

INFLUENCE OF COMPETITIVE EUKARYOTIC MICROORGANISMS ON THE SYNTHESIS AND PROPERTIES OF SECONDARY METABOLITES. PART 1. MICROMYCETES AS REGULATORS OF THE SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF SECONDARY METABOLITES

T. Pirog, M. Parfeniuk

National University of Food Technologies

Key words:

Combined cultivation

Inductor

Fungi

Antimicrobial compounds

Article history:

Received 04.05.2023

Received in revised form

15.05.2023

Accepted 29.05.2023

Corresponding author:

T. Pirog

E-mail:

tapirog@nuft.edu.ua

Citation: Пирог Т. П., Парфенюк М. А. (2023). Вплив конкурентних еукаріотичних мікроорганізмів на синтез та властивості вторинних метаболітів. Частина 1. Мікроміцети як регулятори синтезу та біологічної активності вторинних метаболітів. *Наукові праці НУХТ*, 29(3), 33—49. DOI: 10.24263/2225-2924-2023-29-3-5

ABSTRACT

A serious problem today is the large number of antibiotic-resistant microorganisms and the rapid appearance of new resistance mechanisms in them, which leads to the emergence of polyresistant strains insensitive to the action of known antibiotics. This situation stimulated the search for new non-toxic environmentally friendly antimicrobial metabolites of natural origin. The strategy of co-cultivation of the producer with competitive microorganisms, or the introduction of so-called biological inductors into the culture medium is a simple and highly effective tool that allows not only to increase the synthesis of the final product and enhance its antimicrobial activity, but also to ensure the formation of new, not typical for monocultures, biologically active substances as a result of activation of silent clusters of biosynthetic genes. Usually, living or inactivated bacterial cells are inductors, but in recent years, the number of studies on the using eukaryotic inductors has increased. The analyzed literature data indicate that the combined cultivation of secondary metabolites producers with competitive micromycetes, or the introduction into the medium of live cells or supernatant after the fungi cultivation, although accompanied by an increase in the synthesis of final products, but their concentration was enough low, which significantly limits the possibility of practical application. In addition, in most of the works, the authors did not study the biological activity of the synthesized secondary metabolites. Since their biological activity may change depending on the conditions of cultivation, there are no guarantees that the products synthesized in the presence of micromycetes will be characterized by the properties necessary for practical use.

ВПЛИВ КОНКУРЕНТНИХ ЕУКАРІОТИЧНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ НА СИНТЕЗ І ВЛАСТИВОСТІ ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ. ЧАСТИНА 1. МІКРОМІЦЕТИ ЯК РЕГУЛЯТОРИ СИНТЕЗУ ТА БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ВТОРИННИХ МЕТАБОЛІТІВ

Т. П. Пирог, М.А. Парфенюк

Національний університет харчових технологій

Серйозною проблемою сьогодення є велика кількість антибіотикорезистентних мікроорганізмів і швидка поява у них нових механізмів стійкості, що призводить до виникнення полірезистентних штамів, нечутливих до дії відомих антибіотиків. Така ситуація стимулювала пошук нових нетоксичних екологічно безпечних антимікробних метаболітів природного походження. Стратегія спільного вирощування продуцента з конкурентними мікроорганізмами, або внесення у середовище культивування так званих біологічних індукторів є простим і вискоєфективним інструментом, що дає змогу не тільки підвищити синтез цільового продукту і посилити його антимікробну активність, а й забезпечити утворення нових, нехарактерних для монокультур біологічно-активних речовин у результаті активації мовчазних кластерів біосинтетичних генів. Зазвичай, індукторами є живі або інактивовані клітини бактерій, проте останніми роками збільшується кількість досліджень щодо використання еукаріотичних індукторів. Проаналізовані дані літератури свідчать про те, що комбіноване культивування продуцентів вторинних метаболітів з конкурентними мікроміцетами, або внесення у середовище живих клітин чи супернатанту після вирощування мікроміцетів, хоч і супроводжується підвищенням синтезу цільових продуктів, проте їх концентрація залишається недостатньо невисокою, що суттєво обмежує можливість практичного застосування. Крім того, у більшості праць автори не досліджували біологічну активність синтезованих вторинних метаболітів. Оскільки залежно від умов культивування їх біологічна активність може змінюватися, немає гарантій того, що синтезовані за наявності мікроміцетів продукти будуть характеризуватися необхідними для практичного використання властивостями.

Ключові слова: *комбіноване культивування, індуктор, гриби, антимікробні сполуки.*

Постановка проблеми. В останні роки зростання випадків антибіотикорезистентності в патогенних мікроорганізмів людини викликає глобальне занепокоєння, оскільки антибіотики невпинно втрачають ефективність у клінічних і природних умовах. На подолання такої проблеми спрямовано активний пошук і синтез препаратів, які б характеризувалися необхідними фармакокінетичними властивостями, були нетоксичними та метаболічно стабільними (Challinor, &

Bode, 2015; Wenciewicz, 2019). Прикладом природних метаболітів з антимікробною активністю можуть бути мікробні біодеградабельні поверхнево-активні речовини (ПАР) (Banat, De Rienzo, & Quinn, 2014; Díaz De Rienzo, Banat, Dolman, Winterburn, & Martin, 2015), зокрема, сурфактин (Xu та ін., 2022), який дослідники вважають потенційним терапевтичним засобом у боротьбі проти інфекцій, оскільки сполука виявляє антибактеріальну q антивірусну активність.

Проте недоліком мікробних вторинних метаболітів є залежність їхнього складу і біологічної активності від умов культивування продуцента. Одним із шляхів регуляції синтезу та властивостей таких продуктів мікробного синтезу є спільне культивування продуцентів з конкурентними мікроорганізмами (Marmann, Aly, Lin, Wang, & Proksch, 2014; Luo та ін., 2015; Xu та ін., 2023). Стратегія спільного вирощування мікроорганізмів є простим і високоефективним інструментом, що дає змогу не тільки підвищити синтез цільового продукту і посилити його антимікробну активність, а й забезпечити утворення нових, нехарактерних для монокультур біологічно-активних речовин в результаті активації мовчазних кластерів біосинтетичних генів (Dashti, Grkovic, Abdelmohsen, Hentschel, & Quinn, 2014; Ebrahim та ін., 2016; Wakefield, Hassan, Jaspars, Ebel, & Rateb, 2017; Yu та ін., 2019; Zawawi та ін., 2022).

Науковці припускають, що індукторами активації мовчазних генів можуть бути синтезовані одним із мікроорганізмів низькомолекулярні речовини, що слугують попередниками або субстратами, за наявності яких інший штам продукує нові вторинні метаболіти. З іншого боку, ці низькомолекулярні сполуки можуть бути сигнальними речовинами, які запускають синтез антимікробних речовин одним з штамів для подолання конкуренції і пригнічення іншого (Abdelmohsen та ін., 2015; Peng et al., 2021).

З кожним роком збільшується кількість публікацій щодо спільного культивування бактерій — продуцентів антимікробних речовин з мікроміцетами (DeFilippi, Groulx, Megalla, Mohamed, & Avis, 2018; Boruta, & Ścigaczewska, 2021; Atakra та ін., 2022), або вирощування продуцента за наявності еукаріотичних (зокрема, мікроміцетних) індукторів (Sharma та ін., 2017; Fifani та ін., 2022) для підвищення синтезу цільового продукту (Ola, Thomy, Lai, Brötz-Oesterhelt, & Proksch, 2013; Zhang та ін., 2021; Boruta, Ścigaczewska, & Bizukojć, 2022), а також їх антибактеріальної та антифунгальної активності (Ola, Thomy, Lai, Brötz-Oesterhelt, & Proksch, 2013; Pan, Liu, Xu, Chen, & Cheng, 2021).

Мета статті: узагальнення даних літератури, що стосуються регуляції синтезу та біологічної активності вторинних метаболітів шляхом спільного вирощування бактеріальних продуцентів з мікроміцетами.

Матеріали і методи. Матеріалами дослідження стали наукові публікації зарубіжних учених у провідних періодичних і спеціалізованих світових виданнях, що стосуються впливу спільного культивування бактерій і мікроміцетів на утворення та біологічну активність різних антимікробних сполук.

Викладення основних результатів дослідження. *Спільне культивування продуцентів поверхнево-активних речовин з мікроміцетами.* У літературі є інформація про спільне культивування з мікроміцетами таких продуцентів ПАР, як бактерії роду *Bacillus* (Ola, Thomy, Lai, Brötz-Oesterhelt, & Proksch, 2013; DeFilippi, Groulx, Megalla, Mohamed, & Avis, 2018; Chen та ін., 2021; Pan, Liu, Xu, Chen, &

Cheng, 2021), *Acinetobacter* (Zhang та ін., 2021; Atakpa та ін., 2022), *Paraburkholderia* (Yuan та ін., 2018).

Так, DeFilippi із співавт. (DeFilippi, Groulx, Megalla, Mohamed, & Avis, 2018) досліджували вплив *Fusarium sambucinum* 2351, *Rhizopus stolonifer* 198 і *Verticillium dahliae* 175 на синтез ліпопептидів штамом *Bacillus subtilis* B9-5. Встановлено, що у разі спільного культивування продуцента ПАР з штамом *R. stolonifer* 198 концентрація фенгіцину і сурфактину була на 37 і 15,4% вищою, ніж синтезована монокультурою *B. subtilis* B9-5.

У праці (Pan, Liu, Xu, Chen, & Cheng, 2021) показано, що в разі спільного вирощування *Bacillus amyloliquefaciens* HM618 з мікроміцетами *Aspergillus oryzae* BNCC338380, *Trichoderma reesei* BNCC337997 і *Aspergillus nidulans* BNCC190203 спостерігали не тільки підвищення концентрації сурфактину у 2—30 разів, а й його антифунгальної щодо *Rhizoctonia solani* та *Botrytis cinerea* активності. Автори вважають, що одним із механізмів посилення синтезу сурфактину може бути утворення гідролітичних ферментів мікроміцетами (*A. oryzae* BNCC338380 синтезує амілазу та протеазу, а *A. nidulans* BNCC190203 — ліпазу), що гідролізують використовувані як субстрат харчові відходи до амінокислот та жирних кислот, що є попередниками ліпопептиду.

Chen та ін. (Chen та ін., 2021) встановили, що комбіноване культивування продуцента ПАР *B. amyloliquefaciens* CX-20 з мікроміцетами *A. oryzae* 92011, *Aspergillus niger* 93027 супроводжувалося зниженням синтезу ітуруину А у 1,5—5 разів. Дослідники припускають, що трансформація мікроміцетами ріпакового шроту (ростовий субстрат) супроводжується вивільненням антиоксидантних сполук, що інгібують ріст продуцента і синтез ліпопептиду.

У статті (Ola, Thomy, Lai, Brötz-Oesterhelt, & Proksch, 2013) показано, що під час спільного вирощування бактерій *B. subtilis* 168 trpC2 і грибів *Fusarium tricinctum* (номер штаму не наведено) концентрація ліпопептиду фузаристатину підвищувалася у 8 разів порівняно з показниками, встановленими для монокультури *B. subtilis* 168 trpC2. Крім того, за умов спільного культивування бактерій з мікроміцетами спостерігали збільшення синтезу антибіотиків еніатинів B1 та A1 і латеропірону.

Спільне вирощування на сирій нафті бактерій роду *Acinetobacter* з мікроміцетами *Talaromyces* sp. (Zhang та ін., 2021) або *Scedosporium* sp. ZYY (Atakpa та ін., 2022) супроводжувалося підвищенням синтезу ПАР. Так, у разі культивування *Acinetobacter baumannii* із конкурентним мікроорганізмом *Talaromyces* sp. Спостерігали підвищення деструкції нафти з 58,24% (бактеріальна монокультура) до 72,57% (змішана співкультура). Зниження поверхневого натягу супернатанту культуральної рідини після спільного вирощування бактерій з мікроміцетами до 48,28 мН/м може свідчити про підвищення синтезу ПАР співкультурою (Zhang та ін., 2021).

Аналогічні закономірності встановлені у праці (Atakpa та ін., 2022). Так, ступінь деградації нафти під час культивування бактерій *Acinetobacter* sp. Y2 з мікроміцетами *Scedosporium* sp. ZYY на цьому субстраті становив 58,61%, у той час у процесі вирощування бактеріальної монокультури не перевищував 23,3%. Зниження поверхневого натягу супернатанту культуральної рідини співкультури до 47,58 мН/м вказує на посилення синтезу ПАР таких умов культивування.

У той же час Yuan з співавт. (Yuan та ін., 2018) показали, що спільне культивування бактерій *Paraburkholderia* sp. або *Paraburkholderia tropica* з мікроміцетами *Scedosporium boydii* F-3 не супроводжувалося збільшенням синтезу ПАР, про що свідчило незначне зниження поверхневого натягу культури (з 68 мН/м для бактеріальної монокультури до 63,5 мН/м для співкультури).

Отже, більшість наявних у літературі даних щодо спільного культивування бактеріальних продуцентів поверхнево-активних речовин з мікроміцетами свідчать про те, що за таких умов спостерігається підвищення синтезу ПАР, і є лише поодинокі роботи, в яких повідомляється про посилення антимікробної активності синтезованих співкультурою метаболітів.

Культивування продуцентів антибіотиків з конкурентними мікроміцетами. Нечисленні наявні у літературі дані щодо біосинтезу антибіотиків комбінованою співкультурою стосуються спільного культивування актинобактерій роду *Streptomyces* з мікроміцетами (Boruta, & Ścigaczewska, 2021; Boruta, Ścigaczewska, & Bizukoјć, 2021; Boruta, Ścigaczewska, & Bizukoјć, 2022). У цих роботах як конкурентні мікроорганізми використовували гриби роду *Aspergillus* і *Penicillium*.

Дослідники (Boruta, & Ścigaczewska, 2021) встановили, що за спільного культивування *Streptomyces rimosus* ATCC 10970 з *Penicillium rubens* ATCC 9178 або *Aspergillus niger* ATCC 204447 спостерігали незначне підвищення концентрації окситетрацикліну: всього на 13 та 5% відповідно.

Вирощування цього ж продуцента антибіотика з іншим конкурентним мікроорганізмом (*Aspergillus terreus* ATCC 20542) так само приводило до несуттєвого збільшення кількості окситетрацикліну порівняно з монокультурою актинобактерій (18 і 13 мг/л відповідно) (Boruta, Ścigaczewska, & Bizukoјć, 2021).

Ці ж автори у наступних дослідженнях (Boruta, Ścigaczewska, & Bizukoјć, 2022) показали, що спільне культивування продуцента ністатину *Streptomyces noursei* ATCC 11455 з *A. terreus* ATCC 20542 супроводжувалося підвищенням концентрації антибіотику у 2 рази.

Ola з співавт. (Ola, Thomy, Lai, Brötz-Oesterhelt, & Proksch, 2013) показали, що у разі комбінованого вирощування *B. subtilis* 168 trpC2 з мікроміцетами *F. tricinctum* спостерігали збільшення синтезу антибіотиків порівняно з синтезованими монокультурою актинобактерій. Еніатини B1 і A1 виявляли антимікробну активність щодо *B. subtilis* 168 trpC2 (мінімальні інгібуючі концентрації 16 і 8 мкг/мл відповідно), а також щодо *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* та *Enterococcus faecalis* (показники мінімальних інгібуючих концентрацій перебували у діапазоні 2—8 мкг/мл). Автори також встановили, що антибіотик латеропірон демонстрував високу антибактеріальну активність щодо *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. pneumoniae* та *Enterococcus faecalis* (мінімальні інгібуючі концентрації становили 2—8 мкг/мл).

У табл. 1 наведено показники синтезу вторинних метаболітів під час вирощування бактеріальних продуцентів з конкурентними мікроміцетами. Ці дані свідчать про те, що комбіноване культивування продуцентів поверхнево-активних речовин і антибіотиків з конкурентними мікроміцетами хоч і супроводжується підвищенням синтезу цільових продуктів, проте їх концентрація залишається невисокою. Очевидно, наступні дослідження авторів будуть присвячені оптимізації умов спільного культивування мікроорганізмів для забезпечення максимального синтезу вторинних метаболітів. На нашу думку, одним з факторів такої оптимізації може бути спосіб підготовки інокуляту, зокрема, використання для його вирощування рідких мінеральних поживних середовищ.

Утворення нових біологічно активних метаболітів під час спільного культивування бактерій з мікроміцетами. У процесі вирощування бактерій з еукаріотами часто спостерігається синтез нових антимікробних метаболітів, нехарактерних для бактеріальних монокультур. Зокрема, у літературі є відомості про утворення таких нових сполук представниками роду *Bacillus* (Ola, Thomy, Lai, Brötz-Oesterheld, & Proksch, 2013; Wu та ін., 2018; Li та ін., 2020), *Streptomyces* (Wang та ін., 2014; Wakefield, Hassan, Jaspars, Ebel, & Rateb, 2017; Khalil, Cruz-Morales, Licona-Cassani, Marcellin, & Capon, 2019; Yu та ін., 2019), *Pseudomonas* (Moussa, Ebrahim, Kalscheuer, Liu, & Proksch, 2020) та *Acinetobacter* (Zhang та ін., 2017; Zhang та ін., 2018).

Таблиця 1. Утворення поверхнево-активних речовин і антибіотиків у процесі спільного культивування бактерій-продуцентів з мікроміцетами

Продуцент	Конкурентний мікроорганізм	Середовище для вирощування інокуляту продуцента/ конкурентного мікроорганізму	Субстрат	Концентрація вторинних метаболітів монокультура/ співкультура	Література
<i>Bacillus subtilis</i> B9–5	<i>Rhizopus stolonifer</i> 198	Триптон-соєвий агар/картопляно-декстрозний агар	Сахароза	Фенгіцин: 27/37 мкг/мл; Сурфактин: 3,25/3,75 мкг/мл	DeFilippi, Groulx, Megalla, Mohamed, & Avis, 2018
<i>Bacillus subtilis</i> 168 trpC2	<i>Fusarium tricinctum</i>	LB середовище/солодовий агар	Глюкоза	Фузаристатин А: 10,05/79,40 мг/л Еніатин В1: 2,44/88,54 мг/л; Еніатин А1: 0,28/21,85 мг/л; Еніатин В: 3,4/4,85 мг/л; Латеропірон: 8,78/79,58 мг/л	Ola, Thomy, Lai, Brötz-Oesterheld, & Proksch, 2013
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Fusarium tricinctum</i>	Середовище Мюллера-Хінтона	Молочний рис	Феназин-1-карбонова кислота: –*/85,1 мг/л Феназин-1-карбоксамід: –*/7,5 мг/л 2-гептил-4-гідроксихінолон: –*/26,1 мг/л	Moussa, Ebrahim, Kalscheuer, Liu, & Proksch, 2020
<i>Streptomyces rimosus</i> ATCC 10970	<i>Penicillium rubens</i> ATCC 9178	Солодово-дріжджово-декстрозний агар / картопляно-декстрозний агар	Глюкоза	Окситетрациклін: 3,5/3,95 мг/л	Boruta, & Ścigaczewska, 2021
	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 20447	Солодово-дріжджово-декстрозний агар / солодово-казеїно-пептонний агар	Глюкоза	Окситетрациклін: 3,5/3,65 мг/л	Boruta, & Ścigaczewska, 2021

<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CX-20	<i>Aspergillus oryzae</i> 92011	LB середовище/ріпаковий шрот, пшеничні висівки	Глюкоза, ріпаковий шрот	Ігурин А: 1,25/0,93 г/л	Chen та ін., 2021
	<i>Aspergillus niger</i> 93027	LB середовище/ріпаковий шрот, пшеничні висівки	Глюкоза, ріпаковий шрот	Ігурин А: 1,25/0,6 г/л	Chen та ін., 2021
	<i>Trametes</i> sp. 48424	LB середовище/ріпаковий шрот, пшеничні висівки	Глюкоза, ріпаковий шрот	Ігурин А: 1,25/0,27 г/л	Chen та ін., 2021
<i>Streptomyces noursei</i> ATCC 11455	<i>Aspergillus terreus</i> ATCC 20542	Дріжджовий екстракт, солодовий екстракт, декстроза, агар/солодовий екстракт, казеїновий пептон, агар	Лактоза, глюкоза	Ністатин А1: 15,6/32,5 мг/л	Boruta, Ścigaczewska, & Bizukojć, 2022
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> HM618	<i>Aspergillus oryzae</i> BNCC 338380	Пептон, яловичий екстракт, дріжджовий екстракт, глюкоза, натрію хлорид/картопля, глюкоза, тіамін, неорганічні солі	Харчові відходи	Сурфактин: 203,67/5878,5 мг/л	Pan, Liu, Xu, Chen, & Cheng, 2021
	<i>Trichoderma reesei</i> BNCC 337997	Пептон, яловичий екстракт, дріжджовий екстракт, глюкоза, натрію хлорид/картопля, глюкоза, тіамін, неорганічні солі	Харчові відходи	Сурфактин: 203,67/425,98 мг/л	Pan, Liu, Xu, Chen, & Cheng, 2021
	<i>Aspergillus nidulans</i> BNCC 190203	Пептон, яловичий екстракт, дріжджовий екстракт, глюкоза, натрію хлорид/картопля, глюкоза, тіамін, неорганічні солі	Харчові відходи	Сурфактин: 203,67/654,04 мг/л	Pan, Liu, Xu, Chen, & Cheng, 2021

Примітка: * — не виявлено у монокультури.

Так, Wu зі співавт. (Wu та ін., 2018) встановили, що результатом спільного вирощування *B. amyloliquefaciens* ACCC11060 з *Trichoderma asperellum* GDFS1009 (співвідношення 1,9:1 відповідно) було утворення комплексу сполук (4-гідроксибензойна кислота, апігенін, гліцин бетаїн, нікотинова кислота), який характеризувався високою антифунгальною активністю щодо *Botrytis cinerea*.

У роботі (Li та ін., 2020) показано, що під час культивування *B. subtilis* 22 з *Trichoderma atroviride* SG3403 синтезувалися такі антимікробні сполуки, як конінгінін А, мевастатин, 11-дезацетоксивортманін, спіролактони. Встановлено, що одержані за таких умов вторинні метаболіти спричиняли антифунгальну дію на

Fusarium graminearum.

При спільному культивуванні *B. subtilis* CGMCC 13141 з грибами *Aspergillus sydowii* 401353 спостерігали утворення нових антимікробних сполук: (7S)-10-гідроксидеканової кислоти, сидонату серину, макролактину U' (Sun та ін., 2021; Sun та ін., 2022).

У працях (Wakefield, Hassan, Jaspars, Ebel, & Rateb, 2017; Boruta, & Ścigaczewska, 2021) встановлено, що комбіноване культивування *Streptomyces leeuwenhoekii* C58 і *Aspergillus fumigatus* MR2012 у середовищі з глюкозою супроводжувалося синтезом таких антимікробних метаболітів як чаксапептин, сесквітерпенова пенталенова кислота, нокардамін, нехарактерних для монокультури актинобактерій.

Yu із співавт. (Yu та ін., 2019) показали, що в результаті спільного вирощування *Streptomyces rochei* MB037 з грибами *Rhinochadiella similis* 35 синтезуються не характерні для монокультур борелідини J і K, а також нова сполука 7-метокси-2,3-диметилхромон-4-он. Дослідники встановили, що утворення нових метаболітів зумовлене активацією «мовчазних» генів вторинного метаболізму грибів в умовах комбінованого культивування. Подальші дослідження показали, що борелідин J виявляв високу антибактеріальну активність щодо метицилін-резистентного штамів *S. aureus*: мінімальні інгібуючі концентрації становили всього 0,195 мкг/мл, у той час як ці показники для антибіотика ципрофлоксацину були вищими (0,313 мкг/мл).

У праці (Wang та ін., 2014) було виявлено, що комбіноване культивування *Streptomyces fradiae* 007 з *Penicillium* sp. WC-29-5 супроводжувалося синтезом чотирьох нових полікетидів, ідентифікованих як дезоксифунікон, альтернаріол, вермістатин, (9R,14S)-епокси-11-дезоксифунікон, (9S,14R)-епокси-11-дезоксифунікон.

Результатом спільного вирощування *Streptomyces* sp. SUK10 з *Fusarium* sp. F7S15 (Zawawi та ін., 2022) стало утворення нових сполук (наразин D, семіноліпід, олігоміцин A, ікозалід A1, ікозалід A3). Антибактеріальну активність одержаних метаболітів визначали методом дифузії в агар, як описано у статті (Assaw та ін., 2020). Результати показали, що екстракт метаболітів з культуральної рідини після спільного вирощування бактерій і грибів проявляв незначну антибактеріальну активність щодо *Micrococcus* sp. і *S. aureus* зі значеннями мінімальних інгібуючих концентрацій 5 і 10 мг/мл відповідно.

За спільного культивування *Streptomyces* sp. CMB-StM0423 з *Aspergillus* sp. CMB-AsM0423 спостерігали утворення геронапіролу B — метаболіту, не характерного для бактерії-продуцента (Khalil, Cruz-Morales, Licon-Cassani, Marcellin, & Caron, 2019). Вирощування даних мікроорганізмів проводили у 24-лунковій мікробіореакторній системі (Khalil, Kalansuriya, & Caron, 2014). Синтез нової антимікробної сполуки пояснюється тим, що бактеріостатичний метаболіт грибів цикло-(L-феніл-транс-4-гідрокси-L-пролін) стимулював синтез актинобактерією оксиду азоту (NO), який, у свою чергу, спричиняв транскрипційну активацію мовчазного кластера біосинтетичних генів біосинтезу геронапіролу B.

Meschke із співавт. (Meschke, Walter, & Schrempf, 2012) встановили, що вирощування співкультури *Streptomyces lividans* 66 і патогенних грибів *Verticillium dahlia* супроводжувалося утворенням ундецилпродигіозину, який не синтезувався

монокультурою бактерій. Одержаний метаболіт виявляв сильну антифунгальну дію на гіфи та мікросклеротії *V. dahliae*, тим самим порушуючи специфічні шляхи передачі сигналу та апоптоз цього збудника захворювань рослин.

Утворення нових антимікробних феноантинів спостерігали також під час спільного культивування *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 з *Fusarium tricinctum* (Moussa, Ebrahim, Kalscheuer, Liu, & Proksch, 2020). Утворення цих сполук, нехарактерних для бактерії-продуцента, зумовлене впливом метаболітів гриба на «мовчазний» кластер біосинтетичних генів *P. aeruginosa* ATCC27853, що призводить до активації синтезу феноантин-1-карбонової кислоти, феноантин-1-карбоксаміду та 2-гептил-4-гідроксихінолону.

Zhang та співавт. (Zhang та ін., 2017; Zhang та ін., 2018) встановили, що у процесі спільного вирощування *Acinetobacter johnsonii* B2 і *Trichoderma* sp. 307 синтезувалися біологічно активні сполуки мікросферопсисини В, С-(3R, 7R)-7-гідрокси-де-О-метиллазіодиплодин, (3R)-5-оксо-де-О-метиллазіодиплодин, (3R)-7-оксо-де-О-метиллазіодиплодин (Zhang та ін., 2017) та ботріородін Н (Zhang та ін., 2018). Утворений ботріородін Н інгібував активність α -глюкозидази з IC_{50} в діапазоні від 8,1 до 54,1 мкМ, а також виявляв високу цитотоксичність щодо клітинних ліній MMQ і GH3 зі значеннями IC_{50} 3,09 і 3,64 мкМ відповідно.

Узагальнені дані щодо утворення нових метаболітів з різною біологічною активністю у процесі комбінованого культивування бактерій мікроміцетами наведено у табл. 2.

Таблиця 2. Синтез нових біологічно активних сполук як результат спільного культивування бактерій з мікроміцетами

Продуцент	Конкурентний мікроорганізм	Субстрат	Метаболіти, не характерні для монокультури	Література
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ACCC11060	<i>Trichoderma asperellum</i> GDFS1009	Яловичий екстракт	4-гідроксибензойна кислота Апігенін Гліцин бетаїн Нікотинова кислота	Wu та ін., 2018
<i>Bacillus subtilis</i> 22	<i>Trichoderma atroviride</i> SG3403	Меляса	Конінгінін А Мевастатин 11-Дезацетоксивортманін Спіролактони	Li та ін., 2019
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	<i>Fusarium tricinctum</i>	Молочний рис	Феноантин-1-карбонової кислота Феноантин-1-карбоксамід 2-Гептил-4-гідроксихінолон	Moussa, Ebrahim, Kalscheuer, Liu, & Proksch, 2020
<i>Streptomyces rochei</i> MB037	<i>Rhinochadiella similis</i> 35	Солодовий екстракт, декстроза	Борелідин J Борелідин K 7-Метокси-2,3-диметилхромон-4-он	Yu та ін., 2019

<i>Streptomyces leeuwenhoekii</i> C34	<i>Aspergillus fumigatus</i> MR2012	Глюкоза	Бревіанамід Х Лютеорид D Псевротін G	Wakefield, Hassan, Jaspars, Ebel, & Rateb, 2017
<i>Bacillus subtilis</i> CGMCC 13141	<i>Aspergillus sydowii</i> 401353	Декстроза	(7S)-10-Гідроксидеканова кислота Серин сидонат Макролактин U'	Sun та ін., 2021; Sun та ін, 2022
<i>Streptomyces fradiae</i> 007	<i>Penicillium</i> sp. WC-29-5	Глюкоза, мальтоза, маніт	Дезоксифунікон Альтернاریол Вермістатин (9R,14S)-Епокси-11-дезоксифунікон (9S,14R)-Епокси-11-дезоксифунікон	Wang та ін., 2014
<i>Streptomyces</i> sp. CMB-StM0423	<i>Aspergillus</i> sp. CMB-AsM0423	Крохмаль	Геронапірол В	Khalil, Cruz-Morales, Licon-Cassani, Marcellin, & Capon, 2019
<i>Streptomyces lividans</i> 66	<i>Verticillium dahliae</i>	Глюкоза	Ундецилпродигіозин	Meschke, Walter, & Schrempf, 2012
<i>Streptomyces</i> sp. SUK10	<i>Fusarium</i> sp. F7S15	Солодовий екстракт, моногідрат глюкози	Наразин D Семіноліпід Олігоміцин А Ікозалід А1 Ікозалід А3	Zawawi та ін., 2022
<i>Acinetobacter johnsonii</i> B2	<i>Trichoderma</i> sp. 307	Рис	Мікросферопсисини В, С (3R, 7R)-7-Гідрокси-де-О-метиллазіодиплодин (3R)-5-Оксо-де-О-метиллазіодиплодин (3R)-7-Оксо-де-О-метиллазіодиплодин	Zhang та ін., 2017
<i>Acinetobacter johnsonii</i> B2	<i>Trichoderma</i> sp. 307	Рис	Ботріородін Н	Zhang та ін., 2018

Синтез поверхнево-активних речовин і антибіотиків за наявності мікроміцетних індукторів. У наших попередніх дослідженнях (Пирог, Іванов, & Ярова, 2021) ми акцентували увагу на відмінності понять «спільне культивування мікроорганізмів» і «біологічний індуктор». У першому випадку інокулят обох штамів (і продуцента, і конкурентного мікроорганізму) вносять у середовище культивування у практично однаковій концентрації. У другому випадку живі або інактивовані клітини індуктора, або супернатант (фільтрат) після вирощування конкурентного мікроорганізму вносять у середовище у значно нижчій концентрації порівняно з

клітинами продуцента цільових метаболітів.

Упродовж останніх років у літературі з'явилася інформація про підвищення синтезу поверхнево-активних речовин і антибіотиків за наявності у середовищі культивування продуцента мікроміцетних індукторів. Переважна більшість таких досліджень стосуються впливу індукторів на синтез вторинних метаболітів бактеріями роду *Bacillus* (Chen та ін., 2021; Wang та ін., 2021; Fifani та ін., 2022) і *Streptomyces* (Wang, Yuan, Gu, & Shi, 2013; Sharma та ін., 2017; Wang, Wei, Zhang, Zhang, & Gu, 2017; Shi, Tao, & Liu, 2018; Song, Ma, Bechthold, & Yu, 2020; Liu, Wang, Li, Zhang, & Meng, 2022; Liu, Wang, Zhang, & Qi, 2022).

Поверхнево-активні речовини. У більшості досліджень як індуктори використовують живі клітини мікроміцетів (Chen та ін., 2021; Wang та ін., 2021; Liu, Wang, Li, Zhang, & Meng, 2022; Liu, Wang, Zhang, & Qi, 2022), а супернатант (Fifani та ін., 2022; Liu, Wang, Li, Zhang, & Meng, 2022; Liu, Wang, Zhang, & Qi, 2022) та інактивовані клітини (Fifani та ін., 2022) — значно рідше.

Fifani з співавт. (Fifani та ін., 2022) досліджували синтез ліпопептидів *Bacillus velezensis* GA1 за наявності у середовищі культивування інактивованих автоклавуванням клітин *Trichoderma harzianum* IHEM5437 або супернатанту після вирощування штаму IHEM5437. Незначне підвищення концентрації ігурину, фенгіцину та сурфактину за таких умов культивування порівняно з показниками синтезу без індуктора автори пояснюють здатністю штаму *T. harzianum* IHEM5437 до продукції амінокислот (Callow, Ray, Kelbly, & Ju, 2016), які продуцент ПАР може використовувати як джерело азоту і попередник синтезу ліпопептидів.

У роботах (Liu, Wang, Li, Zhang, & Meng, 2022; Liu, Wang, Zhang, & Qi, 2022) встановлено, що внесення у середовище культивування *Streptomyces bikiniensis* HD-087 живих клітин *Magnaporthe oryzae* Guy11 або відповідного супернатанту супроводжувалося підвищенням концентрації ліпопептидів на 107,4% порівняно з показниками синтезу у середовищі без індукторів. Автори показали, що за наявності індукторів в клітинах *S. bikiniensis* HD-087 спостерігається підвищення активності ферментів циклу трикарбонових кислот, в результаті чого утворюється більша кількість відновлювальних еквівалентів (НАДН і ФАДН) і АТФ, використовуваних у синтезі жирних кислот, необхідних для утворення ліпопептидів.

Підвищення синтезу ігурину А на 33% спостерігали за наявності у середовищі культивування *B. amyloliquefaciens* CX-20 живих клітин *A. oryzae* 92011 або *Trametes* sp. 48424 (Wang et al, 2021).

Антибіотики. У доступній літературі є лише поодинокі відомості про вплив інактивованих клітин мікроміцетів на синтез антибіотиків, і значно більше інформації про утворення цих продуктів мікробного синтезу за наявності живих клітин або супернатанту (Wang, Yuan, Gu, & Shi, 2013; Wang, Wei, Zhang, Zhang, & Gu, 2017; Sharma та ін., 2017; Shi, Tao, & Liu, 2018; Song, Ma, Bechthold, & Yu, 2020).

У праці (Song, Ma, Bechthold, & Yu, 2020) встановлено, що в разі додавання живих клітин *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* або супернатанту після вирощування цього штаму у середовище культивування *Streptomyces rimosus* M527 концентрація антибіотику римоцидину підвищувалася в 1,8 та 1,5 раза відповідно

порівняно з показниками синтезу у середовищі без індукторів. Оскільки римоцидин характеризується антифунгальною активністю щодо *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (Lu та ін., 2016), посилена продукція цього антибіотика може бути зумовлена захисною реакцією *S. rimosus* M527.

У працях (Wang, Yuan, Gu, & Shi, 2013; Wang, Wei, Zhang, Zhang, & Gu, 2017; Shi, Tao, Liu, 2018) досліджували вплив живих клітин мікроміцетів роду *Aspergillus* і *Penicillium*, або відповідних супернатантів у середовищі культивування продуцентів натаміцину на синтез цього антибіотика. У більшості досліджень за наявності індукторів спостерігали підвищення концентрації натаміцину в 1,3—3 рази, проте у деяких випадках внесення супернатанту після вирощування мікроміцетів супроводжувалося зниження синтезу антибіотика порівняно з показниками у середовищі без індуктора.

Sharma зі співавт. (Sharma та ін., 2017) встановили, що при внесенні у середовище культивування *Streptomyces lavendulae* ACR-DA1 живих клітин *Trichoderma velutinum* концентрація валіноміцину знижувалася у два рази порівняно з синтезом без індуктора.

У табл. 3 наведено узагальнену інформацію про синтез вторинних метаболітів за наявності у середовищі бактеріальних продуцентів мікроміцетних індукторів. Ці дані свідчать про те, що внесення живих клітин або супернатанту після вирощування мікроміцетів є простим, але достатньо ефективним прийомом для підвищення синтезу поверхнево-активних речовин і антибіотиків. Разом з тим у даних роботах автори не досліджували біологічну активність синтезованих цільових продуктів. Оскільки залежно від умов культивування біологічна активність вторинних метаболітів може змінюватися, немає гарантій того, що за наявності еукаріотичних індукторів будуть синтезуватися продукти з необхідними для практичного використання властивостями.

Таблиця 3. Вплив еукаріотичних індукторів на синтез поверхнево-активних речовин і антибіотиків

Продуцент	Індуктор	Фізіологічний стан індуктора	Цільовий продукт	Концентрація цільового продукту, синтезованого		Література
				без індуктора	за наявності індуктора	
<i>Streptomyces bikiniensis</i> HD-087	<i>Magnaporthe oryzae</i> Guy11	Супернатант	Ліпопептиди	285,6 ± 9,3 мг/л	531,3 ± 9,3 мг/мл	Liu, Wang, Li, Zhang, & Meng, 2022
<i>Streptomyces natalensis</i> HW-2	<i>Penicillium chrysogenum</i> AS 3.5163	Супернатант	Натаміцин	1,2 г/л	2,49 г/л	Wang, Wei, Zhang, Zhang, & Gu, 2017
<i>Streptomyces natalensis</i> HW-2	<i>Aspergillus oryzae</i> AS 3.2068	Живі клітини, супернатант	Натаміцин	0,639 г/л	0,639 г/л (живі клітини); 0,35 г/л (супернатант)	Wang, Yuan, Gu, & Shi, 2013

	<i>Aspergillus niger</i> AS 3.6472	Живі клітини, супернатант	Натаміцин	0,639 г/л	0,799 г/л (живі клітини); 1,62 г/л (супернатант)	
	<i>Penicillium chrysogenum</i> AS 3.5163	Живі клітини, супернатант	Натаміцин	0,639 г/л	0,875 г/л (живі клітини); 1,84 г/л (супернатант)	
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CX-20	<i>Aspergillus oryzae</i> 92011	Живі клітини	Ігурин А	1,74 г/л	1,88 г/л	Wang та ін., 2021
	<i>Trametes</i> sp. 48424	Живі клітини	Ігурин А	1,74 г/л	1,95 г/л	
<i>Streptomyces natalus</i> N5	<i>Aspergillus niger</i>	Супернатант	Натаміцин	0,85 г/л	1,44 г/л	Shi, Tao, & Liu, 2018
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Супернатант	Натаміцин	0,85 г/л	1,69 г/л	
<i>Streptomyces lavendulae</i> ACR-DA1	<i>Trichoderma velutinum</i>	Живі клітини	Валіноміцин	50 мг/л	26,3 мг/л	Sharma та ін., 2017
<i>Streptomyces rimosus</i> M527	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	Супернатант, живі клітини, інактивовані клітини	Римоцидин	0,21—0,22 г/л	0,3 г/л (супернатант); 0,385 г/л (живі клітини); 0,22 г/л (інактивовані клітини)	Song, Ma, Bechthold & Yu, 2020

Висновки

У цьому огляді ми підсумували репрезентативні дослідження індукції синтезу мікробних вторинних метаболітів за допомогою стратегій спільного культивування бактеріальних штамів з мікроміцетами. Ці дані свідчать про те, що комбіноване культивування мікроорганізмів, а також внесення у середовище вирощування продуцента біологічних індукторів є простим, дешевим і достатньо ефективним способом підвищення синтезу практично важливих мікробних метаболітів, або навіть отримання нових сполук, нехарактерних для монокультури-продуцента. Разом з тим зазначимо, що, незважаючи на велику кількість досліджень цієї проблеми, багато питань натепер залишаються без відповіді. Так, потребує додаткового вивчення і пояснення як вибір конкурентного мікроорганізму, так і спосіб підготовки його інокуляту, а також фізіологічний стан індуктора, його концентрація і момент внесення у середовище культивування продуцента. У більшості проаналізованих праць залишається практично недослідженою біологічна активність синтезованих за наявності конкурентних мікроміцетів вторинних метаболітів. З потенційно можливих механізмів індукції синтезу цільових продуктів

переважно розглядається активація «мовчазних» біосинтетичних генів штаму-продуцента. Проблемним місцем багатьох досліджень є недостатньо висока концентрація вторинних метаболітів, що суттєво обмежує можливість їх практичного застосування.

Література

- Пирог, Т. П., Иванов, М. С., Ярова, Г. А. (2021). Антимікробна активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих за наявності біологічних індукторів. *Наукові праці НУХТ*, 27(4), 43—52. <http://dspace.nuft.edu.ua/jspui/handle/123456789/36596>.
- Abdelmohsen, U. R., Grkovic, T., Balasubramanian, S., Kamel, M. S., Quinn, R. J., & Hentschel, U. (2015). Elicitation of secondary metabolism in actinomycetes. *Biotechnology advances*, 33(6), 798—811. doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.06.003.
- Aparicio, J. F., Bareales, E. G., Payero, T. D., Vicente, C. M., de Pedro, A., & Santos-Aberturas, J. (2016). Biotechnological production and application of the antibiotic pimarinic: biosynthesis and its regulation. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(1), 61—78. doi: 10.1007/s00253-015-7077-0.
- Assaw, S., Mohd Amir, M. I. H., Khaw, T. T., Bakar, K., Mohd Radzi, S. A., & Mazlan, N. W. (2020). Antibacterial and antioxidant activity of naphthofuranquinones from the twigs of tropical mangrove *Avicennia officinalis*. *Natural product research*, 34(16), 2403-2406. doi: 10.1080/14786419.2018.1538220.
- Atakpa, E. O., Zhou, H., Jiang, L., Ma, Y., Liang, Y., Li, Y., ..., & Zhang, C. (2022). Improved degradation of petroleum hydrocarbons by co-culture of fungi and biosurfactant-producing bacteria. *Chemosphere*, 290, 133337. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.133337.
- Banat, I. M., De Rienzo, M. A. D., & Quinn, G. A. (2014). Microbial biofilms: biosurfactants as antibiofilm agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(24), 9915—9929. doi: 10.1007/s00253-014-6169-6.
- Boruta, T. (2021). A bioprocess perspective on the production of secondary metabolites by *Streptomyces* in submerged co-cultures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(10), 171. doi: 10.1007/s11274-021-03141-z.
- Boruta, T., & Ścigaczewska, A. (2021). Enhanced oxytetracycline production by *Streptomyces rimosus* in submerged co-cultures with *Streptomyces noursei*. *Molecules*, 26(19), 6036. doi: 10.3390/molecules26196036.
- Boruta, T., Ścigaczewska, A., & Bizukojć, M. (2021). “Microbial wars” in a stirred tank bioreactor: Investigating the co-cultures of *Streptomyces rimosus* and *Aspergillus terreus*, filamentous microorganisms equipped with a rich arsenal of secondary metabolites. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 713639. doi: 10.3389/fbioe.2021.713639.
- Boruta, T., Ścigaczewska, A., & Bizukojć, M. (2022). Production of secondary metabolites in stirred tank bioreactor co-cultures of *Streptomyces noursei* and *Aspergillus terreus*. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10. doi: 10.3389/fbioe.2022.1011220.
- Callow, N. V., Ray, C. S., Kelbly, M. A., & Ju, L. K. (2016). Nutrient control for stationary phase cellulase production in *Trichoderma reesei* Rut C-30. *Enzyme and microbial technology*, 82, 8—14. doi: 10.1016/j.enzmictec.2015.08.012.
- Challinor, V. L., & Bode, H. B. (2015). Bioactive natural products from novel microbial sources. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1354(1), 82—97. doi: 10.1111/nyas.12954.
- Chen, W., Wang, M., Gong, Y., Deng, Q., Zheng, M., Chen, S., ..., & Huang, F. (2021). The unconventional adverse effects of fungal pretreatment on iturin A fermentation by *Bacillus amylo-liquefaciens* CX-20. *Microbial Biotechnology*, 14(2), 587—599. doi: 10.1111/1751-7915.13658.
- Dashti, Y., Grkovic, T., Abdelmohsen, U. R., Hentschel, U., & Quinn, R. J. (2014). Production of induced secondary metabolites by a co-culture of sponge-associated *Actinomycetes*, *Actinokineospora* sp. EG49 and *Nocardiopsis* sp. RV163. *Marine drugs*, 12(5), 3046—3059. doi: 10.3390/md12053046.
- DeFilippi, S., Groulx, E., Megalla, M., Mohamed, R., & Avis, T. J. (2018). Fungal competitors affect production of antimicrobial lipopeptides in *Bacillus subtilis* strain B9-5. *Journal of chemical*

ecology, 44, 374—383. doi: 10.1007/s10886-018-0938-0.

Díaz De Rienzo, M. A., Banat, I. M., Dolman, B., Winterburn, J., & Martin, P. J. (2015). Sophorolipid biosurfactants: Possible uses as antibacterial and antibiofilm agent. *New Biotechnology*, 32(6), 720—726. doi: 10.1016/j.nbt.2015.02.009.

Ebrahim, W., El-Neketi, M., Lewald, L. I., Orfali, R. S., Lin, W., Rehberg, N., ... & Proksch, P. (2016). Metabolites from the fungal endophyte *Aspergillus austroafricanus* in axenic culture and in fungal–bacterial mixed cultures. *Journal of Natural Products*, 79(4), 914—922. doi: 10.1021/acs.jnatprod.5b00975.

Fifani, B., Steels, S., Helmus, C., Delacuvellerie, A., Deracinois, B., Phalip, V., ..., & Jacques, P. (2022). Coculture of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus velezensis* based on metabolic cross-feeding modulates lipopeptide production. *Microorganisms*, 10(5), 1059. doi: 10.3390/microorganisms10051059.

Khalil, Z. G., Cruz-Morales, P., Licona-Cassani, C., Marcellin, E., & Capon, R. J. (2019). Inter-Kingdom beach warfare: Microbial chemical communication activates natural chemical defences. *The ISME journal*, 13(1), 147—158. doi: 10.1038/s41396-018-0265-z.

Li, T., Tang, J., Karuppiah, V., Li, Y., Xu, N., & Chen, J. (2020). Co-culture of *Trichoderma atroviride* SG3403 and *Bacillus subtilis* 22 improves the production of antifungal secondary metabolites. *Biological Control*, 140, 104122. doi: 10.1016/j.biocontrol.2019.104122.

Liu, W., Wang, J., Li, S., Zhang, H., Meng, L., Liu, L., ..., & Ping, W. (2022). Genomic and biocontrol potential of the crude lipopeptide by *Streptomyces bikiniensis* HD-087 against *Magnaporthe oryzae*. *Frontiers in Microbiology*, 1946. doi: 10.3389/fmicb.2022.888645.

Liu, W., Wang, J., Zhang, H., Qi, X., & Du, C. (2022). Transcriptome analysis of the production enhancement mechanism of antimicrobial lipopeptides of *Streptomyces bikiniensis* HD-087 by co-culture with *Magnaporthe oryzae* Guy11. *Microbial Cell Factories*, 21(1), 1—11. doi: 10.1186/s12934-022-01913-2.

Lu, D., Ma, Z., Xu, X., & Yu, X. (2016). Isolation and identification of biocontrol agent *Streptomyces rimosus* M527 against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Journal of basic microbiology*, 56(8), 929—933. doi: 10.1002/jobm.201500666.

Marmann, A., Aly, A., Lin, W., Wang, B., & Proksch, P. (2014). Co-Cultivation—A Powerful Emerging Tool for Enhancing the Chemical Diversity of Microorganisms. *Marine Drugs*, 12(2), 1043—1065. doi:10.3390/md12021043.

Meschke, H., Walter, S., & Schrenpf, H. (2012). Characterization and localization of prodiginines from *Streptomyces lividans* suppressing *Verticillium dahliae* in the absence or presence of *Arabidopsis thaliana*. *Environmental microbiology*, 14(4), 940—952. doi: 10.1111/j.1462-2920. 2011. 02665.x.

Moussa, M., Ebrahim, W., Kalscheuer, R., Liu, Z., & Proksch, P. (2020). Co-culture of the bacterium *Pseudomonas aeruginosa* with the fungus *Fusarium tricinctum* induces bacterial antifungal and quorum sensing signaling molecules. *Phytochemistry Letters*, 36, 37—41. doi: 10.1016/j.phytol.2020.01.013.

Ola, A. R., Thomy, D., Lai, D., Brötz-Oesterhelt, H., & Proksch, P. (2013). Inducing secondary metabolite production by the endophytic fungus *Fusarium tricinctum* through coculture with *Bacillus subtilis*. *Journal of natural products*, 76(11), 2094—2099. doi:10.1021/np400589h.

Pan, F. D., Liu, S., Xu, Q. M., Chen, X. Y., & Cheng, J. S. (2021). Bioconversion of kitchen waste to surfactin via simultaneous enzymolysis and fermentation using mixed-culture of enzyme-producing fungi and *Bacillus amyloliquefaciens* HM618. *Biochemical Engineering Journal*, 172, 108036. doi: 10.1016/j.bej.2021.108036.

Peng, X. Y., Wu, J. T., & Shao, C. L. (2021). Co-culture: stimulate the metabolic potential and explore the molecular diversity of natural products from microorganisms. *Mar. Life Sci. Technol.* 3, 363—374. doi: 10.1007/s42995-020-00077-5.

Sharma, R., Jamwal, V., Singh, V. P., Wazir, P., Awasthi, P., Singh, D., ..., & Chaubey, A. (2017). Revelation and cloning of valinomycin synthetase genes in *Streptomyces lavendulae* ACR-DA1 and their expression analysis under different fermentation and elicitation conditions. *Journal of biotechnology*, 253, 40—47. doi: 10.1016/j.jbiotec.2017.05.008.

- Shi, S., Tao, Y., & Liu, W. (2018). Effects of Fungi Fermentation Broth on Natamycin Production of *Streptomyces*. *Progress in Applied Microbiology*, 1(1).
- Song, Z., Ma, Z., Bechthold, A., & Yu, X. (2020). Effects of addition of elicitors on rimocidin biosynthesis in *Streptomyces rimosus* M527. *Applied microbiology and biotechnology*, 104, 4445—4455. doi:10.1007/s00253-020-10565-4.
- Sun, Y., Liu, W. C., Shi, X., Zheng, H. Z., Zheng, Z. H., Lu, X. H., ..., & Dong, Y. S. (2021). Inducing secondary metabolite production of *Aspergillus sydowii* through microbial co-culture with *Bacillus subtilis*. *Microbial Cell Factories*, 20(1), 1—16. doi: 10.1186/s12934-021-01527-0.
- Sun, Y., Shi, X., Xing, Y., Ren, X. X., Zhang, D. Y., Li, X., ..., & Dong, Y. S. (2022). Co-culture of *Aspergillus sydowii* and *Bacillus subtilis* induces the production of antibacterial metabolites. *Fungal Biology*, 126(4), 320-332. doi: 10.1016/j.funbio.2022.01.002.
- Wakefield, J., Hassan, H. M., Jaspars, M., Ebel, R., & Rateb, M. E. (2017). Dual induction of new microbial secondary metabolites by fungal bacterial co-cultivation. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1284. doi: 10.3389/fmicb.2017.01284.
- Wang, D., Wei, L., Zhang, Y., Zhang, M., & Gu, S. (2017). Physicochemical and microbial responses of *Streptomyces natalensis* HW-2 to fungal elicitor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101, 6705—6712. doi: 10.1007/s00253-017-8440-0.
- Wang, D., Yuan, J., Gu, S., & Shi, Q. (2013). Influence of fungal elicitors on biosynthesis of natamycin by *Streptomyces natalensis* HW-2. *Applied microbiology and biotechnology*, 97, 5527—5534. doi: 10.1007/s00253-013-4786-0.
- Wang, M., Yang, C., François, J. M., Wan, X., Deng, Q., Feng, D., ..., & Gong, Y. (2021). A two-step strategy for high-value-added utilization of rapeseed meal by concurrent improvement of phenolic extraction and protein conversion for microbial Iturin A production. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 975. doi: 10.3389/fbioe.2021.735714.
- Wang, Y., Wang, L., Zhuang, Y., Kong, F., Zhang, C., & Zhu, W. (2014). Phenolic polyketides from the co-cultivation of marine-derived *Penicillium* sp. WC-29-5 and *Streptomyces fradiae* 007. *Marine Drugs*, 12(4), 2079—2088. doi: 10.3390/md12042079.
- Wenciewicz, T. A. (2019). Crossroads of Antibiotic Resistance and Biosynthesis. *Journal of Molecular Biology*. doi: 10.1016/j.jmb.2019.06.033.
- Wu, Q., Ni, M., Dou, K., Tang, J., Ren, J., Yu, C., & Chen, J. (2018). Co-culture of *Bacillus amyloliquefaciens* ACCC11060 and *Trichoderma asperellum* GDFS1009 enhanced pathogen-inhibition and amino acid yield. *Microbial Cell Factories*, 17(1), 1—12. doi: 10.1186/s12934-018-1004-x.
- Xu, S., Li, M., Hu, Z., Shao, Y., Ying, J., & Zhang, H. (2023). The Potential Use of Fungal Co-Culture Strategy for Discovery of New Secondary Metabolites. *Microorganisms*, 11(2), 464. doi: 10.3390/microorganisms11020464.
- Xu, Y., Jing, Y., Zhang, Y., Liu, Q., Xiu, J., Zhang, K., ... & Wu, X. L. (2022). Single-Cell-Based High-Throughput Cultivation and Functional Characterization of Biosurfactant-Producing Bacteria from Soil and Oilfield-Produced Water. *Microorganisms*, 10(11), 2216. doi: 10.3390/microorganisms10112216.
- Yu, M., Li, Y., Banakar, S. P., Liu, L., Shao, C., Li, Z., & Wang, C. (2019). New metabolites from the co-culture of marine-derived actinomycete *Streptomyces rochei* MB037 and fungus *Rhinochadiella similis* 35. *Frontiers in Microbiology*, 10, 915. doi: 10.3389/fmicb.2019.00915.
- Yuan, X., Zhang, X., Chen, X., Kong, D., Liu, X., & Shen, S. (2018). Synergistic degradation of crude oil by indigenous bacterial consortium and exogenous fungus *Scedosporium boydii*. *Bioresource technology*, 264, 190-197. doi: 10.1016/j.biortech.2018.05.072.
- Zawawi, M. A., Rosdi, N. I., Mazlan, N. W., Taib, M., Bakar, K., Zin, N. M., ..., & Edrada-Ebel, R. (2022). Elicitation of induced polyketide compounds from a co-culture between *Streptomyces* sp. strain SUK10 and *Fusarium* sp. and their antibacterial activities. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 26(1), 96—108.
- Zhang, L., Niaz, S. I., Khan, D., Wang, Z., Zhu, Y., Zhou, H., ..., & Liu, L. (2017). Induction of diverse bioactive secondary metabolites from the mangrove endophytic fungus *Trichoderma* sp. (strain 307) by co-cultivation with *Acinetobacter johnsonii* (strain B2). *Marine drugs*, 15(2), 35. doi: 10.3390/md15020035.

Zhang, L., Niaz, S. I., Wang, Z., Zhu, Y., Lin, Y., Li, J., & Liu, L. (2018). α -Glucosidase inhibitory and cytotoxic botryorhodines from mangrove endophytic fungus *Trichoderma* sp. 307. *Natural product research*, 32(24), 2887—2892. doi: 10.1080/14786419.2017.1385023.

Zhang, X., Kong, D., Liu, X., Xie, H., Lou, X., & Zeng, C. (2021). Combined microbial degradation of crude oil under alkaline conditions by *Acinetobacter baumannii* and *Talaromyces* sp. *Chemosphere*, 273, 129666. doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.129666.