

Московский государственный университет имени М. В.
Ломоносова Биологический факультет

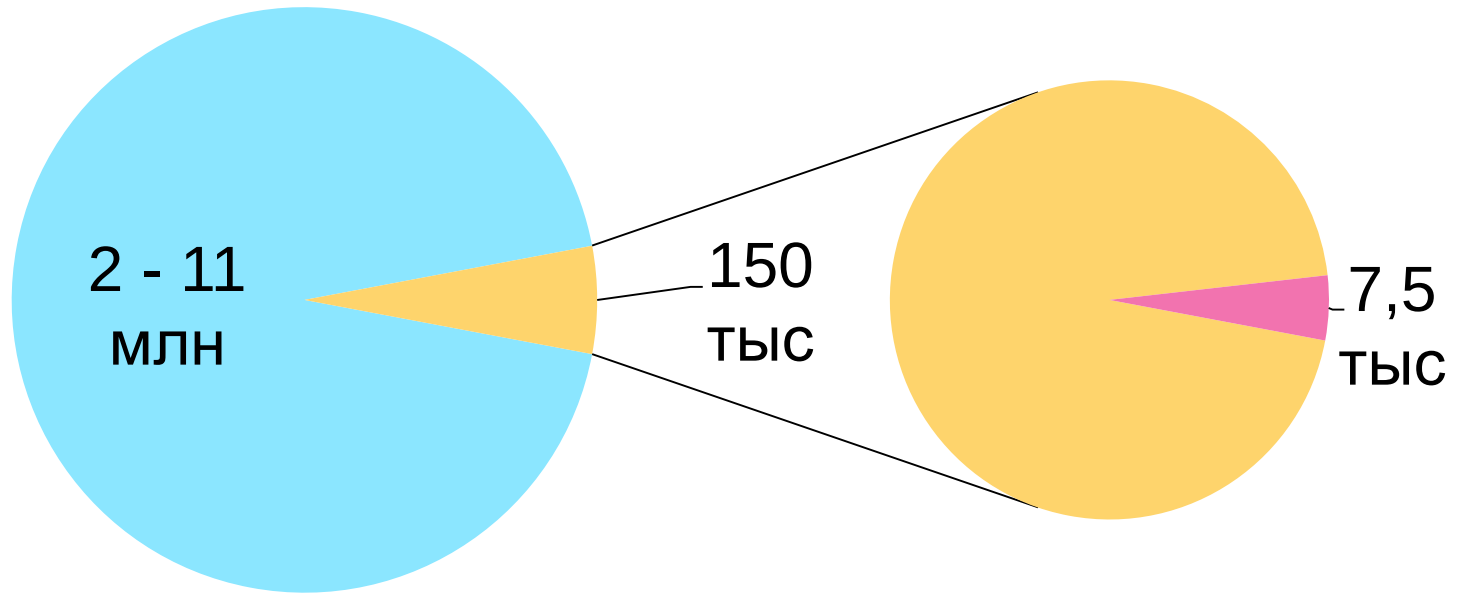
Грибы рода *Talaromyces* и их биологическая активность

Выполнила: Рева Елизавета Алексеевна,
4 курс, кафедра микологии и альгологии

Научные руководители: д. б. н., Александрова Алина Витальевна,
к.х.н., Лукьянов Дмитрий Александрович, Химический факультет
кафедра химии природных соединений

Москва, 2025 год

Введение



- По оценкам существует около **2 - 11 млн видов грибов**, описано **≈150 000**, но только 5% культивируемых грибов проверены на биоактивность (Phukhamsakda et al., 2022)

Актуальность работы

- Род ***Talaromyces*** – крупный род, родственен *Penicillium*.
- За последние 10 лет открыто более 120 НОВЫХ ВИДОВ.
- Большинство видов не проверялись на наличие биологически активных веществ.
- Легко культивируется в лабораторных условиях, которые можно увеличить до промышленных масштабов.

Цель и задачи работы

- **Целью** было исследование биологической активности видов рода *Talaromyces*
- **Задачи:**
 1. Провести тесты на антибактериальную и фунгицидную активности
 2. Оценить способность видов рода *Talaromyces* к кислотообразованию
 3. Оценить их способность к пигментообразованию
 4. Выявить перспективные продуценты биологически активных метаболитов

Объект исследования



Рис. 1 Форма конидиеносца *Talaromyces atroroseus* (Frisvad et al., 2013), внешний вид колоний разных видов

Виды с симметричными двустворчатými конидиеносцами, которые ранее относили к подроду *Penicillium biverticillium*, теперь считаются видами *Talaromyces*. Сейчас это крупный род с хорошо разработанной внутриродовой классификацией.

На сегодняшний день известно 198 видов *Talaromyces* (Антонов и др., 2024).

Отбор штаммов

Отобрано 115 штаммов грибов рода *Talaromyces* (Вьетнам, Монголия, Киргизия, Россия, Тайланд, Узбекистан, Франция).

Относящихся к 34 видам из 4 разных секций:
Islandici, *Purpurei*, *Talaromyces*, *Trachyspermi*

Секция	Вид
<i>Islandici</i>	<i>Talaromyces allahabadensis</i> , <i>T. columbinus</i> , <i>T. islandicus</i> , <i>T. loliensis</i> , <i>T. rugulosus</i> , <i>T. wortmannii</i>
<i>Purpurei</i>	<i>T. cecidicola</i> , <i>T. dendriticus</i>
<i>Talaromyces</i>	<i>T. aculeatus</i> , <i>T. adpressus</i> , <i>T. amestolkiae</i> , <i>T. apiculatus</i> , <i>T. aureolinus</i> , <i>T. dimorphus</i> , <i>T. duclauxii</i> , <i>T. flavus</i> , <i>T. funiculosus</i> , <i>T. kendrickii</i> , <i>T. macrosporus</i> , <i>T. muroii</i> , <i>T. pinophilus</i> , <i>T. primulinus</i> , <i>T. purpureogenus</i> , <i>T. ruber</i> , <i>T. sparsus</i> , <i>T. stollii</i> , <i>T. variabilis</i> , <i>T. verruculosus</i>
<i>Trachyspermi</i>	<i>T. albobiverticillius</i> , <i>T. atroroseus</i> , <i>T. erythromellis</i> , <i>T. minioluteus</i> , <i>T. solicola</i>

Культивация

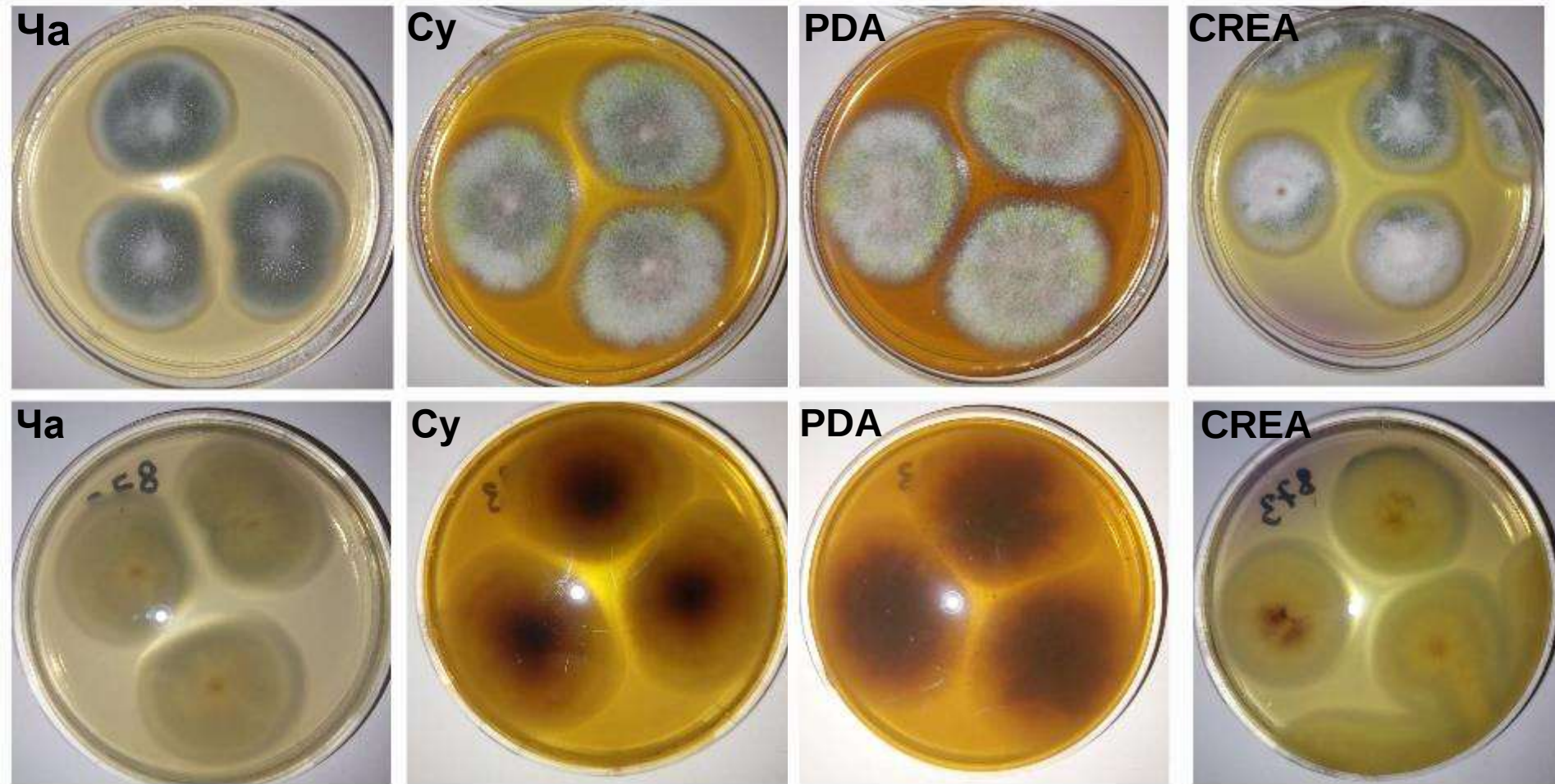


Рис. 2 Штамм №880 *Talaromyces pinophilus*

Колонии инкубированные в течение 7 дней при $t=25^{\circ}\text{C}$ на Чапек, Чапек обратной стороной, сусло-агар, сусло-агар обратной стороной, PDA, PDA обратной стороной, CREA, CREA обратной стороной

Идентификация культур по молекулярным критериям

При молекулярной идентификации использовалась геномная ДНК, экстрагированная из мицелия.

Область внутреннего транскрибируемого спейсера ядерной рибосомы и локус β -тубулина амплифицировали с помощью праймеров ITS1F-ITS4 и Bt2a-Bt1a соответственно.

Праймер	Последовательность праймера (5'–3')	Работа
Bt2a	(Пр.) GGT AAC CAA ATC GGT GCT GCT TTC	(Glass, Donaldson, 1995).
Bt2b	(Обр.) ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC	(Glass, Donaldson, 1995).
ITS1	(Пр.) TCC GTA GGT GAA CCT GCG G	(White et al., 1990)
ITS4	(Обр.) TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC	(White et al., 1990)

Секвенирование осуществляла компания «Евроген».

Полученные последовательности сравнивали с базой данных GenBank.

Критерием определения вида составляло сходство от 97%.

Проверка биологической активности

Тест-объекты:

- *Escherichia coli* Δ tolC, модифицированная репортерной плазмидой pDualrep2
- *Escherichia coli* lptd, модифицированная репортерной плазмидой pDualrep2
- *Bacillus subtilis* 168
- *Candida albicans*

Проверка антибактериальной активности

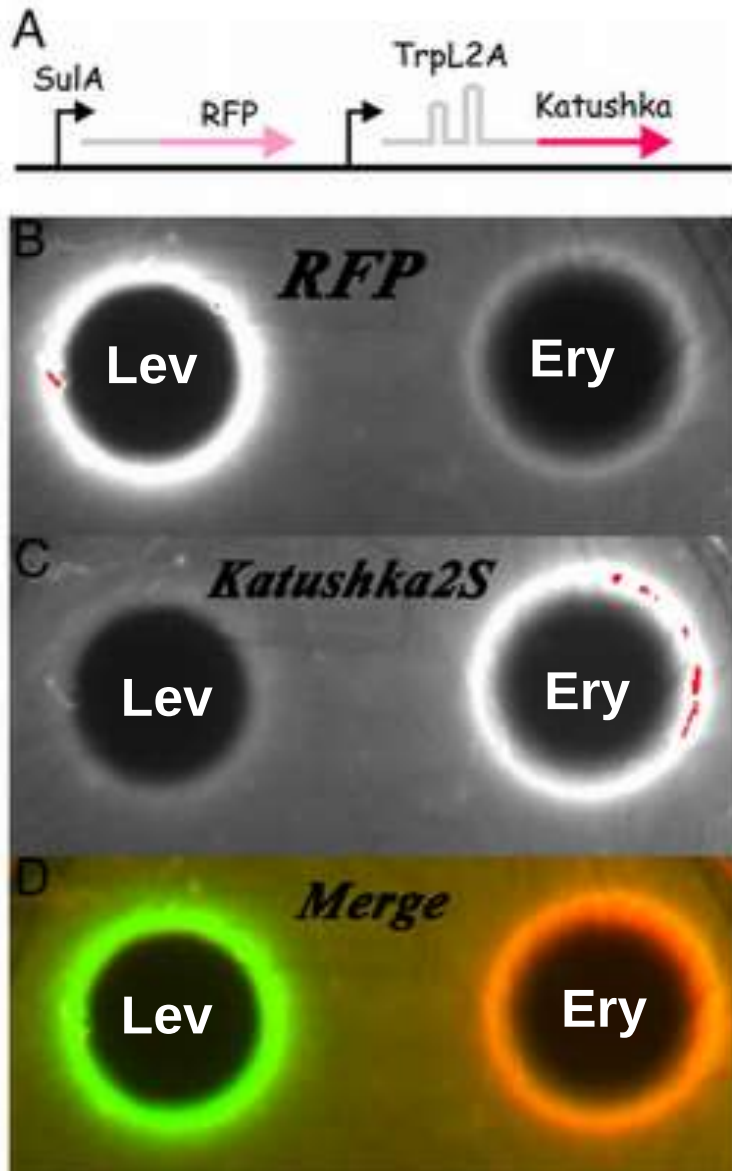


Рис. 3

А) Карта pDualrep2 репортерной плазмиды

В) Сканирование в канале 605 нм для обнаружения флуоресценции RFP флуоресценция.

С) Сканирование в канале 647 нм для обнаружения Katushka2S флуоресценция.

Д) Наложение изображений с панелей В и С в качестве псевдоцветного изображения.

Проверка биологической активности

C Isolation of individual cultures using selective media



D Block test with the reporter strain



Identification

E Cultivation in liquid media



F Solid-phase extraction/fractionation

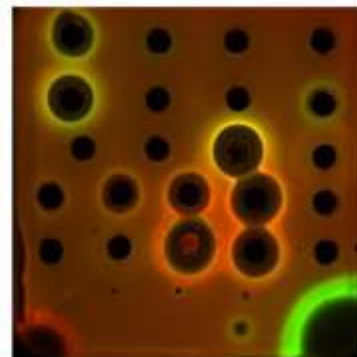


Рис. 4 Этапы работы (Volynkina et al., 2022)

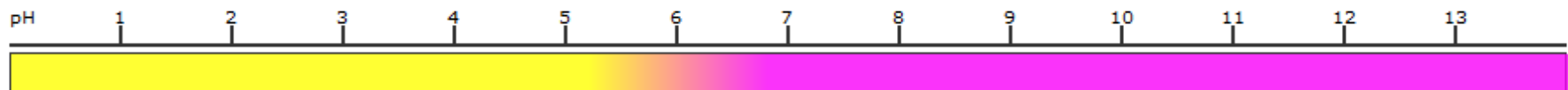
Оценка кислотообразование



Специальной среда – CREA, содержащая pH-чувствительный краситель бромкрезоловый пурпурный.

Рис. 5 Штамм № 880 *Talaromyces rugulosus* на среде CREA с бромкрезоловым пурпурным, 7 дней

Диаграмма перехода окраски в зависимости от pH раствора



Пигментообразование

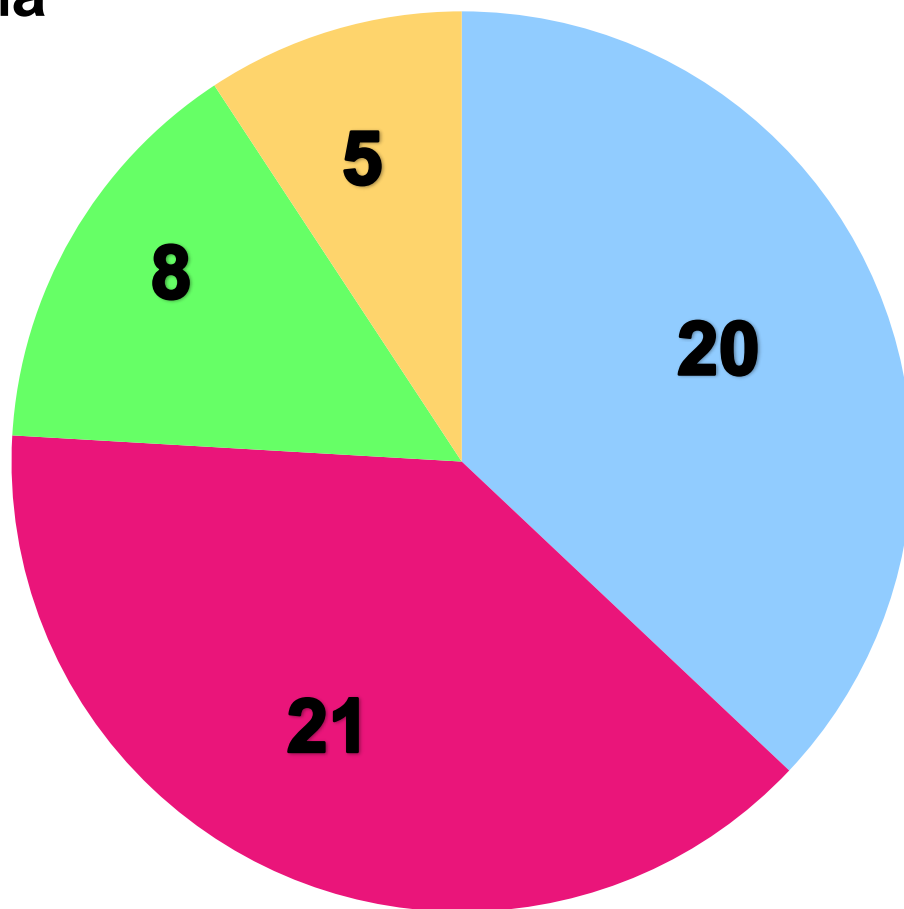


Рис. 5 Оценка пигментообразования разных штаммов:

- 1 – нет пигмента
- 2 – пигментирована колония
- 3 – много пигмента

Анализ антагонистической активности против *Escherichia coli* Δ tolC

**54 штамма
активны**



■ Полное
подавление

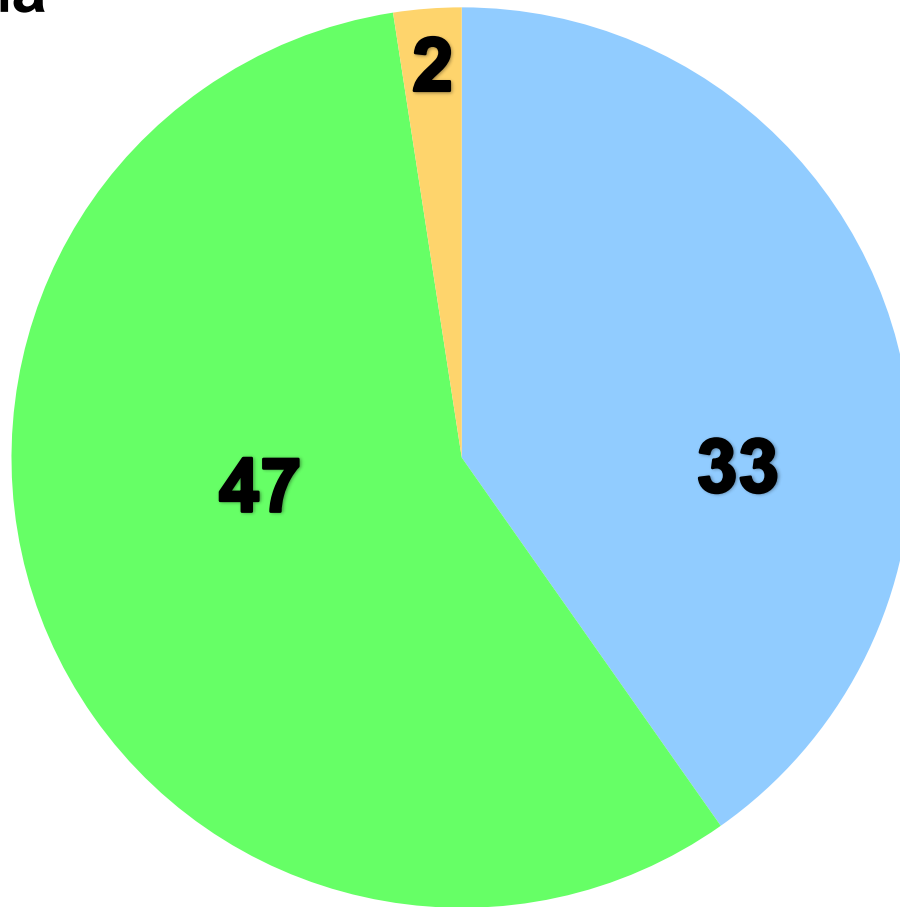
■ Остановка
трансляции

■ SOS-ответ

■ SOS-ответ +
остановка
трансляции

Анализ антагонистической активности против *Escherichia coli* Iptd

**82 штамма
активны**



■ Полное
подавление

■ Остановка
трансляции

■ SOS-ответ

■ SOS-ответ +
остановка
трансляции

Анализ антагонистической активности против *Bacillus subtilis* 168

**53 штамма
активны**

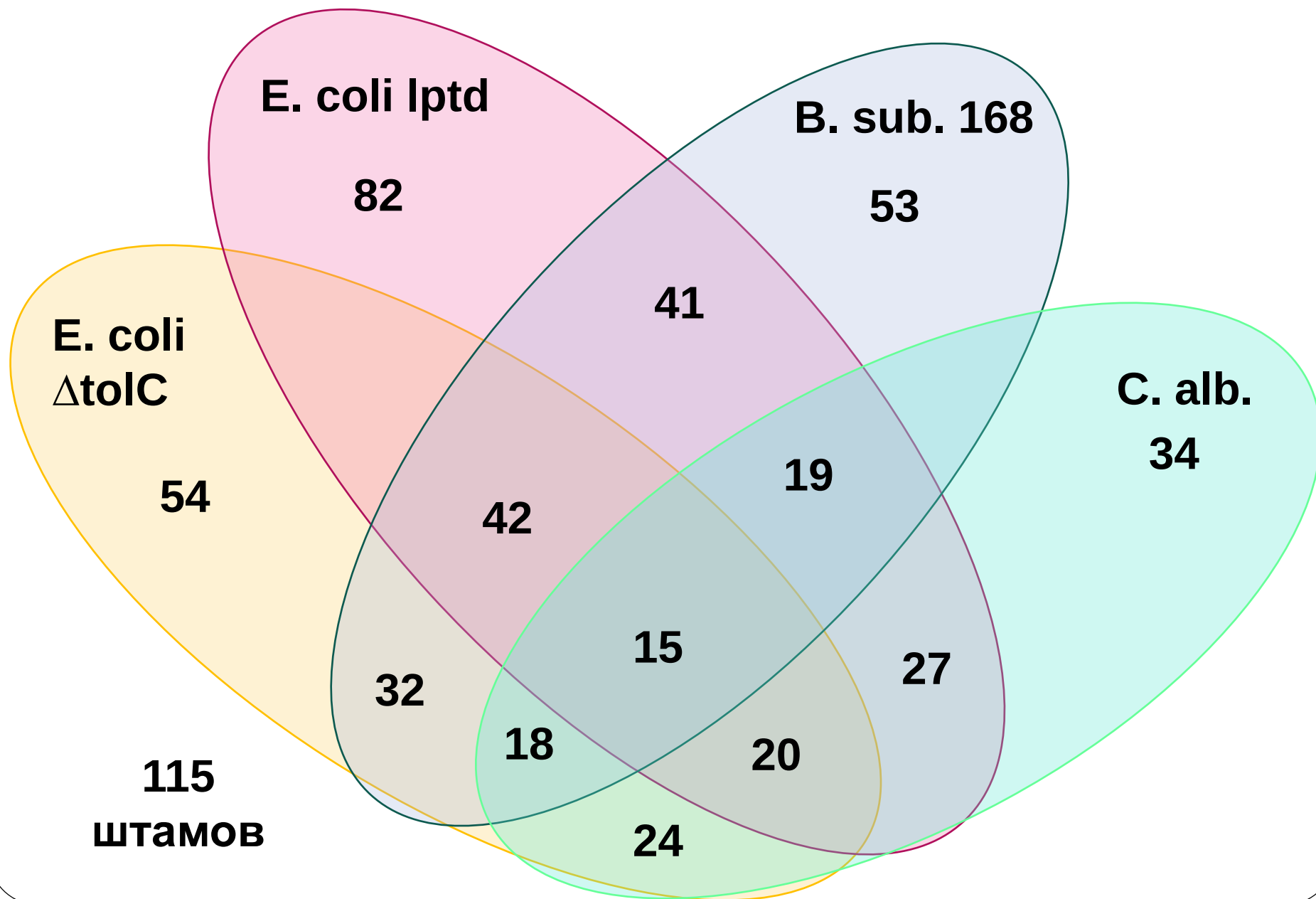
№ Штамма	Секция	Вид	Д зоны подавления, мм
3248	Islandici	Talaromyces wortmannii	8,3
5694	Islandici	T. islandicus	7,5
5692	Islandici	T. islandicus	5,4
6013	Islandici	T. columbinus	5,4
587	Talaromyces	T. stollii	13,0
5187	Talaromyces	T. kendrickii	8,3
3068	Talaromyces	T. primulinus	7,5
5200	Talaromyces	T. kendrickii	7,5
5466	Talaromyces	T. pinophilus	6,1

Анализ антагонистической активности против *Candida albicans*

34 штамма активны

№ Штамма	Секция	Вид	D, мм
596	Talaromyces	Talaromyces amestolkiae	5,4
854	Talaromyces	Talaromyces variabilis	6,8

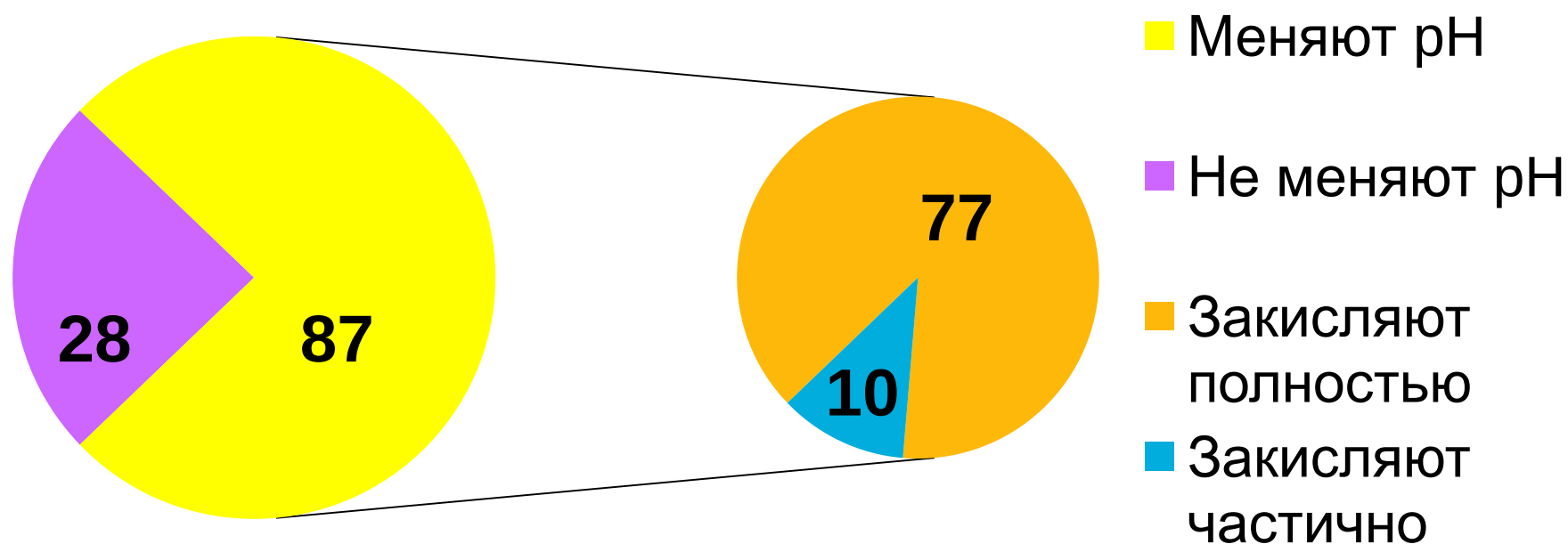
Анализ антагонистической активности



Ранее не тестирувавшиеся на активность

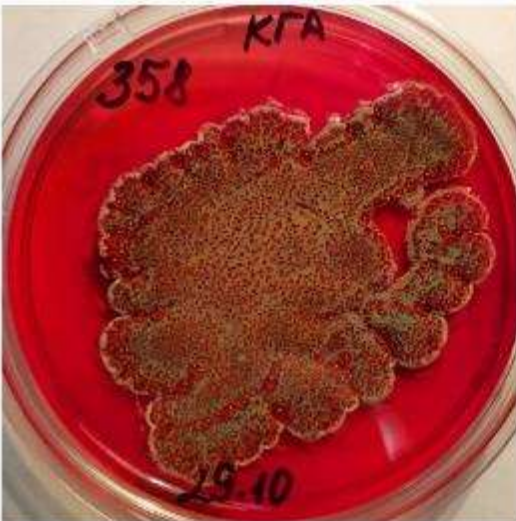
- Из 34 видов - 9 видов: *Talaromyces columbinus*, *T. aureolinus*, *T. dimorphus*, *T. kendrickii*, *T. sparsus*, *T. allahabadensis*, *T. loliensis*, *T. dendriticus*, *T. primulinus*
- Показали высокую активность:
- №6058 и №6013 *Talaromyces columbinus*, секция *Islandici*
- №5187, №453, №5200, №5321 *Talaromyces kendrickii*, секция *Talaromyces*

Анализ кислотообразования



Корреляции между уровнем pH и активностью не выявлено

Анализ пигментообразования



- 69 штаммов дают пигмент, 8 заполняют чашку пигментом полностью
- Большинство штаммов, образующих пигменты, имеют малую активность или не имеют её вовсе
- Нет корреляции между активностью и образованием пигмента

Штаммы, продемонстрировавшие максимальную активность против нескольких тест-объектов

№	Секция	Вид	Δ tolC	lptd	B. sub.	C. alb.
3248	Islandici	Talaromyces wortmannii	9,73	15,5	8,3	
6065	Talaromyces	Talaromyces aculeatus	14,8	20,6		
6081	Talaromyces	Talaromyces adpressus	14,8	14,8		
6067	Talaromyces	Talaromyces amestolkiae	9,7	5,4	3,9	
74	Talaromyces	Talaromyces amestolkiae	9,7	18,5		
5187	Talaromyces	Talaromyces kendrickii	9,1	13	8,3	
5835	Talaromyces	Talaromyces stollii		15,2		3,9
587	Talaromyces	Talaromyces stollii		14,5	13	
854	Talaromyces	Talaromyces variabilis		14,1		6,8

Выводы

1. 15 штаммов показали активность **против всех 4 тест-объектов**,
54 - *E. coli* Δ tolC , 82 - *E. coli* lptd, 53 – *B. subtilis* 168 , 34 – *C. albicans*

Ранее не тестировались, но показали активность:

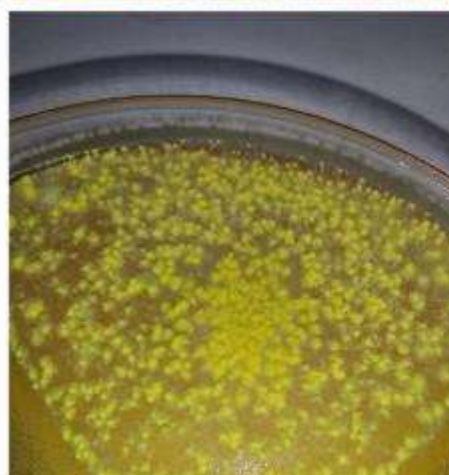
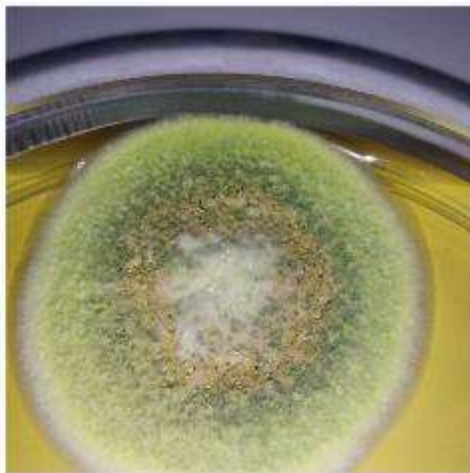
- № 6058 и № 6013 *Talaromyces columbinus*, секция Islandici
- № 5187, № 453, № 5200, № 5321 *Talaromyces kendrickii*, секция *Talaromyces*

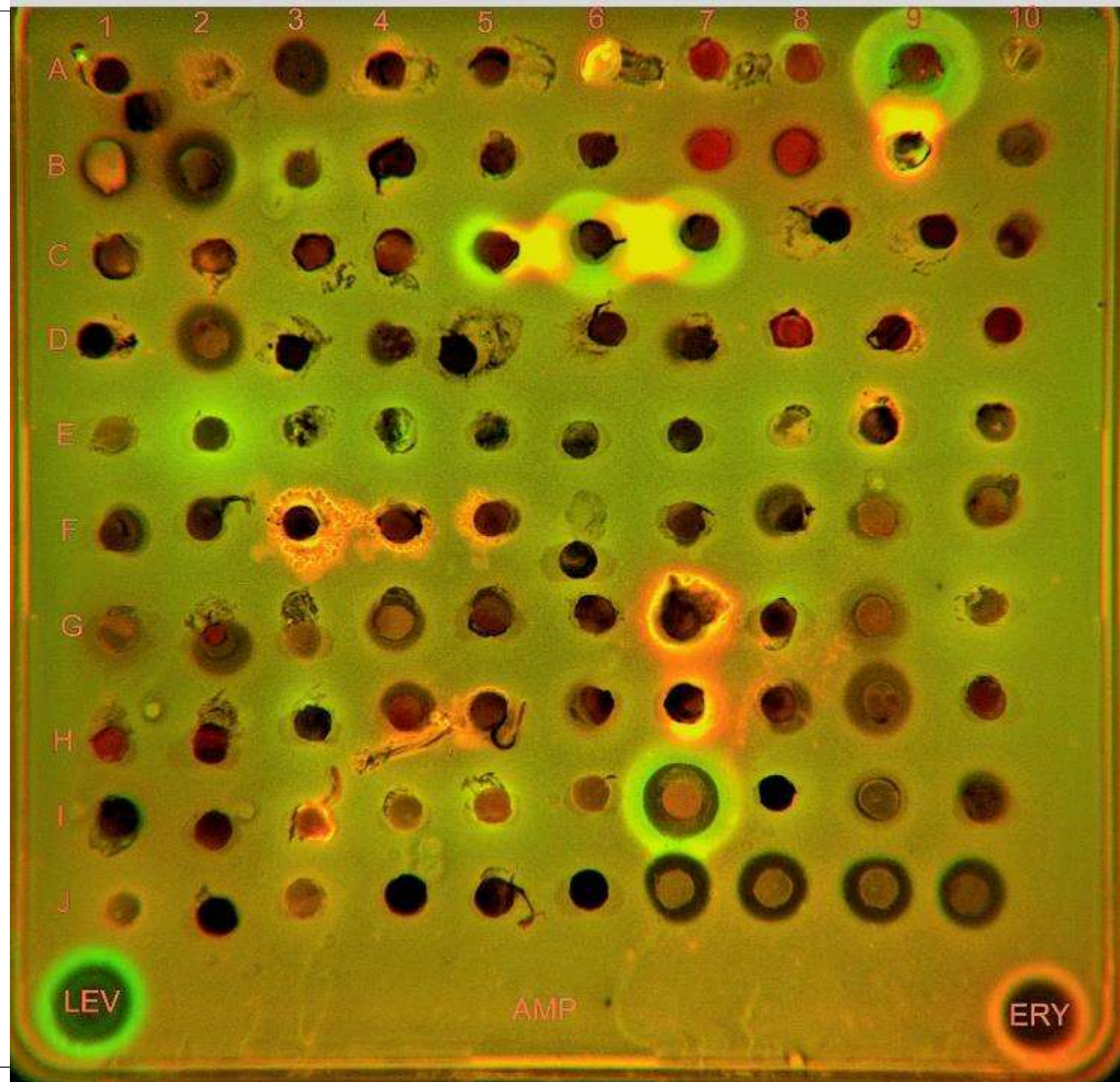
2. 87 штаммов изменяют pH среды (77 закисляют среду полностью). Корреляции между уровнем pH и активностью не выявлено

3. 69 дают пигмент, 8 полностью заполняют чашку. Нет зависимости между наличием пигмента и активностью

4. Перспективные штаммы: № 74 *T. amestolkiae* , № 587 *T. stollii*, № 854 *T. variabilis*, № 3248 *T. wortmannii* , № 5187 *T. kendrickii* , № 5835 *T. stollii* , № 6065 *T. aculeatus* , № 6067 *T. amestolkiae*, № 6081 *T. adpressus*

Спасибо за внимание!





Ранее не тестировавшиеся штаммы с высокой активностью

№ Штамм	Секция	Вид	ΔtolC	lptd	B. sub.
6013	Islandici	Talaromyces columbinus	11,2	7,9	5,4
6058	Islandici	Talaromyces columbinus		6,1	
5200	Talaromyces	Talaromyces kendrickii		12,3	7,5
5321	Talaromyces	Talaromyces kendrickii	9,1	11,9	3,9
5187	Talaromyces	Talaromyces kendrickii	7,5	13,0	8,3
453	Talaromyces	Talaromyces kendrickii		8,3	

Анализ антагонистической активности против *Escherichia coli* ΔtolC

№ Штамма	Секция	Вид	Д зоны подавления, мм	Д красного свечения, мм	Д жёлтого свечения, мм	Д зелёного свечения, мм
6058	Islandici	Talaromyces columbinus			11,2	
6059	Islandici	Talaromyces columbinus			12,6	
6062	Talaromyces	Talaromyces aculeatus				13,0
6065	Talaromyces	Talaromyces aculeatus			14,8	
6081	Talaromyces	Talaromyces adpressus				14,8
6082	Talaromyces	Talaromyces adpressus			14,1	
357	Talaromyces	Talaromyces aureolinus				14,1
5916	Talaromyces	Talaromyces flavus				15,5
6118	Talaromyces	Talaromyces sp.		10,5		
355	Talaromyces	Talaromyces sparsus	18,5			
606	Talaromyces	Talaromyces stollii		10,1		
2126	Trachyspermi	Talaromyces erythromellis	10,5			

Анализ антагонистической активности против *Escherichia coli* Iptd

№ Штамма	Секция	Вид	Д зоны подавления, мм	Д жёлтого свечения, мм	Д зелёного свечения, мм
5943	Islandici	Talaromyces islandicus	15,5		
484	Islandici	Talaromyces rugulosus	18,5		
345	Islandici	Talaromyces wortmannii	17,7		
3248	Islandici	Talaromyces wortmannii			15,5
6061	Talaromyces	Talaromyces aculeatus	14,1		
6065	Talaromyces	Talaromyces aculeatus	20,6		
6081	Talaromyces	Talaromyces adpressus		14,8	
6083	Talaromyces	Talaromyces adpressus	21,4		
74	Talaromyces	Talaromyces amestolkiae	18,5		
5743	Talaromyces	Talaromyces macrosporus	14,8		
5744	Talaromyces	Talaromyces macrosporus	14,1		
5835	Talaromyces	Talaromyces stollii	15,2		
587	Talaromyces	Talaromyces stollii	14,5		
4849	Talaromyces	Talaromyces variabilis			15,2
854	Talaromyces	Talaromyces variabilis			14,1
565	Talaromyces	Talaromyces variabilis	14,8		
2347	Trachyspermi	Talaromyces minioluteus			14,8

Анализ пигментообразования

№	Секция	Вид	Пигмент	Среда
5496	Talaromyces	Talaromyces aculeatus	5	ча
5738	Talaromyces	Talaromyces funiculosus	4	crea
5746	Talaromyces	Talaromyces funiculosus	5	crea
5187	Talaromyces	Talaromyces kendrickii	4	pda
453	Talaromyces	Talaromyces kendrickii	4	ча
358	Talaromyces	Talaromyces pinophilus	4	pda
1971	Talaromyces	Talaromyces primulinus	5	cy
5292	Talaromyces	Talaromyces ruber	4	ча
2597	Talaromyces	Talaromyces ruber	5	pda
6118	Talaromyces	Talaromyces sp.	4	crea
5505	Talaromyces	Talaromyces verruculosus	4	cy
5484	Talaromyces	Talaromyces verruculosus	5	pda
333	Trachyspermi	Talaromyces albobiverticillius	5	pda
892	Trachyspermi	Talaromyces albobiverticillius	5	cy
558	Trachyspermi	Talaromyces atroroseus	5	ча
2126	Trachyspermi	Talaromyces erythromellis	4	pda

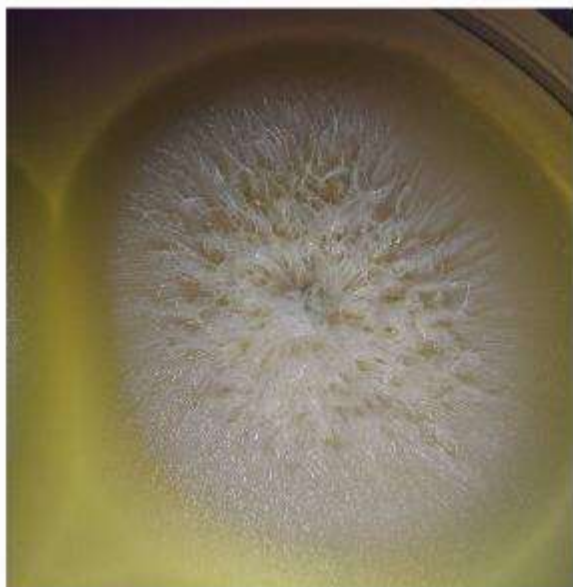


Рис. 2

Штамм № 880

Talaromyces rugulosus на среде CREA с

бромкрезоловым
пурпурным, 7 дней

➤ вид сверху

➤ вид снизу

➤ макрофотография 1

➤ макрофотография 2