Mycotoxin degradation by microbial metabolites

Statsyuk N.V., Shcherbakova L.A., Mikityuk O.D., Nazarova T.A., Dzhevakiya V.G.

All-Russian Research Institute of Phytopathology, Bolshie Vyazemy, Russia

E-mail: nataafg@gmail.com

Key message. Extracellular metabolites of *Gliocladium roseum* GRZ7 are able to destroy aflatoxin B1 and zearalenone (by 61.9 and 68%, respectively). The determined optimum pH and temperature confirm the enzymatic nature of these metabolites.

Keywords: mycotoxins, zearalenone, microbial degradation, *Gliocladium roseum*

Contamination of plant materials with mycotoxins results in significant economical losses (up to \$16 billion a year) [1]. Physical and chemical methods of decontamination have significant limitations; at the same time, microbial degradation of mycotoxins is considered as a promising line of biotechnological investigation. In the course of search for potential biodestructors of aflatoxin B1 (AFB1), we isolated some microorganisms, which extracellular metabolites possessed the desired activity. The study of their toxin-degrading properties was performed by co-incubation of their culture broth filtrates with target mycotoxins with the further HPLC control of changes in the toxin concentration in the incubation medium. Among the studied microorganisms able to efficiently degrade AFB1, the *Gliocladium roseum* strain GRZ7 was able to convert or destroy zearalenone (ZEN), another one polyketide mycotoxin produced by *Fusarium* fungi. In the case of a 72-h co-incubation with AFB1 (6 µg/ml) or ZEN (0.5 µg/ml) at 27–28°C, the fraction of GRZ7-secreted metabolites with the molecular weight cut-off > 5 kDa was able to destroy no less than 61.9% of AFB1 and 68% ZEN. A 30-min incubation at 50°C of a 5-min boiling (100°C) resulted in a complete deactivation of the studied metabolites; the optimum temperature for the biodegradation process was 30°C. The metabolites are active in the pH range of 6.5–9.5 with the optimum pH 8.5; in the case of pH 5.5 or below, they lost their target activity. The obtained data confirm that the target fraction of extracellular GRZ7 metabolites includes compounds of a protein nature possessing the toxin-destroying activity in relation to AFB1 and ZEN. The further work will allow us to identify zearalenone-destroying enzymes and to evaluate the potential of their use for a biological decontamination of plant products containing mycotoxins.

The study of the ZEN-degrading activity of extracellular GRZ7 metabolites was financially supported by the Russian Science Foundation (project RSF 19-76-10031). The study of the AFB1-degrading activity of these metabolites was carried out within the framework of the earlier completed project RSF 14-16-00150.

Биодеградация микотоксинов микробными метаболитами

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

¹Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии, Большие Вяземы, Россия

Аннотация. Экзометаболиты *Gliocladium roseum* GRZ7 способны разрушать афлатоксин В1 и зеараленон (не менее 61.9 и 68%, соответственно). Установленные оптимумы температуры и pH свидетельствуют о ферментативной природе этих метаболитов.

Ключевые слова: микотоксины, зеараленон, микробная деградация, *Gliocladium roseum*

Загрязнение растительной продукции микотоксинами приводит к значительным экономическим потерям (до 16 млрд. долларов в год) [1]. Физические и химические способы деконтаминации имеют существенные ограничения; в то же время, микробная деградация микотоксинов позиционируется как перспективное биотехнологическое направление. В процессе поиска потенциальных биодеструкторов афлатоксина В1 (AFB1) были обнаружены микроорганизмы, экзометаболиты которых обладали целевой активностью. Исследование токсин-деградирующей активности этих метаболитов проводили путем совместного инкубирования фильтрата культуральной жидкости и целевого токсина с последующим определением изменения концентрации токсина в среде методом ВЭЖХ. Среди исследованных микроорганизмов, эффективно деградирующих афлатоксин В1, штамм *Gliocladium roseum* GRZ7 оказался способен разрушать или конвертировать еще один поликетидный микотоксин – зеараленон (ZEN), продуцируемый грибами рода *Fusarium*. При совместной инкубации с AFB1 (6 мкг/мл) или ZEN (0.5 мкг/мл) в течение 72 ч при 27–28°C, фракция секретируемых GRZ7 метаболитов с номинальной отсекаемой молекулярной массой > 5 кДа оказалась способна разрушать не менее 61.9% AFB1 и 68% ZEN. Установлена полная потеря активности метаболитов после термообработки (30 мин при 50°C или 5 мин при 100°C); температурный оптимум для процесса биодеградации соответствует 30°C. Экзометаболиты проявляют активность в диапазоне pH 6.5–9.5 с оптимумом при 8.5; при pH ≤5.5 целевая активность утрачивается. Полученные данные подтверждают присутствие в составе экзометаболитов штамма GRZ7 соединений белковой природы, проявляющих токсин-деградирующую активность в отношении AFB1 и ZEN. Дальнейшие исследования позволят выполнить идентификацию этих соединений и оценить потенциал их использования для биологической деконтаминации растительной продукции, загрязненной микотоксинами.

Изучение ZEN-деградирующей активности экзометаболитов штамма *G. roseum* GRZ7 было выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект РНФ 19-76-10031). Исследование AFB1-деградирующей активности было выполнено в рамках ранее завершенного проекта РНФ 14-16-00150.