

Антимикробная активность экстрактов *Stereum hirsutum* в зависимости от состава питательной среды

М. Ю. ЗИАНГИРОВА, М. И. ЛЕОНТЬЕВА, *В. С. ЛЫСАКОВА,
А. В. АВТОНОМОВА, Е. Б. ИСАКОВА, Л. М. КРАСНОПОЛЬСКАЯ

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе», Москва, Россия

Резюме

Актуальность. Поиск новых антимикробных соединений остаётся критически важной задачей в связи с растущей антибиотикорезистентностью. Важным ресурсом для отбора продуцентов метаболитов с целевой активностью являются базидиомицеты, метаболический профиль которых существенно зависит от условий культивирования. *Stereum hirsutum* известен способностью синтезировать антимикробные вещества, однако зависимость его биосинтетической активности от условий культивирования изучена недостаточно. **Цель.** Изучить влияние состава питательной среды на рост биомассы и антимикробную активность экстрактов культуральной жидкости и мицелия базидиомицета *S. hirsutum*. **Материал и методы.** Погружённое культивирование штамма *S. hirsutum* 1 на шести средах с различными источниками углерода (глюкоза, меласса, глицерин) и азота (дрожжевой экстракт, пептон). Получение этилацетатных экстрактов культуральной жидкости и этанольных экстрактов мицелия. Оценка антибактериальной активности методом серийных разведений в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий для определения минимальной подавляющей концентрации. Оценка антифунгальной активности диффузионным методом в агар. **Результаты.** Состав среды существенно влиял на накопление биомассы (от 3,6 до 15,45 г/л) и выход экстрактов (от 40,5 до 184,5 мг/л). Наибольшая антибактериальная активность выявлена у экстракта, полученного на среде с глюкозой и дрожжевым экстрактом, его МИК в отношении *Staphylococcus haemolyticus* 585 составила 320 мкг/мл. Экстракты проявили антифунгальную активность в отношении *Candida albicans*, *Candida auris*, *Aspergillus brasiliensis* и других клинически значимых грибов-патогенов. **Заключение.** Качественный состав питательной среды позволяет направленно регулировать антимикробную активность экстрактов *S. hirsutum*. Для получения экстрактов с высокой антибактериальной и антифунгальной активностями целесообразно использовать в качестве источников углерода и азота глюкозу и дрожжевой экстракт соответственно. Среда с мелассой обеспечивает наибольший выход погружённой биомассы. Полученные результаты являются основой для разработки биотехнологии получения антимикробных препаратов на основе метаболитов *S. hirsutum*.

Ключевые слова: базидиомицеты; экстракт культуральной жидкости; экстракт мицелия; антибактериальная активность; антифунгальная активность; *Stereum hirsutum*

Для цитирования: Зиангирова М. Ю., Леонтьева М. И., Лысакова В. С., Автономова А. В., Исакова Е. Б., Краснополянская Л. М. Антимикробная активность экстрактов *Stereum hirsutum* в зависимости от состава питательной среды. *Антибиотики и химиотерапия*. 2025; 70 (7–8): 10–18. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-10-18>. EDN: NUIEZC.

Antimicrobial Activity of *Stereum hirsutum* Extracts Depending on the Nutrient Medium Composition

MAYYA YU. ZIANGIROVA, MARIA I. LEONTEVA, *VALERIA S. LYSAKOVA,
ANASTASIA V. AVTONOMOVA, ELENA B. ISAKOVA, LARISSA M. KRASNOPOLSKAYA

Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia

Abstract

Background. The search for new antimicrobial compounds remains critically important due to growing antibiotic resistance. Basidiomycetes represent an important resource for selecting producers of metabolites with targeted activity, as their metabolic profile is highly dependent on cultivation conditions. *Stereum hirsutum* is known for its ability to synthesize antimicrobial substances; however, the dependence of its biosynthetic activity on cultivation conditions has been insufficiently studied. **The aim of the work.** To study the effect of the nutrient medium composition on the biomass growth and antimicrobial activity of culture liquid and mycelial extracts of the basidiomycete *S. hirsutum*. **Material and methods.** Submerged cultivation of the *S. hirsutum* 1 strain on six media with different carbon (glucose, molasses, glycerol) and nitrogen (yeast extract, peptone) sources. Preparation of ethyl acetate extracts from the culture liquid and ethanol extracts from the mycelium. Preparation of ethyl acetate extracts from the culture liquid and ethanol extracts from the mycelium. Antibacterial activity was assessed using the broth microdilution method against Gram-positive and Gram-negative bacteria to determine the minimum inhibitory

*Адрес для корреспонденции:
E-mail: valera.lisackowa@yandex.ru



*Correspondence to:
E-mail: valera.lisackowa@yandex.ru



concentration (MIC). Antifungal activity was evaluated by the agar diffusion method. **Results.** Medium composition significantly affected biomass accumulation (ranging from 3.6 to 15.45 g/L) and extract yields (ranging from 40.5 to 184.5 mg/L). The highest antibacterial activity was observed in the extract obtained on the medium with glucose and yeast extract, showing an MIC of 320 µg/mL against *Staphylococcus haemolyticus* 585. The extracts demonstrated antifungal activity against *Candida albicans*, *Candida auris*, *Aspergillus brasiliensis*, as well as other clinically significant pathogenic fungi. **Conclusion.** The qualitative composition of the nutrient medium allows for the targeted regulation of the antimicrobial activity of *S. hirsutum* extracts. To obtain extracts with high antibacterial and antifungal activity, it is advisable to use glucose and yeast extract as the carbon and nitrogen sources, respectively. Media with molasses provide the highest yield of submerged biomass. The obtained results provide the basis for the development of biotechnology for producing antimicrobial preparations based on *S. hirsutum* metabolites.

Keywords: basidiomycetes; culture liquid extract; mycelial extract; antibacterial activity; antifungal activity; *Stereum hirsutum*

For citation: Ziangirova M. Yu., Leonteva M. I., Lysakova V. S., Avtonomova A. V., Isakova E. B., Krasnopol'skaya L. M. Antimicrobial activity of *Stereum hirsutum* extracts depending on the nutrient medium composition. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy*. 2025; 70 (7–8): 10–18. doi: <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2025-70-7-8-10-18>. EDN: NUIEZC. (in Russian)

Введение

Поиск активных антимикробных метаболитов и их продуцентов остаётся важным аспектом современной науки в условиях растущей антимикробной резистентности [1]. Природные молекулы могут проявлять высокую биологическую активность, а также служить основой для химической модификации, позволяя получать полусинтетические аналоги с улучшенными фармакологическими свойствами. Важным ресурсом для отбора продуцентов метаболитов с антимикробной активностью являются базидиомицеты, метаболитный профиль которых существенно зависит от условий культивирования.

Одним из наиболее значимых соединений, выделенных из базидиомицетов, является плевромутилин, полученный из видов *Clitopilus* и *Omphalina* и высокоактивный в отношении грамположительных бактерий [2, 3]. Первый системный антибиотик класса плевромутилинов, лефамулин, был одобрен для лечения внебольничной бактериальной пневмонии [4].

Представители рода *Stereum* известны способностью продуцировать разнообразные биологически активные соединения, включая вещества с противоопухолевыми, гепатопротекторными, цитотоксическими, антипаразитарными и антимикробными свойствами [5]. *Stereum hirsutum* (стереем жестковолосистый) — широко распространённый несъедобный гриб из порядка руссуловых, произрастающий как на мёртвой, так и на ослабленной живой древесине. Плодовые тела однолетние, окрашенные в серые, охристые и жёлтые тона с оранжевым краем.

Известны результаты изучения как экстрактов, так и индивидуальных метаболитов этого вида. Из *S. hirsutum* выделены биологически активные сесквитерпеноиды, в том числе проявляющие антимикробные свойства. Хирсутенолы А–С, выделенные из культуральной жидкости, показали активность в отношении грамотрицательной бактерии *Escherichia coli* [6]. Стереумамиды А, D и стеростерин Q, также выделенные из культуральной жидкости, обладали антибактериальной

активностью против грамположительных и грамотрицательных бактерий. Стереумамиды А и D показали значения минимальной подавляющей концентрации (МПК) 12,5 мкг/мл в отношении *E. coli* и *Staphylococcus aureus*, в то время как для стеростерина Q характерны более высокие значения МПК [7].

Из мицелия *S. hirsutum* были выделены производные поликетидов: 2,4-дигидрокси-6-метилбензоат и 4'-гидрокси-6-(3"-метил-2"-бутенил)-фенил-2,4-дигидрокси-6-метилбензоат, проявляющие одинаковую активность в отношении *S. aureus* с МПК 25 мкг/мл [8]. Стеренин D проявлял в отношении *Botrytis cinerea* фунгистатическую активность в концентрации 20 мкг/мл и фунгицидную — 50 мкг/мл [9]. Эпидоксистеролы 1 и 2, стерольные соединения, выделенные из плодовых тел, показали активность в отношении *Mycobacterium tuberculosis* с МПК 16 мкг/мл [10].

Поскольку в литературе отсутствует информация о зависимости биосинтетической активности *S. hirsutum* от условий культивирования, целью настоящей работы явилось изучение влияния состава питательной среды на антимикробную активность экстрактов культуральной жидкости и погружённого мицелия базидиомицета *S. hirsutum*.

Задачами исследования было проведение погружённого культивирования штамма *S. hirsutum* 1 на средах с различными сочетаниями источников углерода и азота; оценка выхода биомассы и получение экстрактов из культуральной жидкости и мицелия; определение антибактериальной активности полученных экстрактов культуральной жидкости в отношении клинически значимых грамположительных и грамотрицательных бактерий; оценка антифунгальной активности экстрактов культуральной жидкости и мицелия; выявление условий культивирования для увеличения антимикробной активности экстрактов.

Материал и методы

Объект исследования и условия культивирования. В работе использовали штамм базидиомицета *S. hirsutum* 1 из коллекции лаборатории ББАС ФГБНУ «НИИНА». Видовая при-

надлежность подтверждена секвенированием ITS1 и ITS2 участков по Сэнгеру, GenBank № PV918712.

Штамм *S. hirsutum* 1 выращивали на картофельно-глюкозном агаре (КГА) в термостате при 26°C до полного освоения культурой поверхности питательного среды. Хранение осуществляли в холодильниках при 4°C. Погружённое культивирование проводили в два этапа согласно методикам, описанным в работах [11, 12]. Посевной мицелий выращивали в течение 6 сут на среде [11] следующего состава (г/л): глюкоза — 20, пептон — 10, соевая мука — 10, KH_2PO_4 — 2,5, MgSO_4 — 0,25. Для этапа ферментации использовали шесть опытных сред, различающихся источником углерода и азота (табл. 1). Минеральная основа для всех сред включала KH_2PO_4 — 2,5 г/л, MgSO_4 — 0,25 г/л. Значение pH всех сред до стерилизации составляло 6,1. Все среды стерилизовали при 0,25 доб. атм. в течение 20 мин.

Погружённое культивирование осуществляли в 750 мл колбах Эрленмейера, содержащих 100 мл среды, на орбитальном большегрузном шейкере Infors RC-406 (200 об./мин, 25°C). Инокулом вносили в количестве 10%. Продолжительность ферментации составляла до 8 сут. Полученный мицелий отделяли от культуральной жидкости фильтрованием через лавсановую ткань, замораживали при -49°C, а затем лиофильно высушивали (лиофильная сушилка ЛС-500, ООО «Проинтех», Россия). Выход биомассы определяли гравиметрическим методом. Значение pH культуральной жидкости измеряли потенциометрически с помощью pH-метра PHS-3C.

Получение экстрактов. Экстракцию культуральной жидкости проводили однократно этилацетатом (АО «БЕКТОН», Россия) в соотношении 1:1. Лيوфилизированную биомассу измельчали с помощью ступки и пестика и экстрагировали 96% этанолом в соотношении 1 г/10 мл в течение 15 мин на магнитной мешалке при комнатной температуре. Все полученные экстракты упаривали на роторном испарителе KnF RC600 (KNE, Германия) при 40 °C. Выход экстрактов определяли гравиметрически.

Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК). Для определения антибактериальной активности полученных экстрактов были использованы штаммы тест-организмов из коллекции ФГБНУ НИИНА: грамположительные бактерии — *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* 10, *Staphylococcus epidermidis* 533, *Staphylococcus haemolyticus* 585, *Enterococcus faecium* 569; грамотрицательные бактерии — *Acinetobacter baumannii* ATCC 5696, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Salmonella choleraesuis* ATCC 14028, *Proteus vulgaris* ATCC 13315.

Антибактериальную активность экстрактов оценивали путём определения их МПК микрометодом серийных разведений, согласно рекомендациям CLSI [13]. Стоковые растворы экстрактов готовили в 5% растворе диметилсульфоксида (ДМСО, АО «БЕКТОН», Россия) до концентрации 10 мг/мл. В качестве контроля использовали левофлоксацин («Белмедпрепараты РУП», Беларусь).

Для культивирования *Staphylococcus* spp., *A. baumannii*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. choleraesuis*, *P. vulgaris* использовали готовую сухую среду — триптиказо-соевый агар (Trypticase Soy Agar, BBL). Для культивирования *Enterococcus* spp. использовали готовую сухую среду — колумбийский агар (Columbia

Agar Base, BBL). Среды стерилизовали автоклавированием при 121°C в течение 15 мин.

Суточные культуры ресуспендировали в изотоническом растворе до плотности 0,5 по стандарту МакФарланда ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл), затем разводили бульоном Мюллера-Хинтона (Acumedia, Baltimore, США) до 5×10^5 КОЕ/мл. В 96-луночные планшеты вносили по 100 мкл бульона, после чего готовили серийные разведения: в первую лунку добавляли экстракт в начальной концентрации 2560 мкг/мл или левофлоксацин 32 мкг/мл, затем последовательно переносили по 100 мкл в следующие лунки, получая двухкратные разведения до 10 мкг/мл для экстрактов и до 0,25 мкг/мл для левофлоксацина. После добавления 100 мкл бактериальной суспензии (конечное разведение 1:2) планшеты инкубировали при 36°C в течение 24 ч.

МПК регистрировали как минимальную концентрацию, полностью подавляющую визуально определяемый рост бактерий. Контроль включал чистоту сред и рост микроорганизмов без экстрактов. Воспроизводимость результатов подтверждалась тремя независимыми экспериментами с допустимым отклонением в одно разведение.

Световая микроскопия. Микроскопию погружённого мицелия, полученного в результате культивирования, проводили на стереоскопическом микроскопе (Микромед MC3 Zoom LED, Россия) с увеличением $\times 50$.

Определение антифунгальной активности. Антифунгальную активность экстрактов оценивали диффузионным методом из лунок в агар. В качестве тест-объектов использовали следующие штаммы мицелиальных грибов и дрожжей: *Candida albicans* MBC2D-098, *Candidozyma auris* 124/263, *Fusarium* spp. 1222, *Mucor racemosus* 1, *Rhizopus* spp. 12/2, *Syncephalastrum racemosum* 765, *Penicillium commune* MHF235, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, *Aspergillus fumigatus* 6, *Nannizzia gypsea* 343 (ранее *Microsporium gypseum*).

Тест-культуры выращивали на чашках Петри со средой Сабуро. Суспензию грибов — тест-объектов бактериологической петлём вносили в стерильный изотонический раствор и доводили до значения 5 по стандарту мутности МакФарланда, измерения проводили на денситометре DEN-1 (BioSan, Латвия). Затем суспензию добавляли в охлаждённую до (40±2)°C агаризованную среду Сабуро в соотношении 1:20 (суспензия : среда) и разливали в чашки Петри из расчёта 20 мл среды на чашку.

В плотной среде с засеянными микроорганизмами формировали лунки диаметром 7 мм. Сухие экстракты ресуспендировали в 25% этаноле. В каждую лунку вносили по 100 мкл полученного раствора экстракта. Чашки инкубировали при (27±1)°C. Оценивали наличие зоны подавления роста тест-объекта и её величину в мм через 24 ч для *C. albicans* MBC2D-098, *C. auris* 124/263, *P. commune*, *M. racemosus* 1, *Rhizopus* spp. 12/2, *S. racemosum* 765, через 48 ч для *A. brasiliensis* ATCC 16404, *A. fumigatus* 6, *N. gypsea* 343.

Статистический анализ. Все эксперименты по культивированию *S. hirsutum* 1 проводили в двух биологических повторностях. Результаты представлены как среднее значение и стандартное отклонение. Обработка результатов исследования проводилась при помощи пакета программ Microsoft Excel.

Таблица 1. Источники углерода и азота в жидких питательных средах

Table 1. Carbon and nitrogen sources of liquid nutrient media

№ среды	Источник углерода	Источник азота
1	Глюкоза, 20 г/л	Дрожжевой экстракт, 10 г/л + пептон, 2 г/л
2	Глюкоза, 20 г/л	Дрожжевой экстракт, 12 г/л
3	Меласса, 30 г/л	Дрожжевой экстракт, 10 г/л + пептон, 2 г/л
4	Меласса, 30 г/л	Дрожжевой экстракт, 12 г/л
5	Глицерин, 20 г/л	Дрожжевой экстракт, 10 г/л + пептон, 2 г/л
6	Глицерин, 20 г/л	Дрожжевой экстракт, 12 г/л

Результаты и обсуждение

Влияние состава среды на рост биомассы и выход экстрактов. В процессе культивирования мицелий *S. hirsutum* 1 формировал рыхлые пеллеты преимущественно округлой формы с многочисленными отростками (рис. 1). Диаметр пеллет варьировал от 2 до 10 мм и зависел от состава питательной среды. На некоторых средах наблюдали объединение отдельных пеллет за счёт контакта отростков, что приводило к образованию конгломератов. Наблюдаемые различия морфологии пеллет в зависимости от состава сред указывали на сложный характер адаптации штамма к условиям культивирования.

Первоначально был изучен процесс роста штамма *S. hirsutum* 1 на ферментационной среде № 1, используемой при проведении скрининга культур базидиомицетов — продуцентов антимикробных метаболитов [12]. Максимальный выход биомассы, составивший $12,45 \pm 0,05$ г/л, наблюдали на 7-е сутки культивирования. В процессе выращивания отмечали постепенное повышение pH культуральной жидкости от 3,91 до 5,55 (табл. 2, рис. 2).

Для направленного синтеза биологически активных метаболитов штамм культивировали на шести опытных средах, различающихся источником углерода (глюкоза, меласса, глицерин) и азота (дрожжевой экстракт; дрожжевой экстракт+пептон). Полученные результаты (табл. 3, рис. 3) демонстрируют существенную зависимость накопления биомассы и выхода экстрактов от состава среды. Наибольший выход биомассы ($15,45 \pm 0,45$ г/л) был достигнут на среде № 3, содержащей мелассу в качестве источника углерода, которая, помимо сахарозы, включает микрорезлементы и факторы роста, стимулирующие развитие мицелия. Напротив, среды на основе глицерина (№ 5 и № 6) показали наименьшую продуктивность по биомассе (3,6 и 4,05 г/л), что

Таблица 2. Характеристики погружённого культивирования *S. hirsutum* 1 на среде № 1

Table 2. Submerged-cultivation characteristics of *S. hirsutum* 1 on medium No. 1

Сутки культивирования	Выход сухой биомассы, г/л	pH культуральной жидкости
4	$7,75 \pm 0,55$	$3,91 \pm 0,01$
5	$10,4 \pm 0,3$	$4,4 \pm 0,06$
6	$11,1 \pm 0,5$	$5,34 \pm 0,05$
7	$12,45 \pm 0,05$	$5,55 \pm 0,09$
8	$10,65 \pm 0,25$	$5,54 \pm 0,01$

Таблица 3. Характеристики погружённого культивирования *S. hirsutum* 1 на средах с различными источниками углерода и азота

Table 3. Submerged-cultivation characteristics of *S. hirsutum* 1 on media with different carbon and nitrogen sources

№ среды	Состав среды	Выход биомассы, г/л	pH	Выход экстракта, мг/л
1	Глюкоза + пептон + дрожжевой экстракт	$11,75 \pm 0,95$	$4,48 \pm 0,06$	116,5
2	Глюкоза + дрожжевой экстракт	$13,15 \pm 0,75$	$4,07 \pm 0,1$	40,5
3	Меласса + пептон + дрожжевой экстракт	$15,45 \pm 0,45$	$4,49 \pm 0,24$	154,0
4	Меласса + дрожжевой экстракт	$10,76 \pm 0,34$	$4,07 \pm 0,02$	163,0
5	глицерин + пептон + дрожжевой экстракт	$4,05 \pm 0,05$	$5,4 \pm 0,01$	122,0
6	Глицерин + дрожжевой экстракт	$3,6 \pm 0,1$	$5,45 \pm 0,03$	184,5

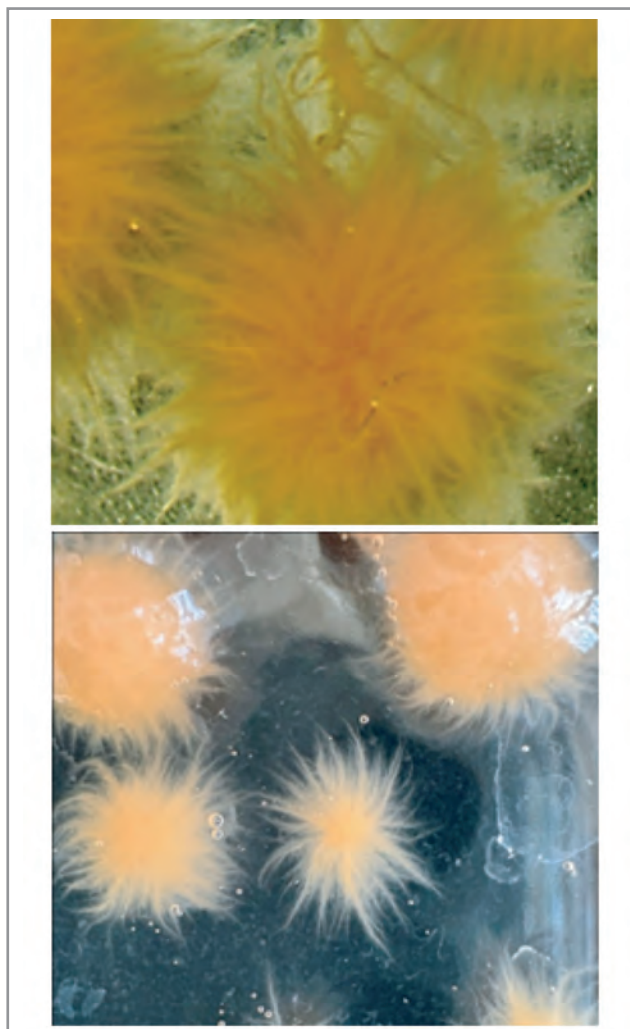


Рис. 1. Морфология пеллет *S. hirsutum* 1 при культивировании на среде № 1, увеличение $\times 50$.

Fig. 1. Morphology of *S. hirsutum* 1 pellets cultivated on medium No. 1, magnification $\times 50$.

может быть связано с его менее доступной формой в качестве углеродного субстрата для данного штамма.

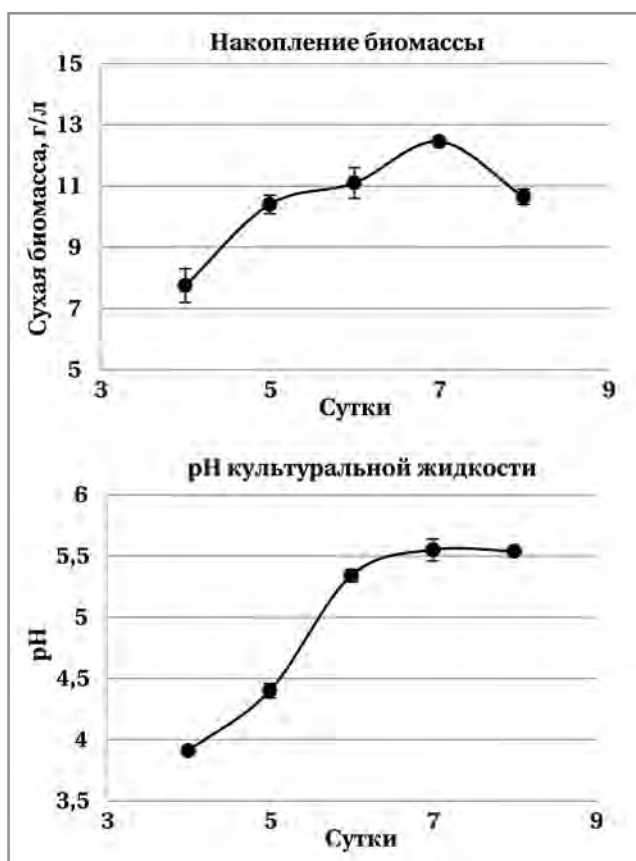


Рис. 2. Накопление биомассы *S. hirsutum* 1 и изменение pH культуральной жидкости на среде № 1.

Fig. 2. Biomass accumulation of *S. hirsutum* 1 and changes in culture liquid pH on medium No. 1.

Выход экстрактов культуральной жидкости варьировал от 40,5 до 184,5 мг/л. Максимальный выход экстракта был зафиксирован на среде № 6 (глицерин+дрожжевой экстракт), несмотря на низкий выход биомассы. Это позволяет предположить, что глицерин плохо усваивается в качестве ростового субстрата и выступает индуктором вторичного метаболизма, перенаправляя ресурсы клетки с пролиферации на синтез биологически активных соединений в условиях стресса [7, 14].

Антибактериальная активность экстрактов погружённой культуры *S. hirsutum* и её зависимость от условий культивирования. В проведённых экспериментах не было обнаружено антибактериальной активности экстрактов погружённого мицелия *S. hirsutum* 1. Антибактериальная активность экстрактов культуральной жидкости существенно варьировала в зависимости от состава питательной среды (табл. 4), что подтверждает гипотезу о возможности направленной регуляции биосинтеза антимикробных метаболитов. Наибольшую активность проявил экстракт, полученный на среде № 2 (глюкоза+дрожжевой экстракт), показав наименьшую МПК в отношении *S. haemolyticus* 585 (320 мкг/мл) и широкий спектр

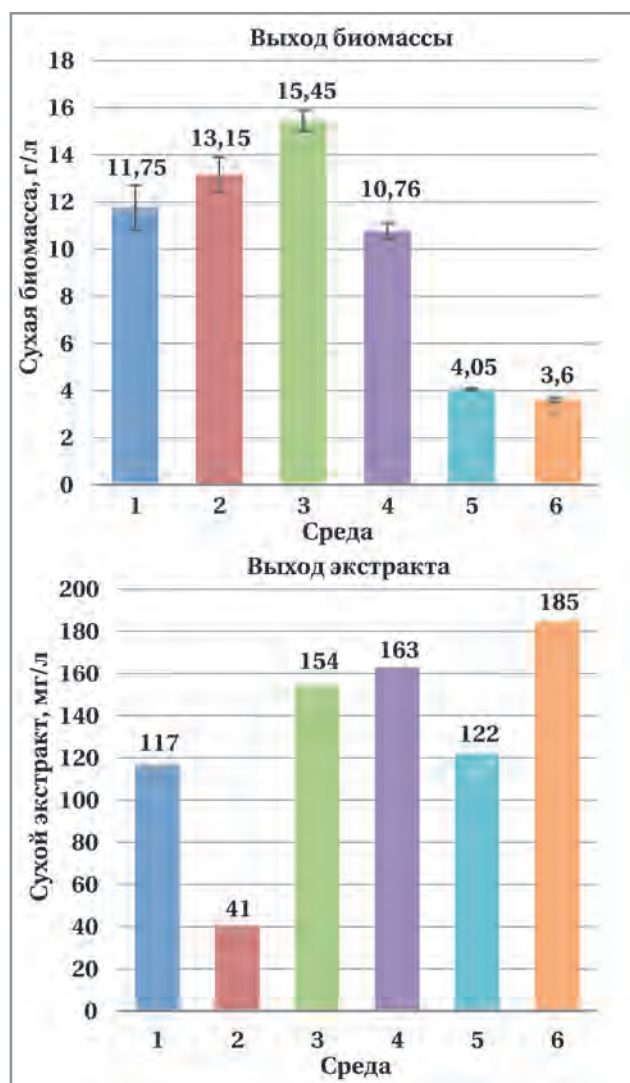


Рис. 3. Влияния различных источников углерода и азота на выход погружённой биомассы и экстрактов культуральной жидкости *S. hirsutum* 1.

Fig. 3. Effect of different carbon and nitrogen sources on the yield of submerged biomass and culture liquid extracts from *S. hirsutum* 1.

действия. Высокая антибактериальная активность не всегда коррелировала с высоким выходом экстракта, что указывает на качественное различие метаболитов в составе экстрактов культуральных жидкостей, полученных на средах с разными источниками питания. Примером таких различий служит сравнение экстрактов культуральных жидкостей сред № 2 и № 6. Экстракты, полученные на средах №№ 1 и 3–5, демонстрировали более узкий спектр и меньшую выраженность активности.

Были определены МПК экстрактов культуральных жидкостей *S. hirsutum* 1, полученные на 5–8-е сутки культивирования на среде № 2 (табл. 5, рис. 4, 5) в отношении самой чувствительной для этих экстрактов бактерии *S. haemolyticus* 585. Наименьшие значения МПК (320 мкг/мл) были зафик-

Таблица 4. МПК экстрактов культуральной жидкости *S. hirsutum* 1 в отношении Гр+ и Гр– микроорганизмов
Table 4. MIC of *S. hirsutum* 1 culture liquid extracts against Gram-positive and Gram-negative microorganisms

№ среды	Минимальная подавляющая концентрация (МПК), мкг/мл									
	Гр+ бактерии					Гр- бактерии				
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> 10	<i>S. epidermidis</i> 533	<i>S. haemolyticus</i> 585	<i>E. faecium</i> 569	<i>A. baumannii</i> ATCC 5696	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	<i>S. choleraesuis</i> ATCC 14028	<i>P. vulgaris</i> ATCC 13315
1	1280	1280	640	640	1280	1280	1280	1280	1280	640
2	>1280	640	640	320	640	640	640	1280	>1280	640
3	1280	>1280	1280	640	1280	1280	1280	1280	>1280	1280
4	1280	1280	640	640	640	640	1280	>1280	>1280	1280
5	1280	640	1280	640	640	1280	1280	1280	>1280	1280
6	>1280	>1280	1280	1280	1280	1280	1280	>1280	>1280	1280

Таблица 5. Характеристики погруженного культивирования *S. hirsutum* 1 на среде № 2

Table 5. Submerged-cultivation characteristics of *S. hirsutum* 1 on medium No. 2

Сутки культивирования	Выход сухой биомассы, г/л	pH культуральной жидкости
5	12,24±0,64	4,23±0,1
6	12,85±0,04	5,85±0,02
7	13,45±0,21	6,04±0,08
8	12,84±0,78	6,25±0,15

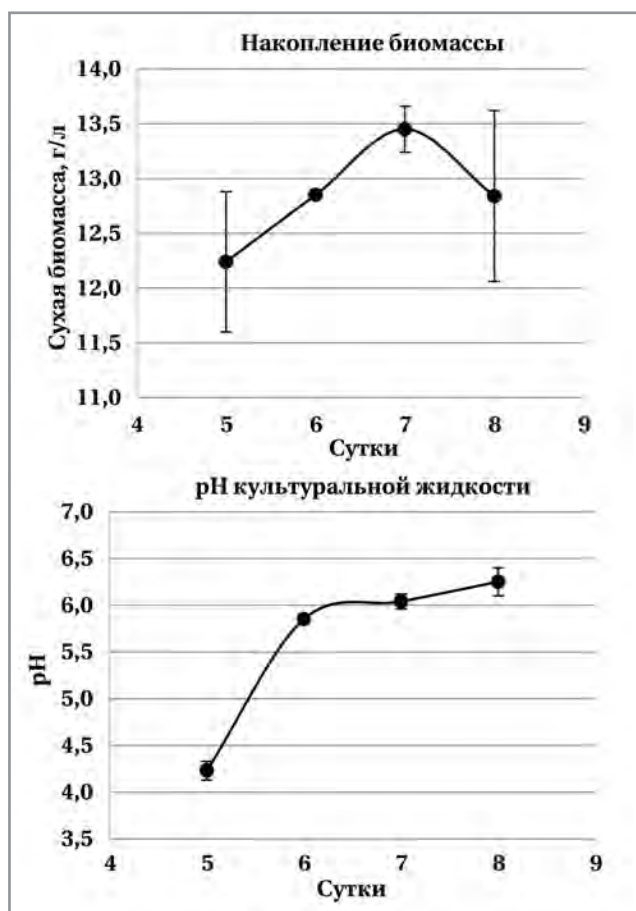


Рис. 4. Накопление биомассы *S. hirsutum* 1 и изменение pH культуральной жидкости в процессе погружённого культивирования на среде № 2.

Fig. 4. Biomass accumulation of *S. hirsutum* 1 and changes in culture liquid pH during submerged cultivation on medium No. 2.



Рис. 5. МПК экстрактов культуральной жидкости *S. hirsutum* 1, выращенном на среде № 2, в отношении *S. haemolyticus* 585.

Fig. 5. MIC of culture liquid extracts from *S. hirsutum* 1 grown on medium No. 2 in relation to *S. haemolyticus* 585.

сированы на 7–8-е сутки, что соответствует идио-фазе. Это однозначно указывает на то, что синтез активных соединений является процессом вторичного метаболизма [5]. Полученные результаты также свидетельствуют о сокращении продолжительности культивирования до 7–8 суток по сравнению с более длительными сроками (20–28 дней), применяемыми в других исследованиях [7, 14] за счёт более эффективных условий выращивания продуцента.

Антифунгальная активность экстрактов. Экстракты культуральной жидкости и мицелия, полученные из культуры *S. hirsutum* 1, выращен-

Таблица 6. Антифунгальная активность экстрактов *S. hirsutum* 1, выращенном на среде № 2 на 7-е сутки
Table 6. Antifungal activity of *S. hirsutum* 1 extracts after 7-day cultivation on medium No. 2

Объект экстракции	Зоны подавления роста, мм										
	Концентрация экстракта, мг/мл	<i>C. albicans</i> MBC 2D098	<i>C. auris</i> 124/263	<i>Mucor racemosus</i> 1	<i>Rhizopus</i> spp. 12/2	<i>S. racemosus</i> 765	<i>P. commune</i> MHF 235	<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	<i>A. fumigatus</i> 6	<i>Fusarium</i> spp. 1222	<i>N. gypsea</i> 343
Культуральная жидкость	18	15,0	11,5	0	0	12,5	16,5	32,5	0	14,5	20,0
Мицелий	40	0	0	0	0	14,0	19,0	36,0	14,0	26,0	0

ной на среде № 2 в течение 7 сут, проявили антифунгальную активность в отношении ряда патогенных и условно-патогенных грибов (табл. 6), среди которых были представители дрожжевых грибов, дерматофитов и мицелиальных грибов, вызывающих инвазивные микозы.

Экстракт культуральной жидкости *S. hirsutum* 1 обладал более широким спектром антифунгального действия, чем экстракт мицелия, и проявлял активность в отношении семи тест-объектов: фунгицидную активность в отношении дрожжевых грибов *C. albicans* MBC2D098 и *C. auris* 124/263, а также мицелиального гриба *Fusarium* spp. 1222 и фунгистатическую активность в отношении мицелиальных грибов *A. brasiliensis* ATCC16404, *P. commune* MHF 235, *S. racemosus* 765 и дерматофита *N. gypsea* 343. Экстракт мицелия продемонстрировал действие только в отношении мицелиальных грибов *A. brasiliensis* ATCC 16404, *A. fumigatus* 6, *P. commune* MHF 235, *N. gypsea* 343 и *S. racemosus* 765 (см. табл. 6).

Исходя из разницы в спектре антифунгального действия, можно предположить, что *S. hirsutum* 1 продуцирует более одного метаболита с антифунгальной активностью. Наибольшая активность как экстракта культуральной жидкости, так и экстракта мицелия была отмечена в отношении *A. brasiliensis* ATCC16404 (рис. 6). При этом в отношении другого вида из рода *Aspergillus* — *A. fumigatus* 6 — активность либо отсутствовала (у экстракта культуральной жидкости), либо была слабо выражена (у экстракта мицелия).

Представители рода *Aspergillus* разнообразны и в рамках систематики организованы в шесть подродов, которые в свою очередь делятся на секции, включающие виды *Aspergillus* [15]. Протестированные *A. brasiliensis* (секция Nigri) и *A. fumigatus* (секция Fumigati) относятся к разным клинически значимым секциям рода *Aspergillus*, обладающим различными характеристиками, в том числе по отношению к антимикробным средствам [15, 16]. Разная чувствительность представителей рода *As-*

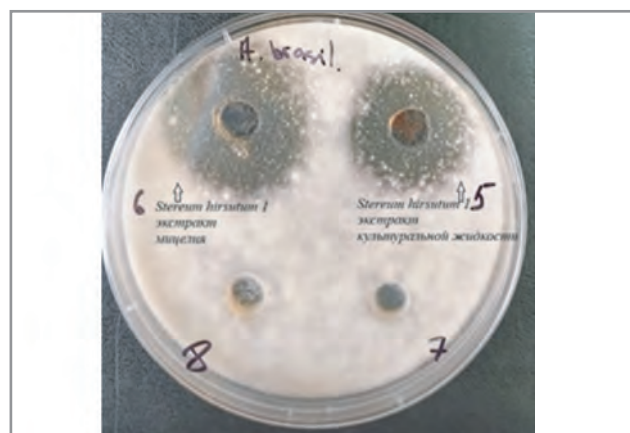


Рис. 6. Зоны подавления роста *A. brasiliensis* ATCC 16404 экстрактами мицелия *S. hirsutum* 1.

Fig. 6. Inhibition zones of *A. brasiliensis* ATCC 16404 growth by *S. hirsutum* 1 mycelial extracts.

pergillus к антифунгальным метаболитам *S. hirsutum* 1 может быть вызвана природной устойчивостью одного вида или же, напротив, повышенной восприимчивостью к метаболитам *S. hirsutum* 1 другого.

Общее обсуждение и перспективы. Проведённое исследование подтвердило исходную гипотезу о том, что состав питательной среды является мощным инструментом для управления не только ростом, но и направленным биосинтезом антимикробных метаболитов у *S. hirsutum* 1. Наиболее перспективными стратегиями являются использование глицерина для индукции синтеза большого количества метаболитов и оптимизация соотношения C:N на среде с глюкозой (среда № 2) для получения экстрактов с максимальной специфической антибактериальной активностью.

Полученные результаты имеют практическую значимость для разработки биотехнологии получения антимикробных препаратов на основе метаболитов *S. hirsutum*. Составы сред № 2 и № 6 могут быть использованы для погружённого культивирования продуцента с целью эффективного накопления антимикробных метаболитов

или биомассы *S. hirsutum* 1 соответственно. Перспективными направлениями будущих исследований являются выделение и установление структуры индивидуальных антимикробных соединений из активных экстрактов, изучение механизмов действия выявленных метаболитов, а также испытание активности очищенных соединений на более широкой панели клинических изолятов, включая полирезистентные штаммы микроорганизмов.

Ограничения исследования. Анализ проводили на уровне экстрактов, что явилось ограничением этого исследования. Для выделения и идентификации индивидуальных активных соединений, ответственных за выявленную активность, будут проведены дальнейшие исследования с применением хроматографических и спектроскопических методов (ВЭЖХ, МС, ЯМР).

Заключение

Проведённое исследование продемонстрировало значительное влияние состава питательной среды на рост биомассы и антимикробную активность экстрактов погружённой культуры *S. hirsutum* 1. Наибольший выход биомассы получали при культивировании продуцента на средах с углеводами в качестве источника углерода. Максимальный выход экстракта культуральной жидкости был отмечен на среде с глицерином и дрожжевым экстрактом, стабильно высокие выходы экстрактов культуральных жидкостей обеспечивали среды с мелассой. Образование антимикробных метаболитов зависело от сочетаний источников углерода и азота.

Наиболее высокая антимикробная активность у экстрактов культуральной жидкости и мицелия *S. hirsutum* 1 была зафиксирована при использовании для культивирования среды № 2 с глюкозой и дрожжевым экстрактом. МПК экстракта культуральной жидкости в отношении *S. haemolyticus* 585 была равна 320 мкг/мл. Этот экстракт обладал наибольшей шириной антибактериального спектра.

Экстракт культуральной жидкости *S. hirsutum* 1 (среда № 2) проявил активность в отношении как дрожжевых, так и мицелиальных грибов. Экстракт мицелия продуцента, выращенного на этой среде, был активен в отношении только мицелиальных культур. Наибольшая активность экстрактов как культуральной жидкости, так и мицелия была отмечена в отношении *A. brasiliensis* ATCC16404. Поскольку спектр антифунгального

действия экстракта культуральной жидкости и мицелия различался, можно предположить, что *S. hirsutum* 1 продуцирует более одного метаболита с антифунгальной активностью.

Полученные результаты создают необходимую базу для разработки эффективного биотехнологического способа направленного получения метаболитов *S. hirsutum* 1 с антибактериальной и антифунгальной активностями.

Дополнительная информация

Благодарности. Авторы выражают искреннюю благодарность Никите Сергеевичу Комиссарову (Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, биологический факультет) за предоставление штамма *S. hirsutum* и его передачу в коллекцию института, что сделало возможным проведение данного исследования.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов. *Зиангирова М. Ю., Леонтьева М. И., Лысакова В. С., Автономова А. В.* — разработка схем исследования и выполнение экспериментальной части, написание текста; *Автономова А. В., Исакова Е. Б.* — разработка моделей для изучения антимикробной активности, анализ и интерпретация результатов; *Краснопольская Л. М.* — разработка структуры исследования, редактирование текста, финальное утверждение рукописи.

Additional Information

Acknowledgments. The authors express their sincere gratitude to Nikita Sergeevich Komissarov (Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology) for providing the *S. hirsutum* strain and transferring it to the institute's collection, which made this study possible.

Financing. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest related to the publication of this article.

Authors' participation. *Ziangirova M. Yu., Leonteva M. I., Lysakova V. S., Avtonomova A. V.* — research design, performing the experimental part, writing the text; *Avtonomova A. V., Isakova E. B.* — development of models for studying antimicrobial activity, analysis and interpretation of results; *Krasnopolskaya L. M.* — research concept development, text editing, final approval of the manuscript.

Литература/References

1. World Health Organization. Antimicrobial resistance fact sheet [Internet]. Geneva: WHO; 2023 [cited 2023 Nov 21]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
2. *Kavanagh E, Hervey A, Robbins W J.* Antibiotic substances from basidiomycetes: VIII. *Pleurotus multilus* (Fr.) Sacc. and *Pleurotus passeckerianus* Pilat. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1951; 37 (9): 570–574.
3. *Hartley A. J., De Mattos-Shingley K., Collins C. M., Kilaru S., Foster G. D., Bailey A. M.* Investigating pleuromutilin-producing *Clitopilus* species and related basidiomycetes. *FEMS Microbiol Lett.* 2009; 297 (1): 24–30. doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01656.x.
4. *Liu Y., Zhou Q., Huo Y., Sun X., Hu J.* Recent advances in developing modified C14 side chain pleuromutilins as novel antibacterial agents. *Eur J Med Chem.* 2024; 116313. doi: 10.1016/j.ejmech.2024.116313.
5. *Tian M., Zhao P., Li G., Zhang K.* In depth natural product discovery from the basidiomycetes *Stereum* species. *Microorganisms.* 2020; 8 (7): 1049. doi: 10.3390/microorganisms8071049.
6. *Yun B. S., Lee I. K., Cho Y., Cho S. M., Yoo I. D.* New tricyclic sesquiterpenes from the fermentation broth of *Stereum hirsutum*. *J Nat Prod.* 2002; 65 (5): 786–788. doi: 10.1021/np010602b.
7. *Duan Y. C., Feng J., Bai N., Li G. H., Zhang K. Q., Zhao P. J.* Four novel antibacterial sesquiterpene- α -amino acid quaternary ammonium hybrids from the mycelium of mushroom *Stereum hirsutum*. *Fitoterapia.* 2018; 128: 213–217. doi: 10.1016/j.fitote.2018.05.026.
8. *Ma K., Bao L., Han J., Jin T., Yang X., Zhao E. et al.* New benzoate derivatives and hirsutane type sesquiterpenoids with antimicrobial activity and cytotoxicity from the solid-state fermented rice by the medicinal mushroom *Stereum hirsutum*. *Food Chem.* 2014; 143: 239–245. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.07.124.
9. *Aqueveque P., Céspedes C. L., Becerra J., Aranda M., Sterner O.* Antifungal activities of secondary metabolites isolated from liquid fermentations of *Stereum hirsutum* (Sh134-11) against *Botrytis cinerea* (grey mould agent). *Food Chem Toxicol.* 2017; 109 (Pt 2): 1048–1054. doi: 10.1016/j.fct.2017.05.036.
10. *Cateni F, Doljak B, Zacchigna M., Anderluh M., Piltaver A., Scialino G. et al.* New biologically active epidioxysterols from *Stereum hirsutum*. *Bioorg Med Chem Lett.* 2007; 17 (22): 6330–6334. doi: 10.1016/j.bmcl.2007.08.072.
11. *Краснопольская Л. М., Белицкий И. В., Федорова Г. Б., Катруха Г. С.* *Pleurotus djamor*: методы культивирования и антимикробные свойства. Микология и фитопатология. 2001; 35 (1): 62–67. [*Krasnopol'skaya L. M., Belitsky I. V., Fedorova G. B., Katrukha G. S. Pleurotus djamor*: Cultivation Methods and Antimicrobial Properties. *Mikologiya i Fitopatologiya.* 2001; 35 (1): 62–67. (in Russian)]
12. *Лысакова В. С., Синева О. Н., Бычкова О. П., Краснопольская Л. М.* Скрининг антибактериальной и антифунгальной активности экстрактов базидиомицетов. Антибиотики и химиотер. 2024; 69 (1): 11–18. [*Lysakova V. S., Sineva O. N., Bychkova O. P., Krasnopol'skaya L. M.* Screening of Antibacterial and antifungal activities of basidiomycetes extracts. *Antibiot Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2024; 69 (1): 11–18. (in Russian)]
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 35th ed. Wayne, PA: CLSI; 2025. [cited 2025 Jan 27]. Available from: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
14. *Zhao Z. Z., Zhang F., He H. J., Wang Y., Du J. H., Wang Z. Z. et al.* Stereuis A–F: Isopentenyl benzene congeners with antibacterial and neurotrophic activities from *Stereum hirsutum* HFG27. *Phytochemistry.* 2024; 228: 114253. doi: 10.1016/j.phytochem.2024.114253.
15. *Samson R. A., Visagie C. M., Houbbraken J., Hong S. B., Hubka V., Klaassen C. H. W. et al.* Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Stud Mycol.* 2014; 78: 141–173. doi: 10.1016/j.smyco.2014.07.004
16. *Lass-Flörl C., Cuenca-Estrella M.* Changes in the epidemiological landscape of invasive mould infections and disease. *J Antimicrob Chemother.* 2017; 72 (suppl_1): i5–i11. doi: 10.1093/jac/dkx028.

Поступила / Received 30.07.2025

Принята в печать / Accepted 08.08.2025

Информация об авторах

Зиангирова Майя Юрьевна — к. т. н., научный сотрудник лаборатории биосинтеза биологически активных веществ Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-9063-5928. eLIBRARY SPIN-код: 7804-5830

Леонтьева Мария Ильинична — инженер лаборатории биосинтеза биологически активных веществ Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0003-2213-8767. eLIBRARY SPIN-код: 7407-2770

Лысакова Валерия Сергеевна — младший научный сотрудник лаборатории биосинтеза биологически активных веществ Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. ORCID ID: 0009-0000-3188-7386. eLIBRARY SPIN-код: 8319-5690

Автономова Анастасия Витальевна — к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории биосинтеза биологически активных веществ Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0001-5098-5379. eLIBRARY SPIN-код: 4409-8108

Исакова Елена Борисовна — научный сотрудник лаборатории фармакологии и химиотерапии Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. РИНЦ AuthorID: 171219

Краснопольская Лариса Михайловна — д. б. н., ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией биосинтеза биологически активных веществ Научно-исследовательского института по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Москва, Россия. ORCID ID: 0000-0002-0391-0339. eLIBRARY SPIN-код: 7880-7074

About the authors

Mayya Yu. Ziangirova — Ph. D. in Engineering, Researcher at the Laboratory of Biosynthesis of Biologically Active Substances, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-9063-5928. eLIBRARY SPIN-code: 7804-5830

Maria I. Leonteva — Engineer at the Laboratory of Biosynthesis of Biologically Active Substances, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0003-2213-8767. eLIBRARY SPIN-code: 7407-2770

Valeria S. Lysakova — Junior Researcher at the Laboratory of Biosynthesis of Biologically Active Substances, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0009-0000-3188-7386. eLIBRARY SPIN-code: 8319-5690

Anastasia V. Avtonomova — Ph. D. in Biology, Senior Researcher at the Laboratory of Biosynthesis of Biologically Active Substances, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0001-5098-5379. eLIBRARY SPIN-code: 4409-8108

Elena B. Isakova — Researcher at the Laboratory of Pharmacology and Chemotherapy, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. RSCI AuthorID: 171219

Larissa M. Krasnopol'skaya — D. Sc. in Biology, Leading Researcher, Head of the Laboratory of Biosynthesis of Biologically Active Substances, Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia. ORCID ID: 0000-0002-0391-0339. eLIBRARY SPIN-code: 7880-7074