

ФИЗИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ,  
БИОТЕХНОЛОГИЯ

УДК 631.466.1 : 579.8 : 543.9

**ИНТЕНСИВНОСТЬ ТОКСИНООБРАЗОВАНИЯ *PENICILLIUM ROQUEFORTI*,  
*P. BREVICOMPACTUM*, *P. CHRYSOGENUM* НА ЗЕРНОВЫХ СУБСТРАТАХ**

© 2021 г. Г. П. Кононенко<sup>1,\*</sup>, Е. А. Пирязева<sup>1,\*\*</sup>, А. А. Буркин<sup>1,\*\*\*</sup>

<sup>1</sup> *Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии ФНЦ ВИЭВ РАН, 123022 Москва, Россия*

\**e-mail: kononenkogp@mail.ru*

\*\**e-mail: piryazeva01@yandex.ru*

\*\*\**e-mail: aaburkin@mail.ru*

Поступила в редакцию 28.12.2020 г.

После доработки 20.02.2021 г.

Принята к публикации 27.05.2021 г.

В последние годы при изучении молекулярно-генетических механизмов синтеза специфических метаболитов у грибов рода *Penicillium* выявлены вариации в экспрессии генов при изменении внешних факторов, таких как состав питательного субстрата, влажность, освещенность и другие. В данной работе с помощью непрямого твердофазного конкурентного иммуноферментного анализа проведена сравнительная оценка токсинообразующей способности штаммов *P. roqueforti*, *P. brevicompactum* и *P. chrysogenum*, изолированных из растительных объектов с частой контаминацией PR-токсином (PR) и микофеноловой кислотой (МФК), на панели из шести зерновых субстратов при прочих равных экспериментальных условиях. Показано, что у штаммов *P. roqueforti*, образующих PR и МФК совместно, на рисе и кукурузе количества первого токсина на один–два порядка превышает количества второго, а на зерне пшеницы, проса, овса и ячменя их соотношение достигает равновесия либо изменяется на обратное, в сторону большего накопления МФК. Таким образом, нет оснований считать преимущественное накопление PR в сравнении с МФК *in vitro* отличительным признаком *P. roqueforti*. Установлено, что наиболее благоприятными субстратами для биосинтеза МФК *P. brevicompactum* являются зерно пшеницы, овса и ячменя, а для накопления PR-штаммами *P. roqueforti*, не образующими МФК, и *P. chrysogenum* – просо. Подтверждено, что компоненты твердых структурированных зерновых субстратов участвуют в регуляторных механизмах и способны влиять на интенсивность биосинтеза этих токсинов. Обсуждается возможная связь подобных реакций с экспрессией ответственных участков геномов у грибов-продуцентов.

*Ключевые слова:* зерновые субстраты, иммуноферментный анализ, микофеноловая кислота, PR-токсин

DOI: 10.31857/S0026364821040073

ВВЕДЕНИЕ

Грибы рода *Penicillium* относятся к организмам-космополитам, практически не имеют ограничений по ареалам и объектам обитания и обладают разветвленной системой биосинтеза низкомолекулярных соединений. Уже сейчас перечень препаратов с полезными свойствами, выпускаемых с использованием этих организмов, чрезвычайно широк, продолжает пополняться, и, более того, отдельные виды традиционно применяются при производстве пищевых продуктов. Тем не менее, представители рода *Penicillium* известны причастностью к алиментарным отравлениям и способностью продуцировать токсичные вещества (Нумегу et al., 2014). Именно этим объясняются настойчивые усилия исследователей по разработке лабораторных приемов их тестирования. Для промышленных штаммов успешно испытаны

процедуры глубинного культивирования, моделирующие технологические схемы и позволяющие изучать влияние мутаций, делеций и структурных вариаций в геноме продуцентов на биосинтез физиологически активных веществ (Fernandez-Vodega et al., 2009; Wang et al., 2014). Предпринимались попытки предложить субстраты-аналоги для гигиенического контроля пищевых продуктов (Kokkonen et al., 2005), однако найти оптимальные подходы к оценке природных популяций *Penicillium* оказалось сложной задачей. Из-за неоднозначности биохимического ответа грибов на условия культивирования (способ подготовки инокулюма, питательную среду, температуру, влажность, аэрацию, продолжительность роста) проблема, по общему мнению, так и остается нерешенной.

В начале 80-х годов прошлого столетия датские исследователи предложили методику скрининга токсинов и других вторичных метаболитов *Penicil-*

*lium* при краткосрочном культивировании штаммов на коммерческих агаровых средах с последующим визуальным или инструментальным выявлением компонентов экстрактов (Filtenborg, Frisvad, 1980) и использовали ее в полифазной таксономии тервертициллиарных видов (Frisvad, Filtenborg, 1983; 1989). Другие авторы для тех же целей применяли глубинное культивирование в жидких минеральных средах (Kozlovsky et al., 2009). Такое профилирование метаболитов оказалось вполне информативным для систематики, но носило лишь условный и формальный характер при оценке экологической опасности этих грибов (Kačergius et al., 2005; Bragulat et al., 2008; Koteswara Rao et al., 2011). Прогнозирование угроз, связанных с пораженностью объектов окружающей среды, предполагало поиск принципиально другого подхода, ориентированного на наиболее полную реализацию токсигенного потенциала грибов. За последние годы для нескольких видов *Penicillium* проведена расшифровка участков геномов, ответственных за синтез ряда специфических метаболитов и показана важная роль внекластерных регуляторов (Van den Berg et al., 2008). К факторам, оказывающим опосредованное влияние на совокупность биосинтетических процессов, отнесены температура, активность воды по Скотту, pH и биохимические характеристики питательной среды (Geisen et al., 2018). Опыт тестирования грибов *Penicillium*, выделенных из разных биообъектов, показал, что *in vitro* на увлажненном стерилизованном зерне риса происходит более интенсивное накопление токсинов в сравнении с агаровыми средами (Burkin et al., 2019). Причины этого эффекта остаются неясными, однако известно, что структурированные природные субстраты значительно различаются не только составом и качеством основных ингредиентов (аминокислот, липидов и углеводов, главным образом, крахмала), но и химической природой низкомолекулярных экстрактивных веществ. Систематических исследований характера их влияния на функционирование регуляторных механизмов биосинтеза микотоксинов грибами не проводилось, а доступные сведения весьма ограничены, недостаточны и фрагментарны.

Целью данной работы было изучение интенсивности метаболического ответа штаммов токсигенных видов *Penicillium*, выделенных из растительных объектов с частой контаминацией PR-токсином (PR) и микофеноловой кислотой (МФК), при культивировании на нескольких твердых зерновых субстратах.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали штаммы *Penicillium roqueforti* Thom, *P. brevicompactum* Dierckx, *P. chrysogenum* Thom из исследовательской коллекции лабори-

ратории микотоксикологии и санитарии кормов ВНИИВСГЭ – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, выделенные из семян подсолнечника после поверхностной дезинфекции, из побочного продукта их промышленной переработки (шрота), а также из подвяленных и высушенных луговых травянистых растений. Для получения моноконидиальных культур грибов готовили суспензию в 0.1%-м водном стерильном растворе Твин-80, содержащую не более 1–2 конидий в капле бактериологической петли диаметром 0.4 см. В стерильные чашки Петри на дно с помощью той же бактериологической петли вносили на удалении друг от друга 3–4 капли полученной взвеси и заливали тонким слоем осветленного агара Чапека–Докса (ЧДА), расплавленного и затем охлажденного до 35°C. После культивирования (одни сутки, 23–25°C) под микроскопом отмечали удаленные участки агара с проросшими конидиями, вырезали их микологическим крючком и переносили в пробирки со скошенным ЧДА. После 10 сут культивирования штаммы регистрировали в коллекции и помещали на хранение. Видовую идентификацию выполняли по культурально-морфологическим признакам согласно таксономической системе (Raper et al., 1949) с использованием видового эпитета *P. brevicompactum* (“*P. brevi-compactum*”) в соответствии с номенклатурной базой данных MycoBank (<http://www.mycobank.org/>). По результатам предварительного тестирования на суловом агаре (7 сут, 25°C) были выбраны 12 токсигенных штаммов (табл. 1).

Инокулом готовили путем выращивания штаммов на скошенном ЧДА в течение 7–10 суток при температуре 23–25°C. Далее фрагмент мицелия переносили в стеклянные флаконы вместимостью 10 мл и диам. дна 18 мм, содержащие по 1 г зернового субстрата, увлажненного 1 мл воды перед автоклавированием. В качестве субстратов использовали рис (шлифованный круглозерный), овес (овсяные хлопья) и просо, кукурузу, ячмень, пшеницу в виде круп.

После посева флаконы, закрытые ватно-марлевыми пробками и слоем пленки Parafilm “M”<sup>®</sup> (PM-996, “Pechiney Plastic Packing”, США), выдерживали в темноте при 25°C в течение 7 суток. Каждый вариант опыта выполняли в трех повторностях. По окончании культивирования во флаконы добавляли по 3 мл смеси ацетонитрила и воды в объемном соотношении 84 : 16 и интенсивно встряхивали в начале и конце 14-часовой стационарной экстракции. Определение микофеноловой кислоты (МФК) и PR-токсина (PR) проводили после 100-кратного разведения экстрактов буферным раствором методом непрямого конкурентного иммуноферментного анализа с помощью аттестованных тест-систем по процедуре (Burkin et al., 2019). Результаты выражали как средние арифме-

**Таблица 1.** Штаммы грибов рода *Penicillium*, используемые в исследовании

| Вид гриба, продуцируемый токсин | Рег. № штамма | Объект выделения культуры                       | Происхождение, область | Год  |
|---------------------------------|---------------|---|------------------------|------|
| <i>P. brevicompactum</i> , МФК  | 39/2          | семена подсолнечника                            | Курская                | 2016 |
|                                 | 296/2         | луговые травы                                   | Московская             | 2013 |
|                                 | 317/4         | луговые травы                                   | “ ”                    | 2013 |
|                                 | 602/1         | тимофеевка луговая<br><i>Phleum pratense</i> L. | “ ”                    | 2013 |
|                                 | 631/4         | злаковые травы                                  | “ ”                    | 2013 |
| <i>P. chrysogenum</i> , PR      | 52/3          | шрот подсолнечный                               | Воронежская            | 2006 |
|                                 | 592/1         | луговые травы                                   | Московская             | 2013 |
| <i>P. roqueforti</i> , PR, МФК  | 3/5           | луговые травы                                   | “ ”                    | 2013 |
|                                 | 88/2          | луговые травы                                   | “ ”                    | 2013 |
|                                 | 184           | костер безостый <i>Bromus inermis</i> Leys.     | “ ”                    | 2013 |
|                                 | 648/5         | луговые травы                                   | “ ”                    | 2013 |
|                                 | 650           | луговые травы                                   | “ ”                    | 2013 |

**Таблица 2.** Продукция PR-токсина (PR) и микофеноловой кислоты (МФК) штаммами *Penicillium roqueforti* на различных зерновых субстратах

| № штамма | токсин | Количества PR и МФК, мкг/г субстрата ( $M \pm SEM$ ) |          |          |          |            |           |
|----------|--------|--|----------|----------|----------|------------|-----------|
|          |        | рис  | овес     | просо    | кукуруза | ячмень     | пшеница   |
| 3/5      | PR     | 1048 ± 56  | 272 ± 20 | 731 ± 13 | 303 ± 17 | 1199 ± 34  | 396 ± 29  |
|          | МФК    | 216 ± 10   | 908 ± 28 | 431 ± 6  | 60 ± 0   | 1615 ± 185 | 886 ± 22  |
| 648/5    | PR     | 53 ± 2   | 594 ± 17 | 143 ± 4  | 60 ± 2   | 236 ± 22   | 12 ± 2    |
|          | МФК    | 2 ± 0.3  | 560 ± 6  | 19 ± 1   | 13 ± 0.6 | 73 ± 3     | 40 ± 2    |
| 650      | PR     | 293 ± 4  | 360 ± 19 | 347 ± 14 | 342 ± 14 | 982 ± 30   | 1093 ± 54 |
|          | МФК    | 2 ± 0.3  | 19 ± 0.9 | 19 ± 2   | 3 ± 0.3  | 74 ± 2     | 142 ± 6   |
| 88/2     | PR     | 17 ± 1   | 4 ± 0.7  | 86 ± 3   | 65 ± 0.7 | 13 ± 0.9   | 2 ± 0.3   |
| 184      | PR     | 104 ± 4  | 53 ± 2   | 428 ± 76 | 161 ± 10 | 33 ± 6     | 303 ± 47  |

тические полученных значений ( $M$ ) с ошибкой выборочной средней ( $\pm SEM$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все штаммы *P. roqueforti* значительно различались по интенсивности накопления PR на зерне риса – от десятков до более тысячи мкг/г (табл. 2). На это неоднократно указывалось и другими авторами, в том числе и для агаризованных сред – для 5 штаммов (Fernandez-Bodega et al., 2009), а также для 55 штаммов, различающихся по генетическому статусу и происхождению (Hidalgo et al., 2017).

Три из пяти тестируемых штаммов *P. roqueforti* на всех зерновых субстратах образовывали PR совместно с МФК (табл. 2). На рисе и кукурузе количества первого токсина были на один–два порядка выше, чем второго. Однако категоричное утверждение о том, что преобладание PR над МФК свойственно виду *P. roqueforti* (Frisvad, Samson, 2004) нашло подтверждение только для одного из них – № 650. Остальные штаммы проявляли индивидуальные реакции, соотношение количеств метаболитов практически достигало равновесия или изменялось на обратное в сторону большего накопления МФК у № 3/5 на четырех субстратах (овес, просо, ячмень, пшеница) и у № 648/5 – на овсе и пшенице.

**Таблица 3.** Продукция PR-токсина штаммами *Penicillium chrysogenum* на различных зерновых субстратах

| № штамма | Количество PR-токсина, мкг/г субстрата ( $M \pm SEM$ ) |            |           |           |           |           |
|----------|--|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|          | рис  | овес       | просо     | кукуруза  | ячмень    | пшеница   |
| 52/3     | 2.2 ± 0.2  | 2.6 ± 0.1  | 7.4 ± 0.1 | 3.8 ± 0.4 | 4.2 ± 0.6 | 2.9 ± 0.1 |
| 592/1    | 2.8 ± 0.1  | 0.7 ± 0.03 | 9.3 ± 0.2 | 0.9 ± 0.1 | 2.0 ± 0.2 | 0.8 ± 0.1 |

**Таблица 4.** Продукция микофеноловой кислоты штаммами *Penicillium brevicompactum* на различных зерновых субстратах

| № штамма | Количество микофеноловой кислоты, мкг/г субстрата ( $M \pm SEM$ ) |            |            |            |            |            |
|----------|---|------------|------------|------------|------------|------------|
|          | рис   | овес       | просо      | кукуруза   | ячмень     | пшеница    |
| 39/2     | 264 ± 26  | 733 ± 72   | 390 ± 8    | 127 ± 15   | 449 ± 49   | 512 ± 48   |
| 296/2    | 653 ± 60  | 2192 ± 151 | 1673 ± 68  | 1392 ± 39  | 2885 ± 106 | 2259 ± 63  |
| 317/4    | 1579 ± 164  | 3086 ± 405 | 3017 ± 408 | 2050 ± 166 | 7344 ± 124 | 4240 ± 258 |
| 602/1    | 535 ± 47  | 2921 ± 70  | 878 ± 43   | 320 ± 26   | 2240 ± 62  | 2252 ± 156 |
| 631/4    | 428 ± 43  | 294 ± 6    | 406 ± 38   | 125 ± 11   | 342 ± 21   | 1023 ± 87  |

В целом ответная реакция штаммов на тип среды была по PR вполне умеренной с индивидуальными колебаниями его количеств в пределах одного порядка, но по МФК оказалась заметно более выраженной с широтой варьирования в два порядка.

Долгое время считалось, что пути образования этих двух метаболитов независимы, но теперь на молекулярном уровне между ними уже доказана связь — перекрестное взаимовлияние генов (Hidalgo et al., 2014). Подобные генные отношения были показаны и на примере синтеза PR и пенициллина при сравнении типового штамма *P. chrysogenum* и его модификаций (Wang et al., 2014). Выявленная в нашем эксперименте разная направленность и изменчивость ответных метаболических реакций *P. roqueforti* с участием двух токсинов, по-видимому, отражает сложный характер влияния субстрата на функционирование всего биосинтетического комплекса. В последние годы для этого вида завершено подробное изучение механизма биосинтеза МФК (Del-Cid et al., 2016; Gillot et al., 2016) и начаты исследования генов, участвующих в образовании PR (Hidalgo et al., 2017).

У двух штаммов *P. roqueforti* (№ 88/2 и № 184) МФК не была найдена, но способность к биосинтезу PR сохранялась. Колебания интенсивности накопления токсина по субстратам не превышали одного порядка с наибольшими значениями на вариантах с просом (табл. 2). Штаммы *P. chrysogenum* также продуцировали PR, но с меньшей интенсивностью и в сопоставимых количествах на зерне риса (табл. 3). Недавно установлено, что у

этого вида биосинтез PR на рисовом субстрате происходит при участии кластера, включающего гены *P. roqueforti* (*prx1–prx4*) и мембранный антипортер 14-TMS drug/H<sup>+</sup> (Hidalgo et al., 2014). В нашем эксперименте оба штамма *P. chrysogenum*, как и штаммы *P. roqueforti* (№ 88/2 и 184), демонстрировали его преимущественное накопление на просе, и логично предположить, что подобная реакция может быть связана с экспрессией этого участка генома компонентами данной питательной среды.

У пяти штаммов *P. brevicompactum* различия в количествах МФК на рисе и остальных субстратах не превышали одного порядка (табл. 4). В целом ослабленное продуцирование этого метаболита отмечалось на рисе и кукурузе — субстратах с высоким содержанием крахмала, для двух штаммов — на рисе, у остальных — на кукурузе.

Ранее для штамма *P. brevicompactum* ATCC 9056 также было отмечено пониженное накопление МФК на рисе и кукурузе, а наибольшее — на овсе и пшенице (Bartman et al., 1981). Важно заметить, что у штаммов *P. roqueforti*, синтезирующих МФК наряду с PR, наименьшие количества этого токсина также найдены в вариантах с рисовым и кукурузным субстратами (табл. 2). Очевидно, что при лабораторной оценке активности потенциальных продуцентов МФК среди *Penicillium* предпочтение следует отдавать субстратам на основе зерна пшеницы, овса и ячменя.

Таким образом, ингредиенты твердых зерновых субстратов способны к опосредованному участию в регуляции основных путей биосинтеза ми-

котоксинов, возможно, оказывая влияние как на промежуточные, так и на конечные стадии, а также на перекрестные контакты между ними. Связано ли это с одной или несколькими группами низкомолекулярных веществ, комплексами компонентов разной химической природы или их совокупностью, предстоит выяснить в будущем. Накопление таких сведений важно не только для перспективных молекулярных исследований механизмов биосинтеза микотоксинов, но и в практическом аспекте. Поиск условий, при которых токсигенные грибы наиболее полно проявляют потенциальные возможности образования особо опасных метаболитов, открывает путь к формированию эффективных приемов оценки реальных рисков, связанных с контаминацией агропродукции.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 гг. (тема 0579-2014-0009, регистрационный номер НИОКР в ФГБНУ «ЦИТИС» 114121150149 от 11.12.2014 г.)

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Bartman C.D., Doerfler D.L., Bird B.A. et al.* Mycophenolic acid production by *Penicillium brevicompactum* on solid media. *Appl. Environ. Microbiol.* 1981. V. 41 (3). P. 729–736.
- Bragulat M.R., Martínez E., Castellá G. et al.* Ochratoxin A and citrinin producing species of the genus *Penicillium* from feedstuffs. *Inter. J. Food Microbiol.* 2008. V. 126. P. 43–48.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.04.034>
- Brock N.L., Dickschat J.S.* PR-toxin biosynthesis in *Penicillium roqueforti*. *Chem. Bio. Chem.* 2013. V. 14. P. 1189–1193.  
<https://doi.org/10.1002/cbic.201300254>
- Burkin A.A., Kononenko G.P., Piryazeva E.A.* Toxin-producing fungi of the genus *Penicillium* in coarse fodders. *Agric. Biol.* 2019. V. 54 (3). P. 616–625.  
<https://doi.org/10.15389/agrobiol.2019.3.616eng>
- Del-Cid A., Gil-Durán C., Vaca I. et al.* Identification and functional analysis of the mycophenolic acid gene cluster of *Penicillium roqueforti*. *PLOS One.* 2016. V. 11 (1). e0147047.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147047>
- Fernández-Bodega M.A., Mauriz E., Gómez A. et al.* Proteolytic activity, mycotoxins and andrastin A in *Penicillium roqueforti* strains isolated from Cabrales, Valdeón and Bejes-Tresvito local varieties of blue-veined cheeses. *Inter. J. Food Microbiol.*, 2009. V. 136. P. 18–25.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.09.014>
- Filtenborg O., Frisvad J.C.* A simple screening method for toxigenic moulds in pure cultures. *Lebensm. Wiss. Technol.* 1980. V. 13. P. 128–130.
- Frisvad J.C., Filtenborg O.* Classification of terverticillate penicillia based on profiles of mycotoxins and other secondary metabolites. *Appl. Environ. Microbiol.* 1983. V. 46 (6). P. 1301–1310.
- Frisvad J.C., Filtenborg O.* Terverticillate penicillia: chemotaxonomy and mycotoxin production. *Mycologia.* 1989. V. 81. P. 837–861.  
<https://doi.org/10.2307/3760103>
- Frisvad J.C., Samson R.A.* Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Stud. Mycol.* 2004. V. 49. P. 1–174.
- Frisvad J.C., Smedsgaard J., Larsen T.O. et al.* Mycotoxins, drugs and other extrolites produced by species in *Penicillium* subgenus *Penicillium*. *Stud. Mycol.* 2004. V. 49. P. 201–241.
- Geisen R., Schmidt-Heydt M., Touhami N. et al.* New aspects of ochratoxin A and citrinin biosynthesis in *Penicillium*. *Curr. Opin. Food Sci.* 2018. V. 23. P. 23–31.  
<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.04.001>
- Gillot G., Jany J.-L., Dominguez-Santos R. et al.* Genetic basis for mycophenolic acid production and strain-dependent production variability in *Penicillium roqueforti*. *Food Microbiol.* 2016. V. 62. P. 239–250.  
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.10.013>
- Hidalgo P.I., Poirier E., Ullán R.V. et al.* *Penicillium roqueforti* PR toxin gene cluster characterization. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2017. V. 101. P. 2043–2056.  
<https://doi.org/10.1007/s00253-016-7995-5>
- Hidalgo P.I., Ullán R.V., Albillos S.M. et al.* Molecular characterization of the PR toxin gene cluster in *Penicillium roqueforti* and *Penicillium chrysogenum*: cross talk of secondary metabolite pathways. *Fungal Genet. Biol.* 2014. V. 62. P. 11–24.  
<https://doi.org/10.1016/j.fgb.2013.10.009>
- Hymery N., Vasseur V., Coton M. et al.* Filamentous fungi and mycotoxins in cheese: A review. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2014. V. 13. P. 437–456.  
<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12069>
- Kačergius A., Lugauskas A., Levinskaitė L. et al.* Screening of micromycetes producing toxic substances under various conditions. *Botanica Lithuanica.* 2005. Suppl. 7. P. 65–75.
- Kokkonen M., Jestoi M., Rizzo A.* The effect of substrate on mycotoxin production of selected *Penicillium* strains. *Inter. J. Food Microbiol.* 2005. V. 99 (2). P. 207–214.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.08.014>
- Koteswara Rao V., Shilpa P., Girisham S. et al.* Incidence of mycotoxigenic penicillia in feeds of Andhra Pradesh, India. *Inter. J. Biotechnol. Mol. Biol. Res.* 2011. V. 2 (2). P. 46–50.
- Kozlovsky A.G., Zhelifonova V.P., Antipova T.V.* Secondary metabolites in the taxonomy of fungi of the subgenus *Penicillium*. *Microbiol.* 2009. V. 78 (5). P. 618–623.  
<https://doi.org/10.1134/S0026261709050142>
- Raper K.B., Thom C., Fennell D.I.* A manual of the *Penicillia*. The Williams and Wilkins Comp., Baltimore, 1949.
- Wang F.-Q., Zhong J., Zhao Y. et al.* Genome sequencing of high-penicillin producing industrial strain of *Penicillium chrysogenum*. *BMC Genomics.* 2014. V. 15. Suppl. 1. P. S11.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-S1-S11>

## Toxin-producing ability of *Penicillium roqueforti*, *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum* on grain substrates

G. P. Kononenko<sup>a,#</sup>, E. A. Piryazeva<sup>a</sup>, and A. A. Burkin<sup>a</sup>

<sup>a</sup> All-Russia Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene, and Ecology of Skryabin and Kovalenko Federal Scientific Center of All-Russia Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Moscow, Russia

<sup>#</sup>e-mail: kononenkogn@mail.ru

In recent years, the study of molecular and genetic mechanisms of the synthesis of specific metabolites in fungi of the genus *Penicillium* revealed variations in gene expression when changing external factors, such as the composition of the nutrient substrate, humidity, illumination, and others. In this work, a comparative assessment of the toxin-producing ability of *P. roqueforti*, *P. brevicompactum*, and *P. chrysogenum* strains isolated from plant objects with frequent contamination with PR-toxin (PR) and mycophenolic acid (MPA), was performed on a panel of six grain substrates under other equal experimental conditions using indirect solid-phase competitive enzyme immunoassay. It is shown that in *P. roqueforti* strains that form PR and MPA together, the amounts of the first toxin are one or two orders of magnitude higher in rice and maize while their ratio reaches equilibrium in wheat, millet, oats, and barley, or reverses in the direction of greater accumulation of MPA. Thus, there is no reason to consider the predominant accumulation of PR in comparison with MPA in vitro as a distinctive feature of *P. roqueforti*. It was found that the most favorable substrates for the biosynthesis of the MPA of *P. brevicompactum* are wheat, oat and barley grains, and for the accumulation of PR by *P. roqueforti* strains that do not form MPA and by *P. chrysogenum* – millet. It is confirmed that the components of solid structured grain substrates are involved in regulatory mechanisms and are able to influence the intensity of biosynthesis of these toxins. The possible connection of such reactions with the expression of responsible genome regions in producing fungi is discussed.

**Keywords:** ELISA, grain substrates, mycophenolic acid, PR-toxin