

# ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ГРИБОВ В ГОРЯЧИХ ИСТОЧНИКАХ И ИХ ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ

КУРСОВАЯ РАБОТА

СТУДЕНТКИ 3 КУРСА ЧЕРНОКОВОЙ А.А.

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ

ДОКТОР БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК КУРАКОВ А.В.

РЕЦЕНЗЕНТ:

ДОКТОР БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК КАМЗОЛКИНА О.В.

# Цели и задачи.

- ▶ Видовое разнообразие грибов в горячих источниках изучено значительно хуже, чем прокариот. Нет информации или она крайне мала о микобиоте таких экотопов в России.  
В горячих источниках ожидаемо выделение термостабильных и термофильных грибов, которые способны к секреции ферментов, обладающих термостойкостью, устойчивостью к органическим растворителям, и синтезу потенциально новых вторичных метаболитов могут представлять интерес для медицины и биотехнологий.
- ▶ Целью работы было обобщение данных о разнообразии грибов в горячих источниках, и исследований о синтезе ими вторичных метаболитов.

# Горячие источники

- ▶ Горячий источник, или термальный источник, имеет температуру воды, которая значительно превышает температуру воздуха в окружающей местности. Большинство горячих источников представляют выход грунтовых вод, которые нагреваются за счет мелких интрузий магмы (расплавленной породы) в вулканических областях (Hiraishi et al., 1998).



Grand Prismatic Spring and Midway Geyser Basin in  
Yellowstone National Park

▶ По температуре термальные минеральные источники подразделяются на тёплые (+20...+37°C), горячие (+37...+50 °C) и очень горячие (+50...+100 °C)



▶ Значение pH:


▶ - Кислый pH 3

▶ - Слабокислый pH 3-6

▶ - Нейтральный pH 6-7,5

▶ - Слабощелочной pH 7,5-8,5

▶ - Щелочной pH 8,5+

- 
- ▶ Благодаря уже имеющимся технологиям некоторые из самых успешных лекарств и агрохимических фунгицидов на рынке были разработаны из вторичных метаболитов грибов. К ним относятся антибиотики (пенициллины, цефалоспорины и фузидовая кислота), противогрибковые средства (гризеофульвин, стробилурины и эхинокандины) и средства, снижающие уровень холестерина, такие как производные статины (мевинолин, ловастатин и симвастатин), а также иммунодепрессанты (циклоспорин, 2002). Даже некоторые сильнодействующие микотоксины, такие как алкалоиды спорыньи, позволили получить лекарства для лечения неврологических расстройств, таких как мигрень и снижение умственного развития у пожилых людей, после оптимизации с помощью медицинской химии (Rosen 1975; Hyde 2001; Liu 2002; Li and Vederas 2009).



# Обзор литературы



Кучигер, Бурятия



Паратунка, Камчатка

Статья 1. *Anne Kelly Kambura, Romano Kachiuru Mwirichia, Remmy Wekesa Kasili, Edward Nderitu Karanja, Huxley Mae Makonde and Hamadi Iddi Boga. Diversity of fungi in sediments and water sampled from the hot springs of Lake Magadi and Little Magadi in Kenya.*



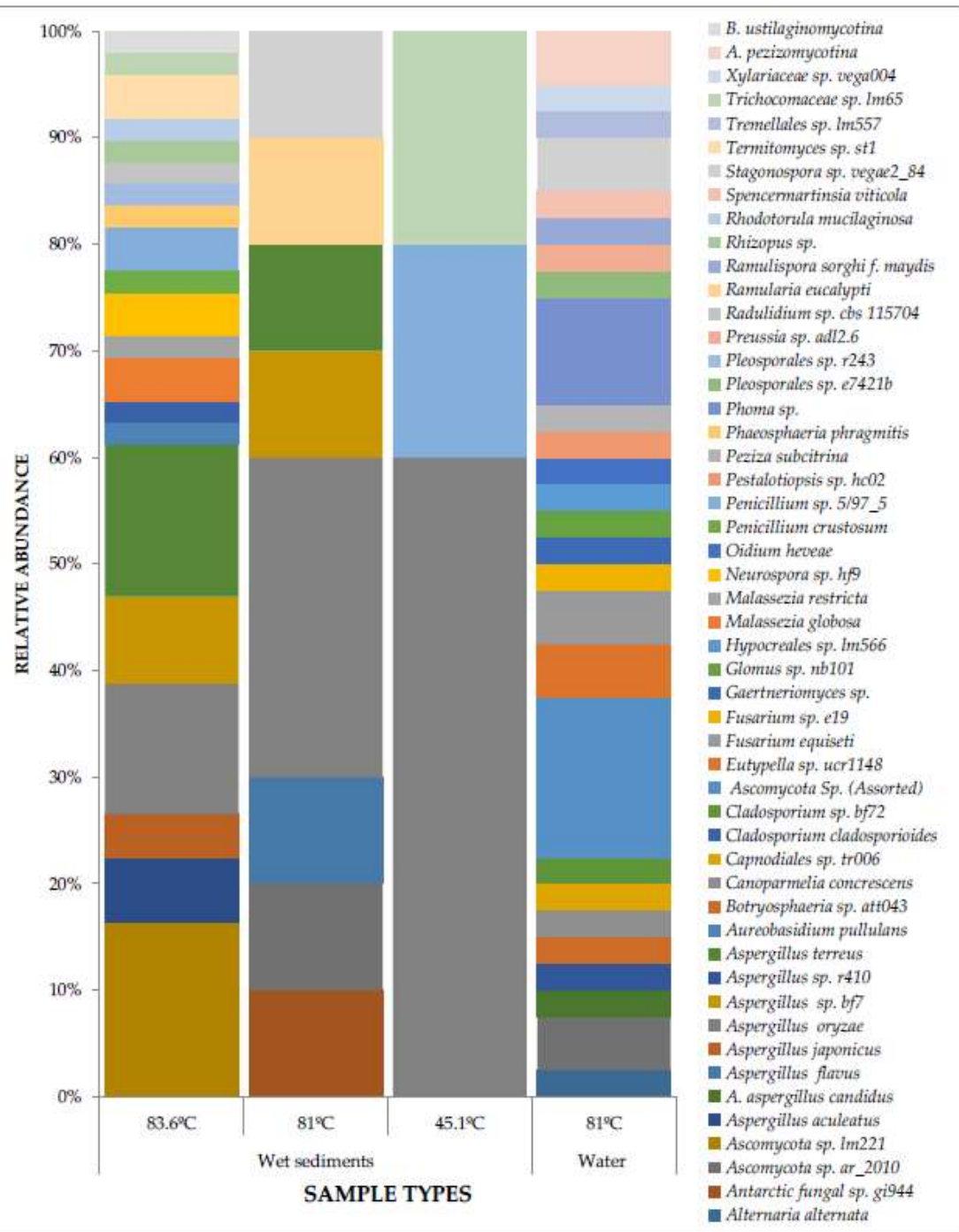
Lake Magadi

Parameter	Latitude °S	Longitude °E	Elevation (m)	Temperature (°C)	pH	EC (mS/cm)	TDS (mg/L)	Dissolved oxygen (mg/L)
Hot spring 1	02° 00' 3.7"	36° 14' 32"	603	45.1	9.8	0.03	1	12.4
Hot spring 2	01° 43' 28"	36° 16' 21"	611	83.6	9.4	1	1	0.04
Hot spring 3	01° 43' 56"	36° 17' 11"	616	81	9.2	1	1	0.71

Физико-химические данные

Parameter	Sampling stations		
	Hot springs 45.1°C	Hot springs 81°C	Hot springs 83.6°C
<b>Chemical properties</b>			
pH	9.81	9.2	9.41
EC (mS cm <sup>-1</sup> )	30.3	30.5	29.9
Ammonium (ppm)	0.94	2.66	2.57
Calcium (ppm)	0.62	0.53	0.33
Magnesium (ppm)	<0.02	0.026	<0.02
Potassium (ppm)	287	456	225
Phosphorus (ppm)	6.31	4.17	2.72
Nitrate N (ppm)	0.53	0.67	0.67
Nitrates (ppm)	2.35	2.98	2.97
Sulphur (ppm)	129	107	58.9
Sulphates (ppm)	387	322	176
Iron (ppm)	<0.01	0.012	0.014
Manganese (ppm)	0.016	0.012	<0.01
Zinc (ppm)	<0.01	<0.01	<0.01
Boron (ppm)	9.3	15.5	8.06
Copper (ppm)	0.043	<0.01	<0.01
Molybdenum (ppm)	0.14	0.12	0.071
Sodium (ppm)	17700	17300	11300
Chlorides (ppm)	4000	4640	4220
Bicarbonates (ppm)	14200	17500	17100





▶ Относительная численность наиболее доминирующих видов в различных пробах



Статья 2. *Sennur Çalis, kan Özdemir & Atac Uzel*  
*Bioprospecting of hot springs in West Anatolia regarding*  
*phytase producing thermophilic fungi.*



► Месторасположение, материал и температура образцов

Location of the samples		Coordinates	Material	Temperature
Izmir	Nebiler Hot Spring	39°00'31.0"N 26°54'12.1"E	Soil	45 °C
	Nebiler Hot Spring	39°00'31.0"N 26°54'12.1"E	Sediment	45 °C
	Zeytindalı Hot Spring	39°00'52.2"N 26°55'34.3"E	Soil	40 °C
	Çamur Hot Spring	39°03'35.3"N 26°55'22.5"E	Sediment	45 °C
	Çamur Hot Spring	39°03'35.3"N 26°55'22.5"E	Soil	40 °C
	Çamur Hot Spring	39°03'35.3"N 26°55'22.5"E	Soil	40 °C
	Çamur Hot Spring	39°03'35.3"N 26°55'22.5"E	Soil	40 °C
	Karakoç Hot Spring	38°05'23.0"N 26°55'04.7"E	Soil	60 °C
	Karakoç Hot Spring	38°05'23.0"N 26°55'04.7"E	Soil	65 °C
	Karakoç Hot Spring	38°05'23.0"N 26°55'04.7"E	Sediment	60 °C
	Karakoç Hot Spring	38°05'23.0"N 26°55'04.7"E	Soil	55 °C
Denizli	Mushroom Farm	38°40'51.3"N 26°56'48.9"E	Compost	~70 °C
	Buharkent	37°56'48.7"N 28°49'45.2"E	Soil	43 °C
	Buharkent	37°56'48.7"N 28°49'45.2"E	Soil	55 °C
	Buharkent	37°56'48.7"N 28°49'45.2"E	Soil	58 °C
	Buharkent	37°56'48.7"N 28°49'45.2"E	Soil	48 °C
	Buharkent/Kabaşagaç	37°56'05.5"N 28°45'40.1"E	Sediment	50 °C
Aydın	Buharkent/Tekkeköy	37°36'25.1"N 29°10'08.8"E	Soil	55 °C
	Çamköy	37°57'23.2"N 27°35'17.9"E	Sediment	58 °C
	Çamköy	37°57'23.2"N 27°35'17.9"E	Sediment	48 °C
	Çamköy	37°57'23.2"N 27°35'17.9"E	Soil	50 °C
	Alangüllü/Bozköy	37°56'00.5"N 27°37'36.4"E	Soil	50 °C
Kütahya	Alangüllü/Bozköy	37°56'00.5"N 27°37'36.4"E	Sediment	60 °C
	Çitgöl	39°07'58.0"N 28°58'01.9"E	Sediment	60 °C
	Çitgöl	39°07'58.0"N 28°58'01.9"E	Soil	50 °C
	Eynal /Simav	39°07'39.9"N 28°59'48.0"E	Sediment	60 °C
	Eynal /Simav	39°07'39.9"N 28°59'48.0"E	Sediment	48 °C
	Esire / Hisarcık	39°12'13.0"N 29°16'36.5"E	Soil	48 °C
	İncasu/Gediz	38°57'32.4"N 29°16'31.3"E	Sediment	43 °C
	İncasu/Gediz	38°57'32.4"N 29°16'31.3"E	Sediment	51 °C
	İncasu/Gediz	38°57'32.4"N 29°16'31.3"E	Sediment	48 °C
	İncasu/Gediz	38°57'32.4"N 29°16'31.3"E	Soil	45 °C
	İncasu/Gediz	38°57'32.4"N 29°16'31.3"E	Sediment	50 °C
	İncasu/Gediz	38°57'32.4"N 29°16'31.3"E	Soil	40 °C
	İncasu/Gediz	38°57'32.4"N 29°16'31.3"E	Soil	40 °C
Manisa	İncasu/Gediz	38°57'32.4"N 29°16'31.3"E	Soil	40 °C
	Emir /Kula	38°33'06.2"N 28°38'52.88"E	Soil	35 °C
	Acısu /Kula	38°36'57.61"N 28°45'22.28"E	Soil	35 °C
	Sart/Salihli	38°27'22.6"N 28°02'50.1"E	Soil	50 °C
	Urganlı	38°34'17.5"N 27°50'31.0"E	Sediment	41 °C
	Urganlı	38°34'17.5"N 27°50'31.0"E	Sediment	60 °C
	Urganlı	38°34'17.5"N 27°50'31.0"E	Soil	45 °C
	Urganlı	38°34'17.5"N 27°50'31.0"E	Sediment	65 °C
Urganlı	38°34'17.5"N 27°50'31.0"E	Soil	60 °C	

GenBank accession no.	Isolate number	Species	Identity (%)	Heat requirements	Isolation Materials	Specific phytase activity (U/mg)
MG458679	4.1.2	<i>Acrophialophora levis</i> **	99	Thermotolerant	Gediz Hot Spring/Kütahya Sediment	81.72
MG458690	T1-3	<i>Aspergillus fischeri</i>	98	Thermotolerant	Zeytin dalı Hot Spring/Izmir Sediment	8.82
MG458685	K1	<i>Aspergillus fumigatus</i> *	100	Thermophilic	Pe-Ma Mushroom Farm Compost	84.81
MG458687	K18	<i>Aspergillus fumigatus</i> *	100	Thermophilic	Pe-Ma Mushroom Farm Compost	28.86
MG458688	T1-1	<i>Aspergillus fumigatus</i> *	100	Thermotolerant	Zeytin dalı Hot Spring/Izmir Sediment	21.09
MG279199	4.1.4	<i>Aspergillus fumigatus</i> *	100	Thermotolerant	Gediz Hot Spring/Kütahya Sediment	19.54
MG279198	4.4.19	<i>Aspergillus fumigatus</i> *	97	Thermotolerant	Gediz Hot Spring/Kütahya Soil	14.48
MG249970	1.2.27	<i>Aspergillus fumigatus</i> *	98	Thermotolerant	Eynal Hot Spring/Kütahya Sediment	230.56
MG279202	1A	<i>Aspergillus fumigatus</i> *	99	Thermophilic	Pe-Ma Mushroom Farm Compost	116.28
MG321620	T1-10	<i>Aspergillus fumigatus</i> *	99	Thermotolerant	Zeytin dalı Hot Spring/Izmir Sediment	13.56
MG321615	2.2.29	<i>Aspergillus fumigatus</i> *	97	Thermotolerant	Eynal Hot Spring/Kütahya Sediment	n. d.
MG279206	1E	<i>Aspergillus fumigatus</i> *	98	Thermophilic	Pe-Ma Mushroom Farm Compost	19.68
MG321622	2G	<i>Aspergillus fumigatus</i> *	100	Thermophilic	Pe-Ma Mushroom Farm Compost	13.42
MG458682	4.1.22	<i>Aspergillus fumigatus</i> *	100	Thermotolerant	Gediz Hot Spring/Kütahya Sediment	n. d.
MH458243	2.2.45	<i>Aspergillus lentulus</i> *	100	Thermotolerant	Eynal Hot Spring/Kütahya Sediment	14.36
MG321617	2.2.33	<i>Aspergillus niveus</i> *	100	Thermotolerant	Eynal Hot Spring/Kütahya Sediment	n. d.
MG321619	2.2.43	<i>Aspergillus niveus</i> *	99	Thermotolerant	Eynal Hot Spring/Kütahya Sediment	246.45
MG458691	T1-4	<i>Aspergillus terreus</i> *	98	Thermotolerant	Zeytin dalı Hot Spring/Izmir Sediment	13.49
MG458692	T1-5	<i>Aspergillus terreus</i> *	100	Thermotolerant	Zeytin dalı Hot Spring/Izmir Sediment	11.70

► Результаты полифазной идентификации изолятов и их внеклеточной количественной фитазной активности

GenBank accession no.	Isolate number	Species	Identity (%)	Heat requirements	Isolation Materials	Specific phytase activity (U/mg)
MG458693	T1-7	<i>Aspergillus terreus</i> *	99	Thermotolerant	Zeytin dalı Hot Spring/Izmir Sediment	66.92
MG458694	T1-8	<i>Aspergillus terreus</i> *	100	Thermotolerant	Zeytin dalı Hot Spring/Izmir Sediment	12.62
MG321616	2.2.31	<i>Aspergillus terreus</i> *	98	Thermotolerant	Eynal Hot Spring/Kütahya Sediment	14.98
MG458695	T2-13	<i>Aspergillus terreus</i> *	99	Thermotolerant	Nebiler Hot Spring/Izmir Soil	15.32
MG458696	T5-14	<i>Aspergillus terreus</i> *	99	Thermotolerant	Çamur Hot Spring /Izmir Soil	10.10
MG470651	4.4.24	<i>Aspergillus terreus</i> *	100	Thermotolerant	Gediz Hot Spring/Kütahya Sediment	59.22
MH458249	4.4.25	<i>Aspergillus terreus</i> *	100	Thermotolerant	Gediz Hot Spring/Kütahya Sediment	13.88
MG279201	2.2.44	<i>Aspergillus terreus</i> *	97	Thermotolerant	Eynal Hot Spring/Kütahya Sediment	129.98
MG458683	4.4.26	<i>Aspergillus terreus</i> *	97	Thermotolerant	Gediz Hot Spring/Kütahya Sediment	80.52
MG458681	4.1.17	<i>Aspergillus terreus</i> *	97	Thermotolerant	Gediz Hot Spring/Kütahya Sediment	64.78
MG458689	T1-2	<i>Aspergillus terreus</i> *	99	Thermotolerant	Zeytin dalı Hot Spring/Izmir Sediment	49.28
MG321618	2.2.34	<i>Aspergillus terreus</i> *	97	Thermotolerant	Eynal Hot Spring/Kütahya Sediment	23.08
MH458244	2.2.35	<i>Aspergillus terreus</i> *	100	Thermotolerant	Eynal Hot Spring/Kütahya Sediment	89.00
MG458684	4.4.39	<i>Aspergillus terreus</i> *	99	Thermotolerant	Gediz Hot Spring/Kütahya Sediment	n. d.
MH458242	4.5.37	<i>Aspergillus tubingensis</i>	99	Thermotolerant	Gediz Hot Spring/Kütahya Sediment	331.32
MG458686	K4	<i>Humicola fuscoatra</i> *	99	Thermophilic	Pe-Ma Mushroom Farm Compost	44.29
MG321621	2F	<i>Humicola grisea</i> *	98	Thermophilic	Pe-Ma Mushroom Farm Compost	15.52
MG458698	T6-17	<i>Lichtheimia corymbifera</i> **	96	Thermotolerant	Çamur Hot Spring /Izmir Soil	17.06
MG458699	T7-18	<i>Lichtheimia ramosa</i> **	93	Thermotolerant	Çamur Hot Spring /Izmir Soil	45.71



Статья 3. *Kuei-Yu Chen, Da-Ji Huang and Chin-Cheng Liu. The Mycoflora of Hot Spring Soil in Northern Taiwan*

Genera	1999				2000		No. of colony	Percentage (%)
	Aug	Oct	Dec	Feb	Apr	June		
<i>Aspergillus</i>	234	205	353	374	288	323	1777	80.70
<i>Chrysosporium</i>	0	4	0	0	0	0	4	0.18
<i>Papulaspora</i>	1	9	20	30	0	0	60	2.72
<i>Sporotrichum</i>	0	0	0	0	1	0	1	0.05
<i>Scytalidium</i>	0	0	0	1	0	0	1	0.05
<i>Mycelia</i>	45	22	32	120	56	84	359	16.30
Total	280	240	405	525	345	407	2202	

Численность колоний, её процент (%) и сезонные колебания в серном горячем источнике Hsiao-yukeng в период с августа 1999 года по июнь 2000 года



Yangmingshan National Park



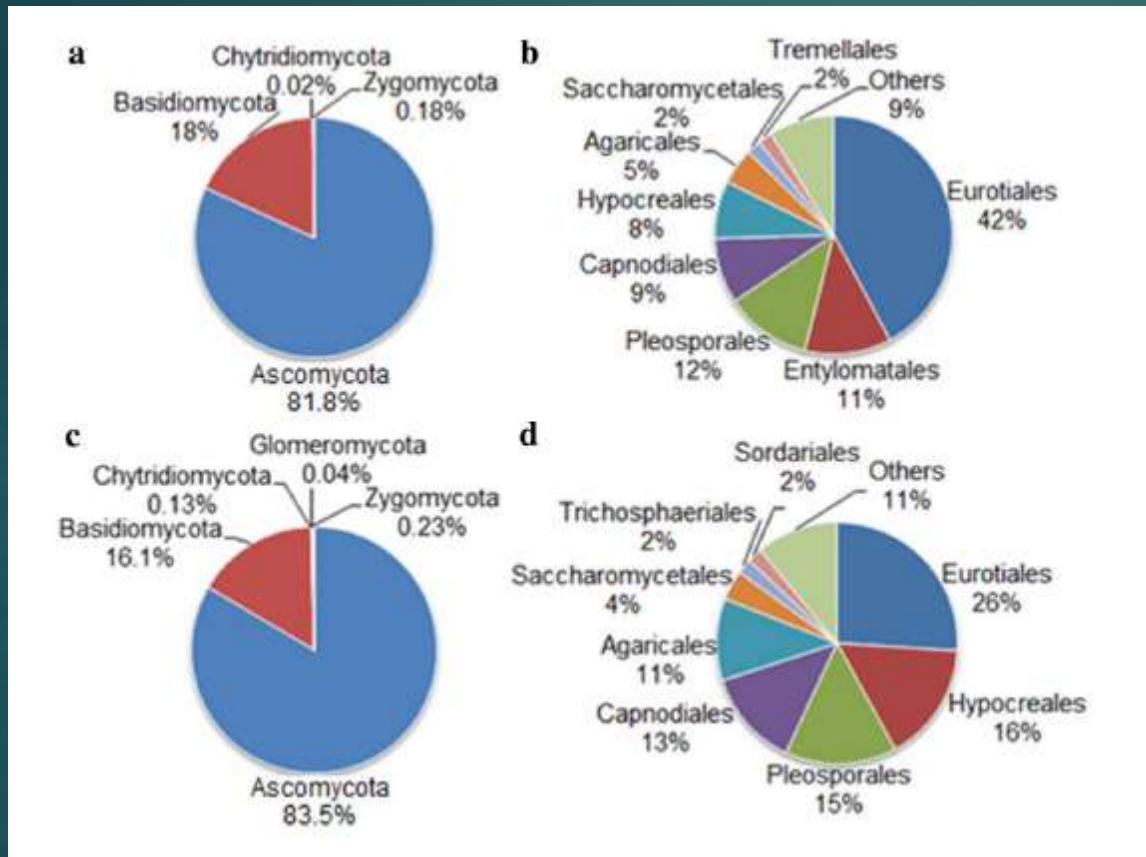
Species	Sampling areas			No. of colony	Percentage (%)
	Site 1	Site 2	Site 3		
<i>Aspergillus fumigatus</i> var. <i>fumigatus</i>	342*	743	387	1472	66.85
<i>A. fumigatus</i> var. 1 (green colony)	45	48	80	173	7.86
<i>A. fumigatus</i> var. 2 (brown colony)	82	2	22	106	4.81
<i>A. niger</i>	15	6	4	25	1.14
<i>A. sp.</i>	0	1	0	1	0.05
<i>Chrysosporium</i> sp.	4	0	0	4	0.18
<i>Papulaspora thermophila</i>	32	7	21	60	2.72
<i>Scytalidium thermophilum</i>	0	1	0	1	0.045
<i>Sporotrichum</i> sp.	0	1	0	1	0.045
<i>Mycelia sterilia</i> sp. 1 (white colony)	90	20	36	146	6.63
<i>M. sterilia</i> sp. 2 (yellow colony)	36	3	77	116	5.27
<i>M. sterilia</i> sp. 3 (gray colony)	79	2	16	97	4.405
Total	725	834	643	2202	
Percentage (%)	32.92	37.87	29.21		

- ▶ Численность колоний и процент встречаемости (%) в местах отбора проб в районе серного горячего источника Хсяойкент

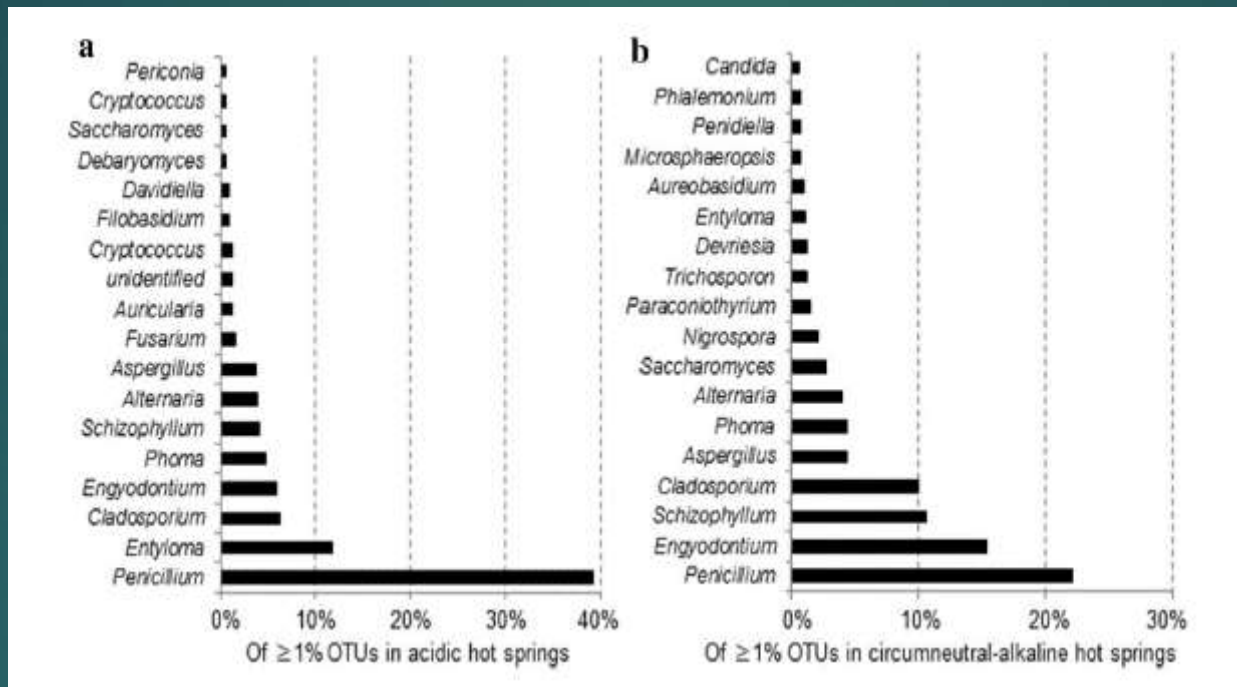
Статья 4. Kai-Hui Liu<sup>1</sup>, Xiao-Wei Ding, Nimaichand Salam, Bo Zhang, Xiao-Fei Tang, Baiwan Deng, Wen-Jun Li. Unexpected fungal communities in the Rehai thermal springs of Tengchong influenced by abiotic factors.



Rehai Tengchong



Схемы распределения грибов в Рейхайя, горячих источниках Тенчонга, Юньнань. a-d Модели распределения в чрезвычайно кислых и околонеЙтральных-щелочных горячих источниках, соответственно.



Распределение грибов в сильнокислых горячих источниках (а) и в околонеутрально-щелочных горячих источниках (б) Тенчонга, Юньнань.



# Обсуждение

- ▶ В настоящее время существует большой интерес к идентификации микроорганизмов, вырабатывающих антибиотики, из горячих источников. Встречались многочисленные случаи идентификации микроорганизмов, вырабатывающих антибиотики, из районов горячих источников, однако исследования в этой области все еще находятся на начальной стадии.
- ▶ В дальнейшем возможно ожидать крупномасштабное производство антибиотиков из биоты горячих источников, однако, в связи с трудностями, возникающими при выращивании этих организмов, неизвестно сколько времени может быть потрачено на формирование базы.

# Вторичные метаболиты

- ▶ Ряд самых успешных лекарств и фунгицидов были разработаны на основе вторичных метаболитов грибов. К ним относятся антибиотики (пенициллины, цефалоспорины и фузидовая кислота), противогрибковые средства (гризеофульвин, стробилурины и эхинокандины) и средства, снижающие уровень холестерина, такие как производные статина (мевинолин, ловастатин и симвастатин), а также иммунодепрессанты (циклоспорин,). Некоторые сильнодействующие микотоксины, такие как алкалоиды спорыньи, после их модификации позволили получить лекарства против неврологических расстройств, таких как мигрень и снижения умственных способностей у пожилых людей, (Rosen 1975; Hyde 2001; Liu 2002; Li and Vederas 2009).
- ▶ В настоящее время существует большой интерес к идентификации микроорганизмов, вырабатывающих антибиотики, из горячих источников.

- ▶ Неоднократно обнаруживали среди микроорганизмов из горячих источников штаммы, синтезирующие антибиотики (Ying et al. 1987; Francia et al. 1999,; Rapior et al. 2000; Aly et al.2010; Wasser 2011; de Silva et al. 2012a, b)
- ▶ Однако исследования в этой области все еще находятся на начальной стадии. В дальнейшем возможно ожидать крупномасштабное производство антибиотиков из биоты горячих источников.
- ▶ Следует отметить высокую встречаемость представителей рода *Penicillum*, обладающих сильными антибиотическими веществами и противогрибковым действием (*Penicillum griseofulvum*) и ряда других.
- ▶ Выделен Офиосетин, новое производное тетраминовой кислоты из гриба *Elaphocordyceps ophioglossoides* HF272 из образца почвы, собранного в горячем источнике Цучия в Фукусиме (Япония)( Putri et. al., 2010). Однако он обладает слабой антибактериальной активностью.



# Заключение и выводы

- ▶ Значение грибных сообществ в горячих источниках не до конца ясно, главным образом из-за ограниченности данных о видах грибов в этих местообитаниях. Используя традиционные методы, основанные на культивировании, исследователи только сообщают об относительно низком уровне разнообразия грибных сообществ в экстремальных условиях (Salano, 2011).
- ▶ Представители отдела *Ascomycota* доминируют в столь экстремальных условиях, далее следуют грибы отдела *Basidiomycota* и в меньшей степени *Zygomycota* (до 5%) и остальные (до 1 %).
- ▶ Биоактивные соединения природного происхождения ценны для медицины/биотехнологии и они слабо изучены у штаммов грибов из горячих источников. Поэтому существует острая необходимость в работе в этом направлении.

# Благодарности

▶ д.б.н. Кураков А.В.



д.б.н. Камзолкина О.В.



Спасибо за внимание!