

Динамика биосинтеза бета-глюканов микроорганизмами *Aspergillus niger*, *Streptomyces lucensis* и *Streptomyces violaceus* в процессе их культивирования на различных средах

Д-р техн. наук **Н.Ю. Шарова**^{1,2}, natalya_sharova1@mail.ru
Б.С. Манжиева¹, bmanzhieva@gmail.com

¹ВНИИ пищевых добавок – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН
 191014, Россия, Санкт-Петербург, Литейный пр. 55

²Университет ИТМО
 191002, Россия, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9

Исследовали образование бета-глюканов в микромицетах *Aspergillus niger* ВКПМ F-171, *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734. Объектами исследования являлась биомасса микромицетов *Aspergillus niger* ВКПМ F-171, *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734, полученная при ферментации крахмалсодержащих (гидролизаты кукурузного крахмала и помола зерна ржи) и сахарозосодержащих (сахар кристаллический, меласса) сред, и гидролизаты микробной биомассы. Содержание β-глюканов в биомассе микромицетов определяли в соответствии с ГОСТ 57513-2017. В полученных гидролизатах определяли содержание глюкозы, дисахаридов (в пересчете на мальтозу), полисахаридов (в пересчете на декстрины) методом Зихерда-Блэйера, в модификации Смирнова. Содержание аминного азота определяли йодометрическим методом. Показано, что общее содержание глюканов в биомассе, полученной при ферментации гидролизата кукурузного крахмала штаммом *Aspergillus niger* ВКПМ F-171, в 1,5–2 раза выше по сравнению с другими исследуемыми образцами биомассы. Повышенное количество β-глюканов так же выявлено в биомассе микромицета *Aspergillus niger* ВКПМ F-171 при ферментации гидролизата кукурузного крахмала. β-Глюканы в биомассе штаммов *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 преимущественно образуются при культивировании на сахарозоминеральной среде. Показано, что содержание β-глюканов в клетках *Aspergillus niger* ВКПМ F-171, *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 зависит от химической природы субстрата. Полученные результаты расширяют представления об образовании глюкансодержащих соединений в биомассе микромицетов рода *Aspergillus* и *Streptomyces*; являются начальным этапом по разработке биотехнологического способа получения β-(1,3)- и β-(1,3)(1,6)-глюканов из микробной биомассы. Создают перспективу получения микробной растительной субстанции с повышенным содержанием глюкансодержащих соединений с преобладанием (1→3)-β-D- и β-(1→3)(1→6)-β-D-форм глюканов.

Ключевые слова: бета-глюканы; биосинтез; *Aspergillus niger*; *Streptomyces lucensis*, *Streptomyces violaceus*; биомасса; ферменты; гидролизат.

DOI: 10.17586/2310-1164-2020-10-2-49-61

Dynamics of biosynthesis of beta-glucans by *Aspergillus niger*, *Streptomyces lucensis*, and *Streptomyces violaceus* microorganisms during their cultivation on various media

D. Sc. **Natalya Yu. Sharova**^{1,2}, natalya_sharova1@mail.ru
Bairta S. Manzhieva¹, bmanzhieva@gmail.com

¹All-Russian Research Institute for Food Additives – Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS
 55, Liteiny ave., St. Petersburg, 191014, Russia

²ITMO University
 9, Lomonosov str., St. Petersburg, 191002, Russia

We studied the formation of beta-glucans in *Aspergillus niger* VKPM F-171 micromycetes, *Streptomyces lucensis* VKPM Ас-1743 micromycetes, and *Streptomyces violaceus* VKPM Ас-1734. The objects of study were the biomass of *Aspergillus niger* VKPM F-171, *Streptomyces lucensis* VKPM Ас-1743, and *Streptomyces violaceus* VKPM Ас-1734 micromycetes, obtained by fermentation of starch-containing (starch hydrolysates and sweet sugar, grain and cereal grits) hydrolysates of microbial biomass. The content of β-glucans in the biomass of micromycetes was determined in accordance with GOST 57513-2017. In the hydrolysates obtained,

the content of glucose, disaccharides (in terms of maltose), and polysaccharides (in terms of dextrans) was determined by the Sichert-Blayer method modified by Smirnov. The amino nitrogen content was determined by the iodometric method. It was shown that the total glucan content in the biomass obtained by fermentation of a corn starch hydrolyzate with *Aspergillus niger* VKPM F-171 strain is 1.5-2 times higher in comparison with other biomass samples under investigation. An increased amount of β -glucans was also detected in the biomass of *Aspergillus niger* VKPM F-171 micromycete during the fermentation of corn starch hydrolyzate. β -Glucans in the biomass of strains of *Streptomyces lucensis* VKPM Ac-1743 and *Streptomyces violaceus* VKPM Ac-1734 are mainly formed upon cultivation on a sugar-mineral medium. It was shown that the content of β -glucans in *Aspergillus niger* VKPM F-171, *Streptomyces lucensis* VKPM Ac-1743, and *Streptomyces violaceus* VKPM Ac-1734 cells depends on the chemical nature of the substrate. The results expand the understanding of the formation of glucan-containing compounds in the biomass of micromycetes of *Aspergillus* and *Streptomyces* genus; they are the initial stage in the development of a biotechnological method for producing β -(1,3)- and β -(1,3)(1,6)-glucans from microbial biomass. They create the prospect of obtaining a microbial-plant substance with a high content of glucan-containing compounds with a predominance of (1 \rightarrow 3)- β -D- and β -(1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 6)- β -D-glucans.

Keywords: beta-glucans; biosynthesis; *Aspergillus niger*; *Streptomyces lucensis*; *Streptomyces violaceus*; biomass; enzymes; hydrolyzate.

Введение

Представители *Aspergillus* встречаются практически во всех экосистемах. Однако их жизнедеятельность может угнетаться метаболитами, синтезируемыми почвенными микроорганизмами, такими как актиномицеты. В наибольшей степени антибиоз против аспергиллов проявляют культуры *Streptomyces* [1–5]. Микромицеты *Aspergillus* и спорообразующие культуры *Streptomyces* имеют похожие циклы развития и общие, предпочтительные для роста природные углеводсодержащие источники [6,7]. Адаптируясь к субстратному составу для роста и развития, эти микроорганизмы, в зависимости от условий окружающей среды, деструктурируют органические биополимеры до простых субстратов, которые потребляются ими с различной скоростью. По химической природе доминирующие конечные метаболиты жизнедеятельности указанных выше микромицетов в основном относятся к веществам белковой и углеводной природы с различными свойствами и в природных условиях определить, каким конкретно микромицетом они синтезированы, практически не возможно [8–13].

В лабораторных условиях культивирования штаммы стрептомицетов и аспергиллов, потребляя углеводные субстраты из искусственных питательных сред, направленно синтезируют целевые метаболиты [14–18].

Представители рода *Aspergillus* в основном известны как продуценты внеклеточных первичных метаболитов – карбоновых кислот и ферментов, а *Streptomyces* – вторичных метаболитов, таких как антибиотики, ингибиторы ферментов, пигменты; в промышленном масштабе и те, и другие используются в качестве продуцентов внеклеточных метаболитов [19, 20]. В связи с актуальной проблемой целенаправленного использования побочного сырья биотехнологических производств, в частности биомассы, интерес представляют структурные составляющие клеточной стенки микромицетов – продуцентов. Клеточная стенка микромицетов содержат структурные биополимеры, которые представляют интерес в качестве пищевых микроингредиентов [21]. К ним относятся β -глюканы, среди которых наиболее активными в биологическом отношении формами являются β -(1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 6)- и β -(1 \rightarrow 3)-глюканы, в молекуле которых глюкоза «привязана» к позициям 1 и 3 и которые имеют широкий спектр применения: для увеличения срока хранения продуктов благодаря своим водосвязывающим свойствам, в качестве загустителей, эмульгирующих и жиरोимитирующих микроингредиентов, стабилизаторов кремообразных эмульсий, текстурообразователей, улучшителей вкусовых показателей, стимуляторов роста и развития пробиотических молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum*, демонстрируя симбиотический эффект [22–25]. В качестве источника β -(1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 6)-форм глюканов, которые соединены с хитином прочными ковалентными β -(1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 6)-гликозидными связями в хитин-глюкановый комплекс (ХГК), интерес представляет биомасса микромицета *Aspergillus niger* – продуцент лимонной и глюконовой кислот,

гидролитических ферментов [19–21]. При ферментации углеводсодержащего сырья (гидролизат помола зерна ржи, гидролизат кукурузного крахмала, меласса) индивидуальными штаммами *Aspergillus niger* в зависимости от вида сырья изменяется и состав глюканов в биомассе [26, 27].

Клеточная стенка большинства культур *Streptomyces* содержит анионные полимеры, такие как тейхоевые кислоты, тейхуроновые кислоты и фосфоросодержащие полисахариды, которые ковалентно связаны с пептидогликаном [28]. Они локализованы как внутри клеточных стенок, так и на ее поверхности. Имеются данные о внутриклеточных нейтральных полисахаридах, например, в клеточной стенке штамма *Streptomyces* sp. ВКМ Ас-2125 наряду с замещенным глюкозой полиглицерофосфатом, обнаружен полимер галактоманнан, состоящий из эквимольного количества маннозы и галактозы [28]. Полимер является основным компонентом клеточной стенки и содержит α - и β -N-ацетилгалактозаминильные остатки связанные 1→3 и 1→6 связями. Повторяющаяся единица полимера имеет следующую структуру: →6)-[Man-(1→3)]- β -D-Galp-(1→. Штаммы *Streptomyces scabies* ВКМ Ас-304 и Ас-306 содержат гомогенный полимер, который ранее не был обнаружен ни в прокариотах, ни в эукариотах, и структурная единица его представлена N-ацетилгалактозаминильным остатком: →6)- β -GalpNAc-(1→3)- α -GalpNAc-(1→ [28]. Возможно, что это производные биополимера, структура которого помимо маннозы и галактозы, соединенных β -D-1→3 и β -D-1→6 связями, включает β -D-глюкан.

Ранее проведенные исследования показали, что результатом жизнедеятельности микромицетов на зерновом сырье является биомасса, содержащая помимо клеток продуцента частички неусвоенного субстрата, в частности клетчатки [26, 27].

Целью данного исследования является сравнительное изучение состава глюкансодержащих соединений в биомассе микромицетов *Aspergillus niger*, *Streptomyces lucensis* и *Streptomyces violaceus* при культивировании на простых и сложных углеводных субстратах.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись:

1) биомасса микромицета *Aspergillus niger* штамм ВКПМ F-171, селекционированного во ВНИИПД для продуцирования лимонной кислоты; получена при ферментации мелассных (содержит свекловичную мелассу ГОСТ 30561–2013) и сахарозоминаеральных сред (содержит сахар кристаллический ГОСТ 33222–2015), традиционно используемых в биотехнологических производствах, и перспективных источников – гидролизатов кукурузного крахмала (ГОСТ 32034–2013) и помола зерна ржи (рожь ГОСТ Р 53049–2008) [20]. По технологии ферментации гидролизата помола зерна ржи, перед проведением ферментативного гидролиза готовили гидромодуль (помол : вода) = 1 : 3; $t = 22 \pm 3^\circ\text{C}$; $\tau = 24$ ч;

2) биомасса штаммов актиномицетов *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734, селекционированных во ВНИИПД для биосинтеза ингибиторов гликозидаз; получена при ферментации гидролизата кукурузного крахмала (ГОСТ 32034–2013) [20, 29] и сахарозоминаеральной среды (содержит сахар кристаллический по ГОСТ 33222–2015).

Ферментативный гидролиз сырья осуществляли с использованием следующих препаратов:

- для кукурузного крахмала – Амилосубтилин Гзх, содержащий α -амилазу (диастаза, 1,4- α -D-глюкангидролаза, КФ 3.2.1.1.) *Vacillus subtilis* (ООО ПО «Сиббиофарм», Россия; стандартизован по α -амилазе 1000 ± 100 ед АС/г и содержит протеазу 5 ед ПС/г (пептидогидролаза, КФ 3.2.1.91)); рН = $6,2 \pm 0,2$; $t = 90 \pm 2^\circ\text{C}$; $\tau = 1$ ч [20, 29];

- для помола зерна ржи – Целловиридин Гзх, содержащий целлюлазу (1,4- β -D-глюкан-глюканогидролаза, КФ 3.2.1.4) *Trichoderma viride* (ООО ПО «Сиббиофарм», Россия; стандартизован по целлюлазной активности 50 ± 5 ед ЦС/г и содержит экзо- и эндоглюканазу (1,4- β -D-глюкан-глюкогидролаза, КФ 3.2.1.74), целлобиазу (экзо-1,4- β -D-глюканцеллобиазогидролаза, КФ 3.2.1.91), ксиланазу (эндо-1,4-ксиланаза (КФ 3.2.1.8)), для гидролиза коллоидных соединений – пентозанов и гексозанов; рН = $3,9 \pm 0,1$; $t = 37 \pm 2^\circ\text{C}$, $\tau = 1$ ч и далее Амилосубтилин Гзх при рН = $6,2 \pm 0,2$; $t = 90 \pm 2^\circ\text{C}$, $\tau = 1$ ч.

Составы питательных сред для ферментации, г/дм³:

Aspergillus niger штамм ВКПМ F-171

• гидролизат крахмала с декстрозным эквивалентом ДЕ = 25 ± 5% – 150,0; аммоний азотнокислый – 2,5; магний сернокислый семиводный – 0,25; калий фосфорнокислый однозамещенный – 0,16; рН = 6,2 ± 0,2 [20];

• гидролизат помола зерна ржи с ДЕ = 35 ± 5% – 130,0; аммоний азотнокислый – 1,0; магний сернокислый семиводный – 0,25; калий фосфорнокислый однозамещенный – 0,08; рН = 5,5 ± 0,1;

• сахар кристаллический – 150,0; аммоний азотнокислый – 2,5; магний сернокислый семиводный – 0,25; калий фосфорнокислый однозамещенный – 0,16; рН = 6,2 ± 0,2;

• свекловичная меласса – 150,0; аммоний азотнокислый – 2,5; магний сернокислый семиводный – 0,25; калий фосфорнокислый однозамещенный – 0,16; рН = 6,2 ± 0,2 [20].

Streptomyces lucensis ВКПМ Ac-1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ac-1734:

• гидролизат крахмала с декстрозным эквивалентом ДЕ = 25 ± 5% – 20; соевая мука – 5,0; натрий хлористый – 3,0; калий фосфорнокислый двузамещенный – 1,0; магний сернокислый семиводный – 0,5; рН 7,0 [20, 29];

• сахар кристаллический – 20,0; соевая мука – 5,0; натрий хлористый – 3,0; калий фосфорнокислый двузамещенный – 1,0; магний сернокислый семиводный – 0,5; рН 7,0.

Ферментацию углеводсодержащих субстратов микромицетом *Aspergillus niger* ВКПМ F-171 и актиномицетами *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ac-1743, *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ac-1734 проводили в условиях шейкера-инкубатора Multitron (INFORS, Швейцария): вместимость качалочных колб 750 см³, периодический способ, аэробные условия.

Режимы ферментации: для штамма *Aspergillus niger* ВКПМ F-171 скорость перемешивания 160–220 об/мин, $t = 32 \pm 1^\circ\text{C}$, $\tau = 120$ ч; для штаммов *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ac-1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ac-1734 скорость перемешивания 140–180 об/мин, $t = 29 \pm 1^\circ\text{C}$, $\tau = 96$ ч [20, 29].

Для получения растворимых форм β-глюканов проводили ферментативный гидролиз мицелиальной массы β-глюканазой (эндо-1,3(4)-β-глюканаза) *Trichoderma longibrachiatum* (Sigma-Aldrich, США) и ксиланазой *Trichoderma reesei*, Rohament GE (AB Enzymes, Германия), которые расщепляют соответственно 1,3(4)-β- и эндо-1,3(4)-β-связи в глюкан- и ксилансодержащих соединениях; рН = 4,7 ± 0,1; $t = 48 \pm 2^\circ\text{C}$, $\tau = 24$ ч. После стадий ферментативного гидролиза в полученных гидролизатах ферменты инактивировали путем термического воздействия при $t = 98 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 2–3 мин и далее гидролизат центрифугировали на морозильной лабораторной центрифуге MPW-351P с охлаждением (MPWMed. Instruments, Польша) в течение 20 мин при 20000 g для удаления твердой фракции и денатурированного белка.

В полученных гидролизатах биомассы определяли содержание глюкозы, дисахаридов (в пересчете на мальтозу), полисахаридов (в пересчете на декстрины) по ГОСТ 32034–2013. Определение общих и β-глюканов в биомассе микромицетов проводили в соответствие с ГОСТ 57513-2017. Содержание аминного азота определяли йодометрическим методом по ГОСТ 13586-5.93. Содержание количества мезофильных аэробных и факультативных анаэробных микроорганизмов (кМАФАнМ), плесеней, бактериальных культур в помоле зерна ржи и его водной суспензии оценивало согласно ГОСТ 10444.14–91, ГОСТ 10444.15–94.

Обработку экспериментальных данных проводили с привлечением методов математической статистики и программ Excel XP.

Результаты исследований

В результате исследований установлено, что общее содержание глюканов в биомассе, полученной при ферментации гидролизата кукурузного крахмала, в 1,5–2 раза выше в сравнении с другими исследуемыми образцами биомассы (рисунок 1).

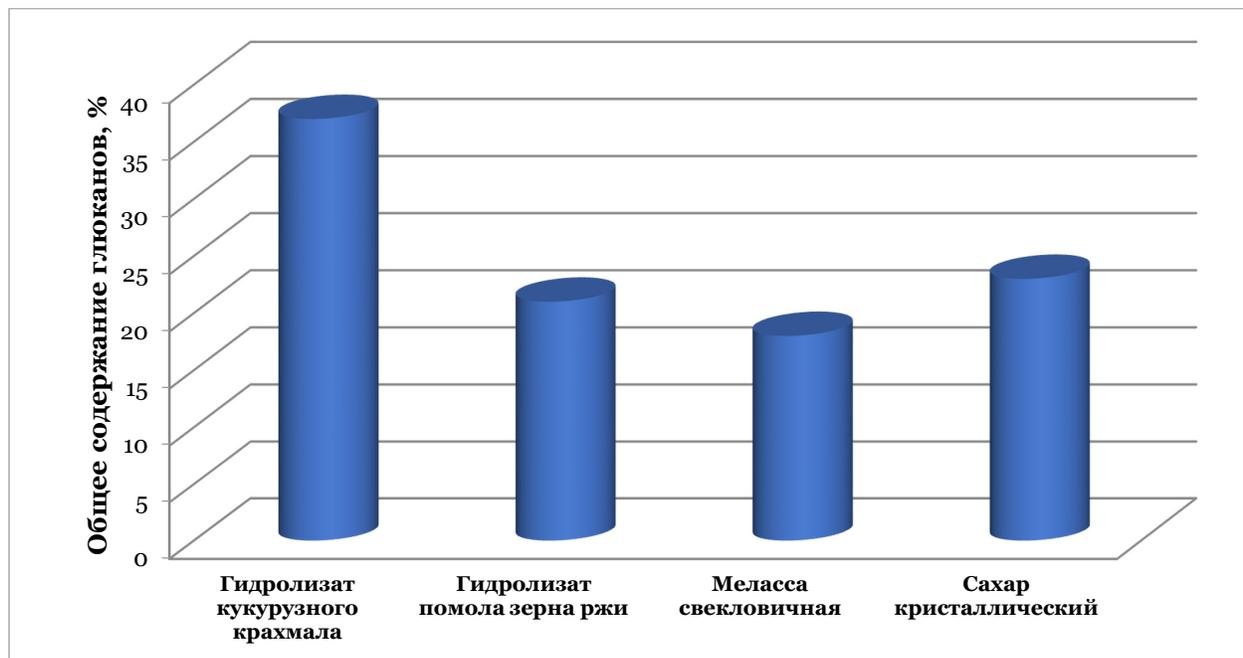


Рисунок 1 – Общее содержание глюкозидов в биомассе *Aspergillus niger* ВКПМ F-171 при ферментации сред, содержащих различные источники углерода (усредненные данные)

Figure 1. Total glucan content in *Aspergillus niger* VKPM F-171 biomass during fermentation of media with various carbon sources (averaged data)

Следует отметить, что, несмотря на более сложный углеводный состав, результаты, полученные при ферментации гидролизата помола зерна ржи практически не отличаются от данных по ферментации сахарозосодержащих сред (мелассная и сахарозоминеральная). В процессе термостатирования водной суспензии помола зерна ржи на подготовительной стадии зернового помола к ферментативному гидролизу растительные биополимеры становятся более доступными как для собственной ферментной системы, так и для ферментов аспергиллов и стрептомицетов, которые составляют основную микрофлору помола исследуемого зерна ржи. Показатель кМАФАНМ в гидромодуле находился на уровне $15 \cdot 10^4$ – $47 \cdot 10^5$ КОЕ/г, количество грибов 40–60 КОЕ/г, из них аспергиллы – 52 КОЕ/г; спорообразующие бактерии – 50–67 КОЕ/г, из них стрептомицеты 44 КОЕ/г. В результате биохимические реакции, в частности гидролиз растительных полисахаридов, гликопептидов и других биополимеров, реакции трансгликозилирования в зерновой массе протекают интенсивнее, и к началу процесса ферментативного гидролиза ферментными препаратами в ней увеличивается доступность к крахмальной фракции для α -амилазы, вносимой в составе Амилосубтилина ГЗх на стадии биокатализа, и содержание некрахмальных растворимых субстратов. В результате биокатализа с использованием сочетания Амилосубтилина ГЗх и Целловиридина ГЗх, действующих на целлюлозу и ксилан, увеличивается количество низкомолекулярных углеводов с различной структурой. По сравнению с гидролизатом крахмала, который содержит только линейные декстрины с α -(1→4)-гликозидной связью, мальтозу и глюкозу, качественный состав гидролизата помола зерна ржи более разнообразен и включает изоформы этих и других сахаридов с β -(1→3)-D- и β -(1→6)-D-гликозидными связями. Соответственно в течение биотехнологического процесса для продуцента *Aspergillus niger* ВКПМ F-171 в питательной среде присутствуют специфические субстраты для протекания различных биохимических реакций. Возможно, что в связи с большей доступностью соединений, участвующих в построении глюкозидной компоненты, за один и тот же период (120 ч) скорость образования β -форм глюкозидов при ферментации гидролизата крахмала выше по сравнению с процессом, в котором ферментируется гидролизат помола зерна ржи. Биомасса, полученная в результате культивирования штамма аспергилла на гидролизате помола зерна ржи, содержит не только клетки продуцента, но и не «усвоенные» растительные субстраты, востребованность в которых у гриба минимальна, в частности остатки гидролизованной целлюлозы и ксиланов. В этой связи показатель «общие глюкозиды» включает глюкозиды как микробного, так и растительного происхождения.

Известно, что в процессе развития микромицета *Aspergillus niger* ВКПМ F-171 изменяется как количественное содержание ХГК, так и соотношение его структурных составляющих [19, 26]. Полученные результаты исследований показали, что в жидкой фракции после гидролиза мицелиальной массы содержание β-глюканов больше в гидролизате биомассы, полученной при ферментации гидролизата кукурузного крахмала (таблица 1).

Таблица 1. Содержание растворимых углеводов в жидкой фракции гидролизата биомассы микромицета *Aspergillus niger* ВКПМ F-171

Table 1. The content of soluble carbohydrates in liquid fraction of *Aspergillus niger* VKPM F-171 micromycete biomass hydrolysate

Субстрат	Содержание форм растворимых сахаров, %		
	глюкоза	дисахариды	β-глюканы
меласса	18 ± 1	44 ± 2	16 ± 2
гидролизат кукурузного крахмала	16 ± 1	46 ± 2	36 ± 2
гидролизат помола зерна ржи	13 ± 2	29 ± 1	19 ± 1
сахар кристаллический	14 ± 1	38 ± 1	20 ± 1

Продуктами гидролиза микробных биополимеров могут являться не только β-глюканы, но их производные, содержащие остаток растворимой формы полиаминосакhariда – хитина и имеющие в структуре аминогруппу [25, 27, 30]. Результаты исследований показали, что содержание аминного азота в исследуемых гидролизатах находится в пределах от 3 до 8%.

Выявленное содержание глюканов в биомассе штаммов *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ac-1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ac-1734, полученной при ферментации гидролизата кукурузного крахмала (ДЕ = 25 ± 5%), было ниже в 2,2 и 1,6 раза в сравнении с данными, полученными при культивировании штамма *Aspergillus niger* ВКПМ F-171 (рисунок 2, таблица 2).

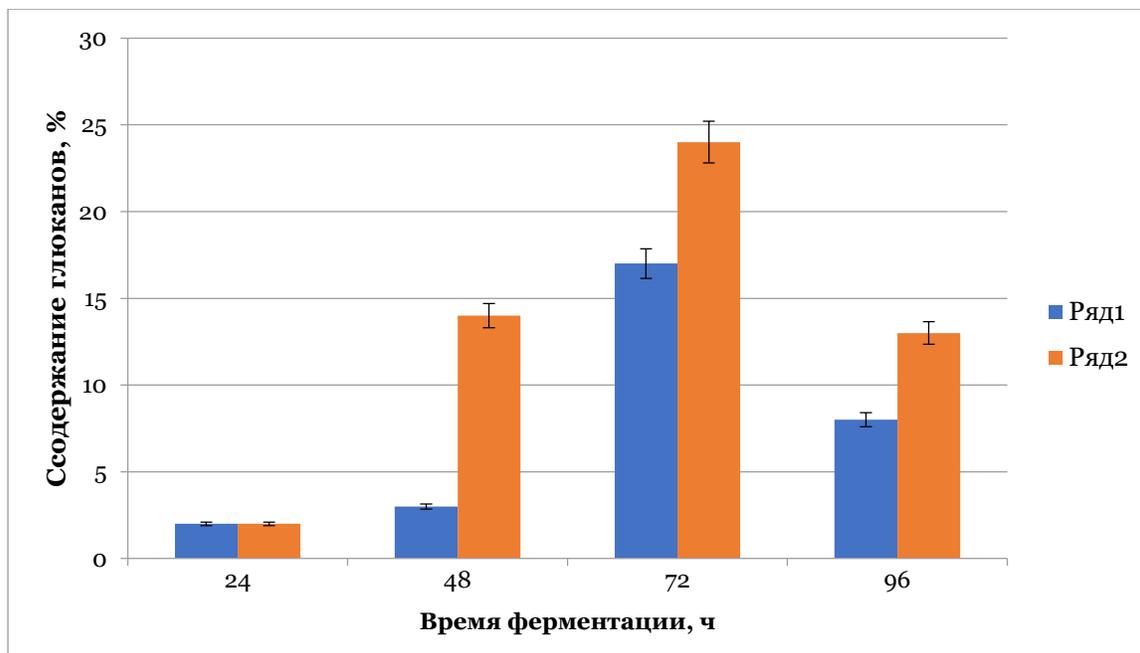


Рисунок 2 – Общее содержание глюканов в биомассе *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ac-1743 (ряд 1) и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ac-1734 (ряд 2) при культивировании на гидролизате кукурузного крахмала

Figure 2. Total glucan content in *Streptomyces lucensis* VKPM Ac-1743 (series 1) and *Streptomyces violaceus* VKPM Ac-1734 (series 2) biomasses during cultivation on corn starch hydrolysate

Таблица 2. Накопление биомассы микромицетаму *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 при ферментации гидролизата кукурузного крахмала и сахара кристаллического

Table 2. Biomass concentration in *Streptomyces lucensis* VKPM Ac-1743 and *Streptomyces violaceus* VKPM Ac-1734 micromycetes during fermentation of corn starch hydrolysate and crystal sugar

Штамм	Субстрат	Количество биомассы, г			
		24 ч	48 ч	72 ч	96 ч
<i>Streptomyces violaceus</i> ВКПМ Ас-1734	гидролизат кукурузного крахмала	0,41 ± 0,02	0,45 ± 0,01	0,51 ± 0,02	0,43 ± 0,03
<i>Streptomyces lucensis</i> ВКПМ Ас-1743		0,12 ± 0,04	0,17 ± 0,01	0,19 ± 0,02	0,14 ± 0,02
<i>Streptomyces violaceus</i> ВКПМ Ас-1734	сахар кристаллический	0,47 ± 0,01	0,54 ± 0,01	0,72 ± 0,02	0,64 ± 0,03
<i>Streptomyces lucensis</i> ВКПМ Ас-1743		0,22 ± 0,01	0,29 ± 0,02	0,38 ± 0,04	0,27 ± 0,02

Отмечено, что общее содержание глюканов выше в биомассе *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743. Пик образования глюканов для исследуемых штаммов стрептомицетов приходится на 72 ч биотехнологического процесса (рисунок 2). Возможно, происходит лизис клеток стрептомицетов и гидролиз образованных глюканов собственными глюканазами [31]. В силу указанного свидетельствует снижение количества биомассы как при культивировании штамма *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743, так и штамма *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 (таблица 2).

Результаты исследований показали, что содержание растворимых β-глюканов больше в жидкой фракции гидролизата биомассы микромицета *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 в 1,4 раза в сравнении со штаммом *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 (таблица 3).

Таблица 3. Содержание растворимых углеводов в жидкой фракции гидролизата биомассы микромицетов *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734

Table 3. The content of soluble carbohydrates in liquid fraction of *Streptomyces lucensis* VKPM Ac-1743 and *Streptomyces violaceus* VKPM Ac-1734 micromycete biomass hydrolysate

Штамм	Субстрат	Содержание растворимых сахаров		
		глюкоза	дисахариды	β-глюканы
<i>Streptomyces lucensis</i> ВКПМ Ас-1743	гидролизат кукурузного крахмала	13 ± 2	37 ± 3	23 ± 1
<i>Streptomyces violaceus</i> ВКПМ Ас-1734		11 ± 1	30 ± 2	17 ± 1
<i>Streptomyces lucensis</i> ВКПМ Ас-1743	сахар кристаллический	21 ± 1	45 ± 2	43 ± 2
<i>Streptomyces violaceus</i> ВКПМ Ас-1734		16 ± 2	39 ± 2	31 ± 1

Аналогичная тенденция отмечена при ферментации сахарозоминаральной среды, общее содержание глюканов и количество β-глюканов было выше в биомассе микромицета *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 (рисунок 3).

Различия в количественном содержании глюканов в биомассе штаммов обусловлены особенностями развития стрептомицетов и в определенной степени обусловлены химической природой углеводного источника. Так, по результатам проведенных экспериментов количество биомассы в конце биотехнологического процесса для обоих исследуемых штаммов превышала количество, полученное при культивировании стрептомицетов на гидролизате крахмала (таблица 2).

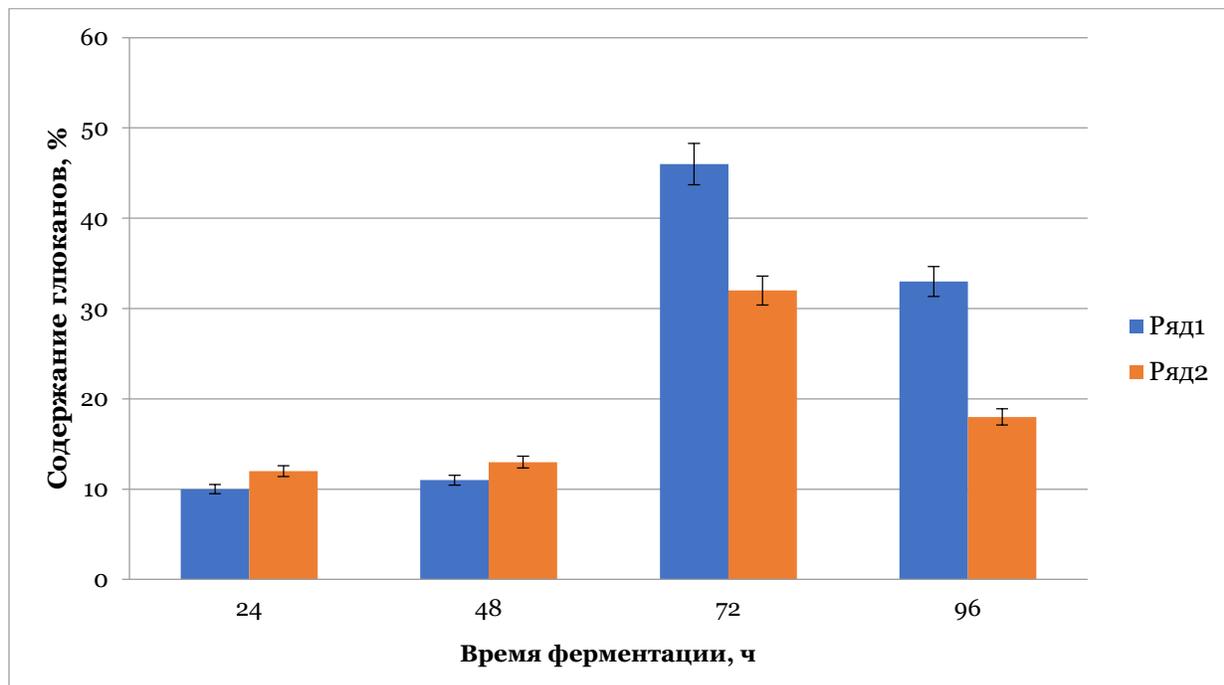


Рисунок 3 – Общее содержание глюканов в биомассе *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 (ряд 1) и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 (ряд 2) при культивировании на сахарозоминаральной среде

Figure. 3 – Total glucan content in *Streptomyces lucensis* VKPM Ac-1743 (series 1) and *Streptomyces violaceus* VKPM Ac-1734 (series 2) biomasses during cultivation on a sugar-mineral medium

Соотношение содержания разных структурных компонент зависит от внешних факторов. Возможно, одним из них является содержание в культуральной среде глюкозы, которая является мономером многих полисахаридов, в том числе и глюканов. Сахар кристаллический содержит сахарозу, молекула которой состоит из фруктозы и глюкозы. Глюкоза, как быстро усваиваемый моносахарид, участвует в различных биохимических превращениях, в частности, расходуется на дыхание продуцента, формирование структурных составляющих биомассы и является субстратом для биосинтеза целевых метаболитов. Гидролизат кукурузного крахмала содержит 3–5% глюкозы, а в исходной культуральной среде ее количество составляет лишь 0,06–0,15%. При культивировании аспергиллов и стрептомицетов на гидролизате крахмала, который помимо глюкозы содержит мальтозу и декстрины, ее количество увеличивается в результате действия синтезируемых амилолитических ферментов и расходуется на биохимические процессы [20, 32, 33]. До конца биотехнологического процесса в культуральной среде присутствует мальтоза, которая, как показано ранее, участвует в построении углеродного скелета ингибиторов гликозидаз [20, 29, 33]. По-видимому, на образование глюканов при культивировании аспергиллов и спорообразующих стрептомицетов, циклы развития которых близки, расходуются молекулы глюкозы.

В сравнительном аспекте выявленное содержание β -глюканов в биомассе штамма аспергилла находится на более высоком уровне при культивировании на гидролизате крахмала. В биомассе стрептомицетов оно практически на том же уровне, но при ферментации среды, содержащей сахар кристаллический (таблица 3). Следует отметить, что использованная в исследованиях питательная среда, содержащая гидролизат крахмала, способствует биосинтезу ингибитора α -гликозидаз культурами *Streptomyces*. Сахар кристаллический как источник углерода известен для биосинтеза ингибиторов не только α -гликозидаз, но β -гликозидаз [34, 35]. Возможно, при культивировании исследуемых штаммов стрептомицетов на сахарозоминаральной среде синтезируются и ингибиторы эндо-1,3- β -D-глюканазы, которая гидролизует β -D-глюканы, и ингибиторы глюканозилтрансферазы, обладающей глюканазной активностью и участвующей в расщеплении линейных β -1,3-глюканов перед структурной модификацией глюкана (ветвление или удлинение) [36]. Синтез ингибиторов для регулирования активности собственных ферментов известен для микроорганизмов различных таксономических групп [20, 33].

Окончательное формирование полимерного каркаса клеточной стенки приходится на заключительную стадию физиологического развития микроорганизма, часто сопряженную со стационарной фазой биотехнологического процесса [37, 38]. В связи с этим необходимо исследовать образование глюкансодержащих соединений при культивировании стрептомицетов на концентрированных по источнику углерода питательных средах.

Выводы

1. Повышенное количество β -глюканов в мицелиальной массе микромицета *Aspergillus niger* ВКПМ F-171 достигается при ферментации гидролизата кукурузного крахмала.

2. β -Глюканы в биомассе штаммов *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 преимущественно образуются при культивировании на сахарозоминаральной среде, содержащей дисахарид сахарозу.

3. Для *Aspergillus niger* ВКПМ F-171 и для штаммов *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743, *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 выявлена зависимость количества β -глюканов от природы субстрата.

Таким образом, в зависимости от ферментируемого субстрата состав глюкансодержащих соединений в биомассе микромицетов *Aspergillus niger* ВКПМ F-171, *Streptomyces lucensis* ВКПМ Ас-1743 и *Streptomyces violaceus* ВКПМ Ас-1734 изменяется. Для установления фазы максимального накопления β -глюканов с перспективой их получения в качестве целевого метаболита необходимо провести цикл исследований по влиянию времени ферментации и действию собственных гидролитических ферментов, в частности β -глюканазы. Для установления предпочтения углеводов злаковых культур кооперативным микроорганизмам, составляющих микрофлору природного сырья, целесообразно провести модельные опыты с использованием индивидуальных культур стрептомицетов и аспергиллов и индивидуальных углеводов.

На основании полученных результатов можно предположить, что культуры *Streptomyces* и *Aspergillus*, составляющие микрофлору зерна ржи, на начальной стадии развития в условиях повышенной влажности для накопления биомассы предпочитают низкомолекулярную сахарозу или подобный по строению дисахарид, входящий в состав зерна. В суточном гидромодуле помола зерна ржи, используемом в представленных исследованиях, деструкция органической углеродной цепи полисахаридов осуществляется в основном плесневыми клетками, в данном случае *Aspergillus*. В результате образуется частично деструктурированная растительная биомасса, которая после биокатализа ферментными препаратами и ферментации индивидуальным штаммом *Aspergillus niger* ВКПМ F-171 трансформируется в биомассу смешанного типа – микробую-растительную с преобладанием микробной составляющей. Подбор гидромодуля, режимов его ферментации как собственной микрофлорой, так и чужеродными микроорганизмами, их консорциумом в перспективе позволит создать некую субстанцию с повышенным содержанием глюкансодержащих соединений с преобладанием (1 \rightarrow 3)- β -D- и β -(1 \rightarrow 3)(1 \rightarrow 6)- β -D-форм глюканов.

Литература

1. Siddique S., Syed Q., Adnan A., Nadeem M., Irfan M., Qureshi F.A. Production of avermectin B1b from *Streptomyces avermitilis* 41445 by batch submerged fermentation. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2013, V. 6, 6 p.
2. Идиятов И.И., Галлямова С.Р., Бирюля В.В., Валиуллин Л.Р., Папуниди К.Х. Поиск эффективных средств биологической защиты растений и кормов против микромицета *Aspergillus flavus* // Ветеринарный врач. 2017. № 5. С. 24–30.
3. Azizbekyan R.R., Kyznecova N.I., Kyzin A.I., Nikolaenko M.A. Biological protection of plants: using strains of spore-forming bacteria with phytopathogenic fungi in glasshouses. *Biological protection of plants is a basics for stabilisation of agroecosystems. Proceedings from scientific and practical conference* Sept. 20–22, 2016. V. 9, Krasnodar, 2016, pp. 202–204.
4. Белявская Л.А., Ефименко Т.А., Ефременкова О.В., Козырицкая В.Е., Иутинская Г.А. Идентификация и антагонистические свойства почвенного стрептомицета *Streptomyces* sp. 100 // Мікробіологічний журнал. 2016. Т. 78. № 2. С. 61–73.

5. Brana A.F., Hans-Peter Fiedler H-P., Nava H., González V., Aida Sarmiento-Vizcaíno A., et al. Two *Streptomyces* species producing antibiotic, antitumor, and anti-inflammatory compounds are widespread among intertidal macroalgae and coral reef invertebrates from the Cantabrian Sea. *Microbial Ecology*. 2015, V. 69, pp. 512–524.
6. Борисова Г.Г., Ермошин А.А., Малева М.Г., Чукина Н.В. Биохимия растений: вторичный обмен. М.: Юрайт, 2018. 128 с.
7. Chandra G., Chater K.F. Developmental biology of *Streptomyces* from the perspective of actinobacterial genome sequences. *FEMS Microbiological Reviews*. 2014, no. 38, pp. 345–379.
8. Широких И.Г., Зиновьева Д.А., Огородникова С.Ю., Широких А.А. Экспериментальное получение симбиотических ассоциаций почвенных стрептомицетов с цианобактериями // Теоретическая и прикладная экология. 2013. № 1. С. 101–106.
9. Santos A.P.P., Silva M.D.S., Costa E.V.L., Rufino R.D., Santos V.A., Ramos C.S., Sarubbo L.A., Porto A.L.F. Production and characterization of a biosurfactant produced by *Streptomyces* sp. DPUA 1559 isolated from lichens of the Amazon region. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2017, V. 51, no. 2, 10 p.
10. Sarmiento-Vizcaíno A., Espadas J., Martín J., Alfredo F., Reyes B.F., Luis Alpidio Garcia L.A., Blanco G. Atmospheric precipitations, hailstone and rainwater, as a novel source of *Streptomyces* producing bioactive natural products. *Frontiers in Microbiology*. 2018, V. 9, Article 773.
11. Palmer T., Hutchings M.I. Protein secretion in *Streptomyces*. *Streptomyces: Molecular Biology and Biotechnology*. 2011, V. 4, pp. 87–104.
12. Machado I., Teixeira J.A., Rodríguez-Couto S. Semi-solid-state fermentation: A promising alternative for neomycin production by the actinomycete *Streptomyces fradiae*. *Journal of Biotechnology*, 2013, V. 165, Is. 3–4, pp. 195–200.
13. El-Naggar N., El-Ewasy S. Bioproduction, characterization, anticancer and antioxidant activities of extracellular melanin pigment produced by newly isolated microbial cell factories *Streptomyces glaucescens* NEAE-H. *Scientific Reports*. 2017, no. 7, pp. 1–19.
14. Xin W.Ye., Xuwei Yu., Siran L., Xiao-Yuan Zh. New capoamycin-type antibiotics and polyene acids from marine *Streptomyces fradiae* PTZ0025. *Marine Drugs*. 2012, no. 10(11), pp. 2388–2402.
15. Arai M.A., Koryudzu K., Ishibashi M. Inubosins A, B, and C are acridine alkaloids isolated from a culture of *Streptomyces* sp. IFM 11440 with Ngn2 promoter activity. *Journal of Natural Products*. 2015, V. 78, no. 2, pp. 311–314.
16. Baltz R.H. Genetic manipulation of secondary metabolite biosynthesis for improved production in *Streptomyces*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2016, V. 43, pp. 343–370.
17. Antimicrobial characteristics of *Streptomyces fradiae* 19 isolated from chernozem soil of the central part of the Republic of Moldova. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*. 2016, V. XXIII, Is. 2, pp. 56–61.
18. Book A.J., Lewin G.R., McDonald B.R., Takasuka T.E., Doering D.T., Adams A.S., Blodgett J.A.V., Clardy J., Raffa K.F., Fox B.G., Currie C.R. Cellulolytic *Streptomyces* strains associated with herbivorous insects share a phylogenetically linked capacity to degrade lignocellulose. *Applied and Environmental Microbiology*. 2014, V. 80, Is. 15, pp. 4692–4701.
19. Никифорова Т.А., Новицкая И.Б., Минина Т.И. Приоритетные направления развития отечественной технологии пищевой лимонной кислоты // Пищевая промышленность. 2010. № 5. С. 53–54.
20. Шарова Н.Ю. Разработка научных основ новых технологий пищевых добавок и ингредиентов с использованием крахмалсодержащего сырья: дис. ... докт. техн. наук. СПб., 2013.
21. Андриянова А.Д., Сергеева Я.Э., Кочкина Г.А., Галанина Л.А., Усов А.И., Феофилова Е.П. Выделение клеточных стенок мицелиальных грибов на различных стадиях онтогенеза и изучение их углеводного состава // Прикладная биохимия и микробиология. 2011. Т. 47. № 4. С. 448–454.
22. Dalonso N., Goldman G.H., Gern R.M.M. β -(1-3),(1-6) – Glucans: medicinal activities, characterization, biosynthesis and new horizons. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2015, V. 99, no. 19, pp. 7893–7906.
23. Fengmei Z.A., Bin D., Baojun X. Critical review on production and industrial applications of beta-glucans. *Food Hydrocolloids*. 2016, V. 52, pp. 275–288.
24. Russo P., Lopez P., Capozzi V., de Palencia P.F., Duenas M.T., Spano G., Fiocco D. Beta-glucans improve growth, viability and colonization of probiotic microorganisms. *Int. J. Mol. Sci.* 2012, V. 13, Is. 5, pp. 6026–6039.
25. Феофилова Е.П. Клеточная стенка грибов: современные представления о составе и биологической функции // Микробиология. 2010. Т. 79. № 6. С. 723–733.
26. Манжиева Б.С., Шарова Н.Ю. Исследование особенностей биосинтеза бета-глюканов в мицелиальной массе *Aspergillus niger* и в некондиционном зерне злаковых // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2019. Т. 81. №2 (80). С. 218–222.
27. Sharova N.Y., Manzhieva B.S., Printseva A.A., Vybornova T.V. Beta-glucans from biomass of plant and microbial origin. *Food System*. 2019, V. 2, no. 1, pp. 23–26.

28. Космачевская Л.Н. Биохимические и биотехнологические аспекты фитопатогенных стрептомицетов картофеля // АгроЭкоИнфо. 2010. № 2. С. 7.
29. Ходкевич О.А. Разработка технологии биосинтеза ингибитора α -гликозидаз актиномицетами рода *Streptomyces* и применение комплексной добавки на его основе в хлебопечении: дис. ... канд. техн. наук. СПб., 2009.
30. Актуганов Г.Э., Мелентьев А.И. Особенности деполимеризации хитозана хитиназами, хитозаназами и неспецифическими ферментами при получении биоактивных хитоолигосахаридов (Обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2017. Т. 53. № 6. С. 551–567.
31. Wu Q., Dou X., Wang Q., Guan Zh., Cai Y., Liao X. Isolation of β -1,3-glucanase-producing microorganisms from *Poria cocos* cultivation soil via molecular biology. *Molecules*. 2018, V. 23, no. 7, pp. 1555–1574.
32. Феофилова Е.П., Алехин А.И., Гончаров Н.Г., Мысякина И.С., Сергеева Я.Э. Фундаментальные основы микологии и создание лекарственных препаратов из мицелиальных грибов. М.: Национальная академия микологии, 2013. 52 с.
33. Alam F., Shafique Z., Amjad S.T., Bin Asad MHH/ Enzymes inhibitors from natural sources with antidiabetic activity: A review. *Phytother Res*. 2019, V. 33, Is. 1, pp. 41–54.
34. Larue K., Melgar M., Martin V.J.J. Directed evolution of a fungal β -glucosidase in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Biofuels*. 2016, V. 9, no. 52, pp. 1–15.
35. Wei J., Zhang X-Y., Deng Sh., Cao L., Xue Q-H., Gao J-M. α -Glucosidase inhibitors and phytotoxins from *Streptomyces xanthophaeus*. *Nat Prod Res*. 2017, V. 31, Is. 17, pp. 2062–2066.
36. Mouyna I., Hartl L., Latgé J-P. β -1,3-Glucan modifying enzymes in *Aspergillus fumigatus*. *Front. Microbiol.*, 2013, V. 4, Article 81.
37. Rajasree K.P., Mathew G.M., Pandey A., Sukumaran R.K. Highly glucose tolerant β -glucosidase from *Aspergillus unguis*: NII 08123 for enhanced hydrolysis of biomass. *J. Ind Microbiol Biotechnol*. 2013, V. 40, pp. 967–975.
38. Bohlin C., Olsen S.N., Morant M.D., Patkar S., Borch K., Westh P. A comparative study of activity and apparent inhibition of fungal β -glucosidases. *Biotechnol Bioeng*. 2010, V. 107, pp. 943–952.

References

1. Siddique S., Syed Q., Adnan A., Nadeem M., Irfan M., Qureshi F.A. Production of avermectin B1b from *Streptomyces avermitilis* 41445 by batch submerged fermentation. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2013, V. 6, 6 p.
2. Idiyatov I.I., Gallyamova S.R., Biryulya V.V., Valiullin L.R., Papunidi K.Kh. Finding the most efficient means of biological protection of plants and fodder against *aspergillus flavus* micromycete. *Veterinarnyi vrach*. 2017, no. 5, pp. 24–30 (*In Russian*).
3. Azizbekyan R.R., Kyznecova N.I., Kyzin A.I., Nikolaenko M.A. Biological protection of plants: using strains of spore-forming bacteria with phytopathogenic fungi in glasshouses. *Biological protection of plants is a basics for stabilisation of agroecosystems. Proceedings from scientific and practical conference* Sept. 20–22, 2016. V. 9, Krasnodar, 2016, pp. 202–204.
4. Belyavskaya L.A., Efimenko T.A., Efremenkova O.V., Kozyritskaya V.E., Iutinskaya G.A. Identification and antagonistic properties of the soil Streptomyces sp. 100. *Microbiological Journal*. 2016, V. 78, no. 2, pp. 61–73 (*In Russian*).
5. Brana A.F., Hans-Peter Fiedler H-P., Nava H., González V., Aida Sarmiento-Vizcaíno A., et al. Two *Streptomyces* species producing antibiotic, antitumor, and anti-inflammatory compounds are widespread among intertidal macroalgae and coral reef invertebrates from the Cantabrian Sea. *Microbial Ecology*. 2015, V. 69, pp. 512–524.
6. Borisova G.G., Ermoshin A.A., Maleva M.G., Chukina N.V. Plant biochemistry: secondary metabolism. Moscow, Urait Publ., 2018. 128 p. (*In Russian*).
7. Chandra G., Chater K.F. Developmental biology of *Streptomyces* from the perspective of actinobacterial genome sequences. *FEMS Microbiological Reviews*. 2014, no. 38, pp. 345–379.
8. Shirokikh I.G., Zinovieva D.A., Ogorodnikova S. Yu., Shirokikh A.A. Experimentally obtained symbiotic associations of cyanobacteria with soil streptomycetes. *Theoretical and Applied Ecology*. 2013, no. 1, pp. 101–106.
9. Santos A.P.P., Silva M.D.S., Costa E.V.L., Rufino R.D., Santos V.A., Ramos C.S., Sarubbo L.A., Porto A.L.F. Production and characterization of a biosurfactant produced by *Streptomyces* sp. DPUA 1559 isolated from lichens of the Amazon region. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2017, V. 51, no. 2, 10 p.
10. Sarmiento-Vizcaíno A., Espadas J., Martín J., Alfredo F., Reyes B.F., Luis Alpidio Garcia L.A., Blanco G. Atmospheric precipitations, hailstone and rainwater, as a novel source of *Streptomyces* producing bioactive natural products. *Frontiers in Microbiology*. 2018, V. 9, Article 773.
11. Palmer T., Hutchings M.I. Protein secretion in *Streptomyces*. *Streptomyces: Molecular Biology and Biotechnology*. 2011, V. 4, pp. 87–104.

12. Machado I., Teixeira J.A., Rodríguez-Couto S. Semi-solid-state fermentation: A promising alternative for neomycin production by the actinomycete *Streptomyces fradiae*. *Journal of Biotechnology*, 2013, V. 165, Is. 3–4, pp. 195–200.
13. El-Naggar N., El-Ewasy S. Bioproduction, characterization, anticancer and antioxidant activities of extracellular melanin pigment produced by newly isolated microbial cell factories *Streptomyces glaucescens* NEAE-H. *Scientific Reports*. 2017, no. 7, pp. 1–19.
14. Xin W.Ye., Xuewei Yu., Siran L., Xiao-Yuan Zh. New capoamycin-type antibiotics and polyene acids from marine *Streptomyces fradiae* PTZ0025. *Marine Drugs*. 2012, no. 10(11), pp. 2388–2402.
15. Arai M.A., Koryudzu K., Ishibashi M. Inubosins A, B, and C are acridine alkaloids isolated from a culture of *Streptomyces* sp. IFM 11440 with Ngn2 promoter activity. *Journal of Natural Products*. 2015, V. 78, no. 2, pp. 311–314.
16. Baltz R.H. Genetic manipulation of secondary metabolite biosynthesis for improved production in *Streptomyces*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2016, V. 43, pp. 343–370.
17. Antimicrobial characteristics of *Streptomyces fradiae* 19 isolated from chernozem soil of the central part of the Republic of Moldova. *Analele Universității din Oradea, Fascicula Biologie*. 2016, V. XXIII, Is. 2, pp. 56–61.
18. Book A.J., Lewin G.R., McDonald B.R., Takasuka T.E., Doering D.T., Adams A.S., Blodgett J.A.V., Clardy J., Raffa K.F., Fox B.G., Currie C.R. Cellulolytic *Streptomyces* strains associated with herbivorous insects share a phylogenetically linked capacity to degrade lignocellulose. *Applied and Environmental Microbiology*. 2014, V. 80, Is. 15, pp. 4692–4701.
19. Nikiiforova T.A., Novitskaya I.B., Minina T.I. Priority directions of development of food citric acid domestic technology. *Food Industry*. 2010, no. 5, pp. 53–54 (In Russian).
20. Sharova N. Yu. Development of scientific bases of new technologies of food additives and ingredients using starch-containing raw materials. *Doctor's thesis*. St. Petersburg. 2013 (In Russian).
21. Andriyanova D.A., Sergeeva Y.E., Galanina L.A., Feofilova E.P., Usov A.I., Kochkina G.A. Filamentous fungi's cell-wall extraction at different stages of ontogenesis and exploration of their carbohydrate composition. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2011, V. 47, no. 4, pp. 405–411.
22. Dalonso N., Goldman G.H., Gern R.M.M. β -(1-3),(1-6) – Glucans: medicinal activities, characterization, biosynthesis and new horizons. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2015, V. 99, no. 19, pp. 7893–7906.
23. Fengmei Z.A., Bin D., Baojun X. Critical review on production and industrial applications of beta-glucans. *Food Hydrocolloids*. 2016, V. 52, pp. 275–288.
24. Russo P., Lopez P., Capozzi V., de Palencia P.F., Duenas M.T., Spano G., Fiocco D. Beta-glucans improve growth, viability and colonization of probiotic microorganisms. *Int. J. Mol. Sci.* 2012, V. 13, Is. 5, pp. 6026–6039.
25. Feofilova E.P. The fungal cell wall: Modern concepts of its composition and biological function. *Microbiology*. 2010, V. 79, no. 6, pp. 711–720.
26. Manzhieva B.S., Sharova N.Yu. Researching of features byosynthesis beta-glucans in the micelial mass *Aspergillus niger* and in non-conditional cereal grains. *Proceedings of VSUET*. 2019, V. 81, no. 2, pp. 218–222 (In Russian).
27. Sharova N.Yu., Manzhieva B.S., Printseva A.A., Vybornova T.V. Beta-glucans from biomass of plant and microbial origin. *Food System*. 2019, V. 2, no. 1, pp. 23–26.
28. Kosmachevskaya L.N. Biochemical and biotechnological aspects of phytopathogenic streptomycetes of potatoes. *AgroEcoInfo*. 2010, no. 2, p. 7 (In Russian).
29. Khodkevich O.A. Development of a technology for the biosynthesis of an inhibitor of α -glycosidases by actinomycetes of the genus *Streptomyces* and the use of complex additives based on it in bakery. *Candidate's thesis*. St. Petersburg, 2009 (In Russian).
30. Aktuganov G.E., Melent'ev A.I. Specific features of chitosan depolymerization by chitinases, chitosanases, and nonspecific enzymes in the production of bioactive chitoooligosaccharides (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2017, V. 53, no. 6, pp. 611–627.
31. Wu Q., Dou X., Wang Q., Guan Zh., Cai Y., Liao X. Isolation of β -1,3-glucanase-producing microorganisms from *Poria cocos* cultivation soil via molecular biology. *Molecules*. 2018, V. 23, no. 7, pp. 1555–1574.
32. Feofilova E. P., Alyokhin A. I., Goncharov N. G., Mysyakina I. S., Sergeeva Ya. E. *Fundamentals of mycology and the creation of medicines from mycelial fungi*. Moscow, National Academy of Mycology Publ., 2013. 52 p. (In Russian).
33. Alam F., Shafique Z., Amjad S.T., Bin Asad MHH/ Enzymes inhibitors from natural sources with antidiabetic activity: A review. *Phytother Res*. 2019, V. 33, Is. 1, pp. 41–54.
34. Larue K., Melgar M., Martin V.J.J. Directed evolution of a fungal β -glucosidase in *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Biofuels*. 2016, V. 9, no. 52, pp. 1–15.
35. Wei J., Zhang X-Y., Deng Sh., Cao L., Xue Q-H., Gao J-M. α -Glucosidase inhibitors and phytotoxins from *Streptomyces xanthophaeus*. *Nat Prod Res*. 2017, V. 31, Is. 17, pp. 2062–2066.

36. Mouyna I., Hartl L., Latgé J-P. β -1,3-Glucan modifying enzymes in *Aspergillus fumigatus*. *Front. Microbiol.*, 2013, V. 4, Article 81.
37. Rajasree K.P., Mathew G.M., Pandey A., Sukumaran R.K. Highly glucose tolerant β -glucosidase from *Aspergillus unguis*: NII 08123 for enhanced hydrolysis of biomass. *J. Ind Microbiol Biotechnol.* 2013, V. 40, pp. 967–975.
38. Bohlin C., Olsen S.N., Morant M.D., Patkar S., Borch K., Westh P. A comparative study of activity and apparent inhibition of fungal β -glucosidases. *Biotechnol Bioeng.* 2010, V. 107, pp. 943–952.

Статья поступила в редакцию 06.04.2020