



БИОДЕГРАДАЦИЯ МИКОТОКСИНА ЗЕАРАЛЕНОНА МЕТАБОЛИТАМИ ШТАММА *GLIOCLADEUM ROSEUM* GRZ7

Микитюк О.Д., Стацюк Н.В., Назарова Т.А., Щербакова Л.А.

Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, Большие Вяземы, Московская область, 143050 Россия
e-mail: nataafg@gmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Контаминация растительного сырья микотоксинами представляет собой серьезную проблему пищевой и кормопроизводящей промышленности. Микотоксины, являющиеся вторичными метаболитами некоторых микромицетов, способны нанести серьезный вред здоровью человека, а также сельскохозяйственных животных и птиц. Высокая стабильность этих соединений и их устойчивость к внешним воздействиям существенно осложняют их устранение из контаминированной продукции. Применяемые для этого физические и химические методы обладают существенными ограничениями и недостатками, поэтому в последние годы актуальным стал поиск способов биологической деградации микотоксинов.

Ранее мы показали, что содержащиеся в фильтрате культуральной жидкости (ФКЖ) метаболиты микромицета *Gliocladium roseum* (штамм GRZ7), выделенного из микофлоры, сопутствующей токсигенному грибу *Aspergillus flavus*, способны эффективно разлагать афлатоксин В1 [1]. Целью данного исследования стало изучение деградирующей активности метаболитов этого штамма в отношении зеараленона – другого поликетидного микотоксина, продуцируемого грибами рода *Fusarium*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Фракцию, содержащую целевые экзометаболиты ($M > 5$ кДа) из культуральной жидкости 7-суточной культуры штамма GRZ7 получали согласно [1]. Для изучения способности фракции деградировать ZEN, к буферному раствору лиофилизированной фракции (500 мг/мл) добавляли коммерческий образец микотоксина до конечной концентрации 0.5 мкг/мл и инкубировали при 27–28°C в течение 3 суток с периодическим отбором проб для ВЭЖХ-анализа остаточных количеств микотоксина.

Исследование влияния pH инкубационной среды на микотоксин-деградирующую активность экзометаболитов выполняли аналогичным образом, за исключением того, что аликвоты лиофилизата экзометаболитов растворяли в нескольких буферных растворах с pH в диапазоне от 5.5 до 9.5. Инкубацию проводили в течение 3 суток при 30°C, отбирая пробы для ВЭЖХ-анализа остаточных количеств микотоксина каждые 12 часов.

Эффективность разрушения ZEN при разных температурах (от 10 до 50°C) определяли, инкубируя его в растворе исследуемых экзометаболитов с оптимальным pH в течение 3 суток при разных значениях температуры внутри выбранного диапазона. Остаточные количества микотоксина определяли через сутки и в конце инкубации.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-76-10031), кроме выделения и идентификации штамма *G. roseum* GRZ7, выполненного в рамках проекта РФФ 14-16-00150.

РЕЗУЛЬТАТЫ

- 1) Через 72 ч совместной инкубации фракции экзометаболитов с зеараленоном (500 нг/мл) при 27–28°C разрушается не менее 68% токсина (Рис. 1).
- 2) Деградация токсина происходит в диапазоне pH 6.5–9.5 с оптимумом при 8.5; при pH 5.5 и ниже исследуемые метаболиты утрачивают токсин-деградирующую активность (Рис. 2).
- 3) Наиболее активно деградация токсина происходит при 30°C. Нагревание до 50°C в течение 30 мин или кипячение (100°C) в течение 5 мин приводит к полной потере токсин-деградирующей активности метаболитов *G. roseum* GRZ7 (Рис. 3).

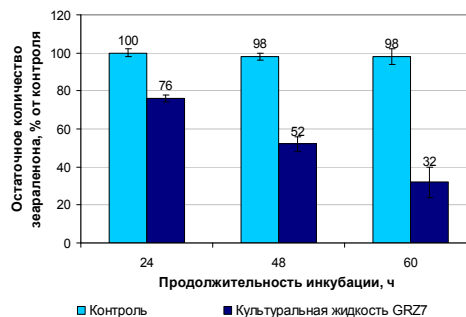


Рис. 1. Динамика деградации ZEN в растворе лиофилизированного фильтрата культуральной жидкости *G. roseum* GRZ7.

ВЫВОДЫ

Целевая фракция экзометаболитов *G. roseum* GRZ7 проявляет высокую катаболизирующую активность в отношении не только афлатоксина В1, но и зеараленона. Оптимальные условия для биодеградации зеараленона - pH 8.5 и температура 30°C. Полученные данные подтверждают присутствие в составе экзометаболитов штамма GRZ7 соединений белковой природы, проявляющих целевую ферментативную активность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Щербакова Л.А., Микитюк О.Д., Назарова Т.А. и др. // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51(6). – С. 946–950.

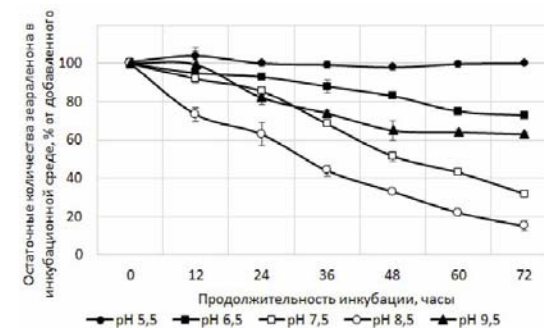


Рис. 2. Зависимость ZEN-деградирующей активности экзометаболитов *G. roseum* GRZ7 от pH инкубационной среды.

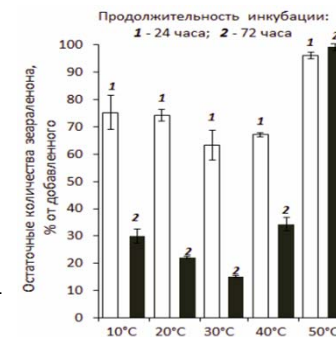


Рис. 3. Зависимость ZEN-деградирующей активности экзометаболитов *G. roseum* GRZ7 от температуры.

Наши дальнейшие исследования позволили идентифицировать катаболизирующий зеараленон фермент, подтвердить, что целевая ферментативная активность экзометаболитов GRZ7 обусловлена зеараленон-гидролазой, а также получить высокоэффективную рекомбинантную зеараленон-гидролазу.