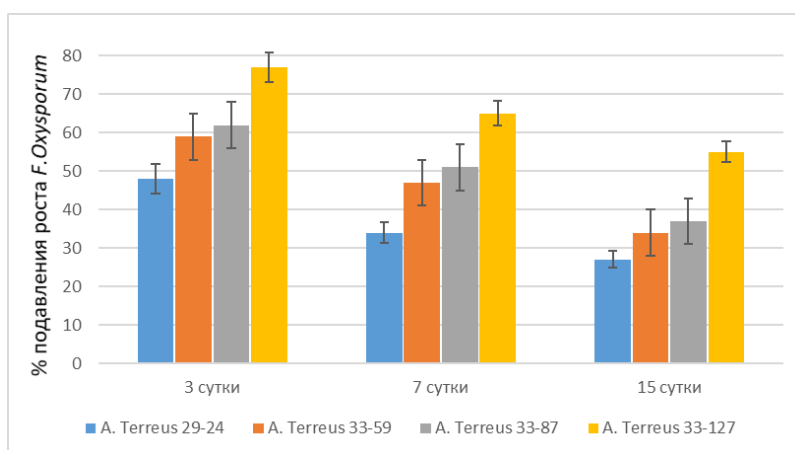


Рис. 2. Ингибирование роста тест-патогена биомассой исследуемых изолятов *A. terreus*

Степень подавление роста тест-гриба биомассой полученного штамма *A. terreus* 33–127 превышала 50 %. Сила эффекта подавления роста коррелировала с уровнем продуцирования мевинолина исследуемым изолятом.

### **Результаты**

В результате проведения последовательного индуцированного УФ-мутагенеза получили новый штамм *Aspergillus terreus* 33–127 с повышенной продуктивностью по меванолину. Проведенные испытания выявили антифунгальное влияние нового изолята на фитопатогенный гриб *Fusarium oxysporum*.

### **Литература**

1. Amr K., Ibrahim N., Elissawy A. M., Singab A. N. B. Unearthing the fungal endophyte *Aspergillus terreus* for chemodiversity and medicinal prospects: a comprehensive review // *Fungal Biology Biotechnol.* 2023. Vol. 10, No. 1. P. 1–33.
2. Dzhavakhiya V. V., Petelina G. G. Lovastatin influence on phytopathogenic fungi // *Agro XXI.* 2008. No. 4–6. P. 33–35.