

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ОСМОЛИТЫ И ЛИПИДЫ КОНИДИЙ КСЕРОГАЛОФИЛЬНОГО МИКРОМИЦЕТА *ASPERGILLUS PENICILLIOIDES*

© 2023 г. О. А. Данилова^а, *, Е. А. Януцевич^а, А. Б. Антропова^б, В. М. Терёшина^а

^а Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ “Фундаментальные основы биотехнологии”
Российской академии наук, Москва, 119071 Россия

^б Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, 105064 Россия

*e-mail: noitcelfer@mail.ru

Поступила в редакцию 13.07.2023 г.

После доработки 17.07.2023 г.

Принята к публикации 18.07.2023 г.

Исследование состава липидов и осмолитов конидий ксерогалофила *Aspergillus penicillioides*, выращенного на средах с высоким содержанием NaCl и глицерина, важно для понимания функций этих соединений в адаптации экстремофила. В конидиях гриба, полученных на среде с глицерином, наблюдалось до 15% от сухой массы углеводов и полиолов цитозоля (УиП) и преобладание глицерина в их составе (60% от суммы), тогда как на среде с NaCl доля глицерина на превышала 20%, а количество УиП составляло 10%. На обеих средах доля (20%) и количество (2.5%) трегалозы было одинаково, т.е. на долю полиолов приходилось около 80%, однако их состав различался, что указывает на возможную синергию между трегалозой и полиолами в адаптации. Для обоих вариантов конидий характерно низкое содержание как мембранных, так и запасных липидов, представленных, в основном триацилглицеринами. В составе мембранных липидов конидий гриба, независимо от состава среды, доминируют фосфатидилхолины и стерины, что свидетельствует о высокой стабилизации и консервативности липидного бислоя. Постоянство состава мембранных и запасных липидов и их низкое количество, высокий уровень УиП и существенные различия в их составе указывают на ключевую роль осмолитов в адаптации конидий гриба к различным условиям среды.

Ключевые слова: мицелиальные грибы, ксерофилия, галофилия, трегалоза, глицерин, мембранные липиды

DOI: 10.31857/S0026365623600402, EDN: BWOGDU

Исследование спор экстремофильных грибов представляет большой интерес в связи с эволюцией и особенностями выживания в экстремальных условиях. Споры — ключевая структура в жизненном цикле гриба, так как она обеспечивает сохранение жизни во времени и пространстве, ее можно рассматривать как надежный сейф для грибного генома (Osherov, May, 2001). Споры грибов способны находиться в разных типах покоя (экзогенном и эндогенном) и могут быть как средством переживания неблагоприятных условий, так и средством распространения (Sussman, Halvorson, 1966). Споры в большей степени, чем мицелий защищены от неблагоприятных воздействий внешней среды благодаря низкому уровню метаболических процессов и высокому содержанию осмолитов. Осмолиты — низкомолекулярные соединения, защищающие макромолекулы и мембраны клетки (Yancey, 2005). У грибов осмолиты представлены, в основном, трегалозой и полиолами. Споры грибов содержат большое количество трегалозы, сравнимое с ее уровнем в мицелии мезофильных грибов в условиях

теплового шока (ТШ) (Терёшина, 2005). Тregarloза является многофункциональным соединением: выполняет транспортную, запасную, протекторную, антиоксидантную функции (Elbein et al., 2003; Iturriaga et al., 2009; Tapia, Koshland, 2014; Argüelles et al., 2017; Kahraman et al., 2019; Kosar et al., 2019). В отличие от других осмолитов, ее протекторное действие распространяется не только на макромолекулы клетки, но и на мембраны. У галофильных и ксерофильных грибов основным осмопротектором является глицерин (Prista et al., 2005; Kogej et al., 2007; Zajc et al., 2014; Stevenson et al., 2017; Danilova et al., 2022).

Ранее нами было показано, что у ксерогалофильного гриба *Aspergillus penicillioides*, выращенного на средах с высоким содержанием NaCl или глицерина, в мицелии накапливалось большое количество глицерина, но доля других полиолов — маннита, арабита и эритрита была значительно выше на среде с солью (Danilova et al., 2022). На примере многих грибов показано также, что в условиях ТШ в мицелии грибов накапливается

большое количество трегалозы (Elbein et al., 2003; Терёшина, 2005; Crowe, 2007). Однако у *A. penicillioide*s под влиянием ТШ наблюдалось лишь небольшое повышение уровня трегалозы до 1% от сухой массы (около 20% от суммы), что отличается от реакции мезофильных грибов на ТШ. Исходя из этого мы предположили, что глицерин также может выполнять протекторную функцию, что может подтвердить исследование осмолитного состава спор.

Ранее нами было высказано предположение о взаимосвязи состава мембранных липидов и осмолитов при адаптации к стрессорным факторам (Ianutsevich et al., 2023). Споры грибов представляют собой структуры переживания, обладающие большой устойчивостью к неблагоприятным факторам (Феофилова и соавт., 2012), тем не менее недавно были получены новые данные о том, что споры, прикрепленные к спорофорам не являются покоящимися, так как в них может происходить процесс транскрипции (Wang et al., 2021). Это обеспечивает присутствие в спорах мРНК, продукты которых будут способствовать лучшей адаптации грибов в процессе прорастания. В спорах грибов, по сравнению с мицелием, мембранный аппарат редуцирован и представлен немногочисленными митохондриями с небольшим количеством крист и липидными везикулами (Barrera, 1986; Kozlova, 2006). Ранее было показано, что в мембранных липидах спор грибов доминируют ФХ и стерины, а в запасных — ТАГ (Терешина и соавт., 2002; Kozlova et al., 2019), однако данных о составе липидов в спорах ксерофильных грибов практически нет. Поэтому исследование химического состава конидий ксерогалофильного гриба *A. penicillioide*s может дать дополнительную информацию о функциях полиолов, трегалозы и мембранных липидов.

Цель настоящей работы заключалась в исследовании состава мембранных и запасных липидов, а также углеводов и полиолов цитозоля в конидиях *A. penicillioide*s, выращенных на средах с высоким содержанием NaCl или глицерина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования. Микробицет *Aspergillus penicillioide*s Speg. ВКМ F-4838 (*Aspergillaceae*, *Eurotiales*, *Eurotiomycetidae*, *Eurotiomycetes*, *Pezizomycotina*, *Ascomycota*) выделен из культуры клещей домашней пыли рода *Dermatophagoides* (Petrova-Nikitina et al., 2005). Гриб поддерживали на скошенном агаре следующего состава (г/л): Мальтакс-10 (Финляндия) — 20; NaCl — 100; агар-агар — 20; вода — до 1 л. Выращивали в течение 7 сут при 30°C, хранили при температуре 4–8°C.

Получение конидий. Для получения конидий *A. penicillioide*s выращивали в поверхностной культуре при оптимальной температуре 30°C в течение

10 сут на двух средах. Состав среды с высоким содержанием соли (г/л): Мальтакс-10 — 30; дрожжевой экстракт — 1; K₂HPO₄ — 1; NaCl — 117 (2 М); агар-агар — 20; вода — до 1 л. Состав среды с высоким содержанием глицерина (г/л): Мальтакс-10 — 30; дрожжевой экстракт — 1; K₂HPO₄ — 1; глицерин — 368 (4 М); NaCl — 35; агар-агар — 20; вода — до 1 л. Конидии смывали 10% раствором NaCl, остатки мицелия удаляли фильтрованием через капроновый фильтр, затем через бумажный фильтр на воронке Бюхнера, остаточную соль удаляли, промывая небольшим количеством дистиллированной воды. Все операции проводили при температуре 4°C. Фильтр с конидиями замораживали и лиофильно высушивали.

Анализ липидов, углеводов и полиолов. Определение количества липидов, углеводов и полиолов проводили как описано ранее (Ianutsevich et al., 2016). Вкратце, липиды экстрагировали по методу Николса с изопропанолом, дезактивирующим фосфолипазы, разделяли двумерной (полярные липиды) или одномерной (нейтральные липиды) тонкослойной хроматографией (ТСХ) и количественно определяли с использованием стандартных соединений методом денситометрии (программное обеспечение DENS). Для изучения состава жирных кислот полярные липиды выделяли методом одномерной ТСХ в системе для нейтральных липидов, элюировали смесью хлороформ–метанол (1 : 1), затем экстракт упаривали и проводили метанолиз 2.5% H₂SO₄ в метаноле в течение 2 ч при 70°C. Полученные метиловые эфиры жирных кислот анализировали методом ГЖХ.

Растворимые в цитозоле углеводы и полиолы экстрагировали кипящей водой, удаляли белки и заряженные соединения, из лиофильно высушенного образца получали триметилсилильные производные и анализировали методом ГЖХ с внутренним стандартом.

Статистический анализ. Для каждого варианта эксперименты проводили трижды ($n = 3$). Для парного сравнения вариантов использовали апостериорный тест Tukey HSD. Статистический анализ проводили с помощью MS Office Excel. На графиках (*) представляет значимое различие ($P \leq 0.05$), каждая точка данных представляет собой среднее значение $\pm$ стандартная ошибка среднего ($n = 3$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Ранее проведенные исследования показали, что *A. penicillioide*s является одновременно и ксеро-, и галофилом. При этом состав осмолитов цитозоля в мицелии гриба при выращивании на средах с высоким содержанием глицерина и NaCl существенно различался, тогда как состав мембранных липидов изменялся незначительно (Danilova et al., 2022). Поэтому в данном исследовании мы также

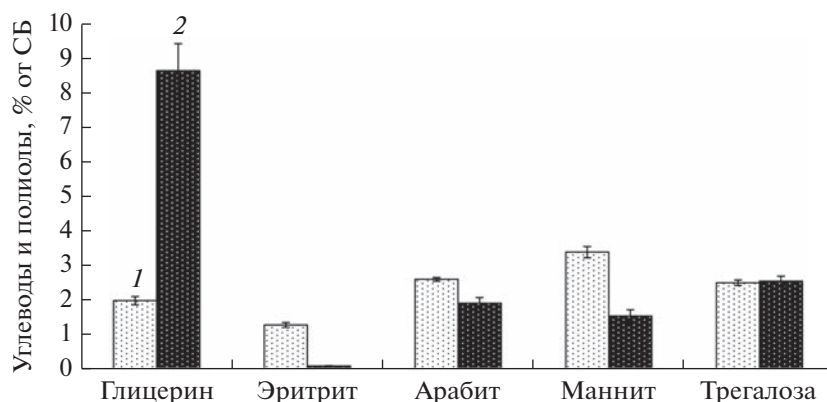


Рис. 1. Состав УиП конидий гриба, выращенных на средах с высоким содержанием NaCl (1) или глицерина (2).

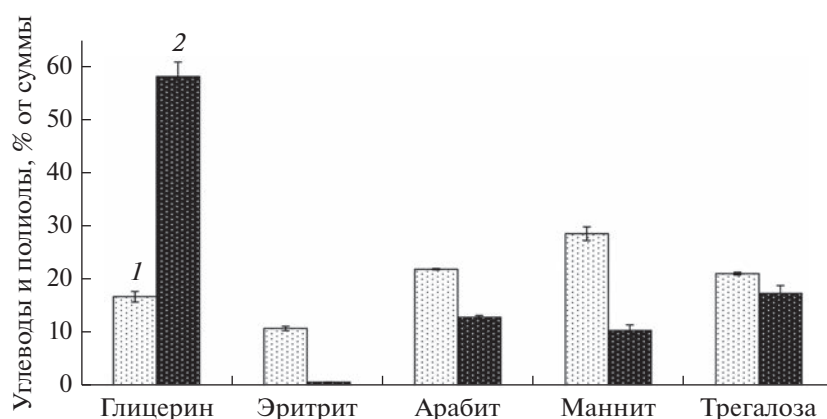


Рис. 2. Относительное содержание УиП конидий гриба, выращенных на средах с высоким содержанием NaCl (1) или глицерина (2).

анализировали состав липидов и осмолитов конидий, выращенных на двух средах с высоким содержанием глицерина и NaCl.

Состав углеводов и полиолов цитозоля в конидиях *A. penicilliioides*. Углеводы и полиолы цитозоля (УиП) конидий, выращенных на среде с 2 М NaCl, составляли около 10% от сухой массы и были представлены трегалозой и рядом полиолов — глицерином, эритритом, арабитом и маннитом (рис. 1). Маннит составлял около 30% от суммы сахаров; арабит, трегалоза и глицерин — 20%, эритрит — 10% (рис. 2). Количество УиП спор гриба, выращенных на среде с 4.0 М глицерином, в полтора раза выше (15% от сухой массы), чем на среде с солью (рис. 1). Профиль УиП также существенно различался, так как доминировал глицерин (60% от суммы), а доли арабита и маннита не превышали 10% (рис. 2). При этом на обеих средах количество и доля трегалозы (около 20% от суммы) практически не изменялись, а глюкоза присутствовала в следовом количестве.

Состав мембранных и запасных липидов в спорах *A. penicilliioides*. Профиль мембранных липидов спор гриба, выращенных на средах с высоким содержанием глицерина и NaCl, слабо различается (рис. 3). Основными компонентами являются фосфатидилхолины (ФХ) и стерины, составляющие по 40% от суммы, в минорном количестве присутствуют фосфатидилэтаноламины (ФЭ), сфинголипиды (СЛ) и два неидентифицированных липида. Количество мембранных липидов в спорах было низкое: на среде с солью не превышало 0.35% от сухой массы, а на среде с глицерином — вдвое ниже (рис. 4).

Состав запасных липидов спор, выращенных на средах с высоким содержанием глицерина и NaCl, практически не различался (рис. 5). На обеих средах доминировали триацилглицерины (ТАГ) — 40–50% от суммы, диацилглицерины (ДАГ) и свободные жирные кислоты (СЖК) — по 20–25%. Обнаружены также эфиры стерина (около 8% от суммы) и неидентифицированный липид Y (около 2%). Нужно отметить низкое содержание липидов в спорах — не более 0.6% от сухой массы на среде с со-

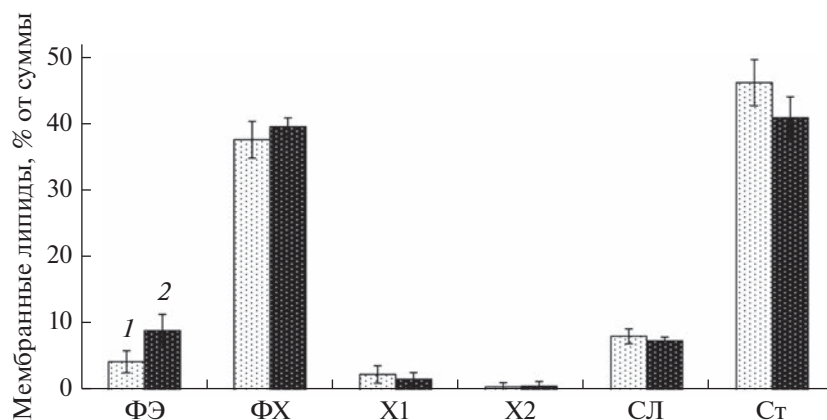


Рис. 3. Профиль мембранных липидов спор гриба, выращенных на средах с высоким содержанием NaCl (1) или глицерина (2). ФЭ – фосфатидилэтаноламины; ФХ – фосфатидилхолины; X1, X2 – неидентифицированные липиды; СЛ – сфинголипиды; Ст – стерины.

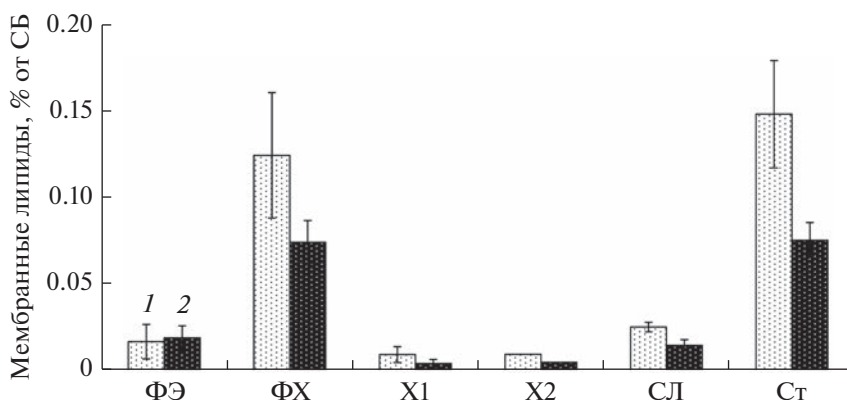


Рис. 4. Количество мембранных липидов спор гриба, выращенных на средах с высоким содержанием NaCl (1) или глицерина (2).

лью и в полтора раза ниже на среде с глицерином (рис. 6).

Основными жирными кислотами фосфолипидов были линолевая $C_{18:2}$ (39–42% от суммы), олеиновая $C_{18:1}$ (33–36%) и пальмитиновая $C_{16:0}$ (14–16%). Состав жирных кислот фосфолипидов спор, выращенных на средах с высоким содержанием глицерина или NaCl, мало различался, как и степень ненасыщенности фосфолипидов (1.1–1.15).

ОБСУЖДЕНИЕ

Сопоставление состава конидий и мицелия ксерогалофильного гриба *A. penicilloides* показывает кардинальные различия как в составе мембранных липидов, так и в составе УиП. В мицелии гриба на обеих средах основными мембранными липидами были фосфатидные кислоты ФК и свободные стерины (Ст) (Danilova et al., 2022), тогда как в спорах гриба – ФХ и Ст. Нужно отметить, что в

мицелии гриба ФК составляют 40–50% от суммы, а ФХ являются минорным компонентом (5%), тогда как в конидиях доля ФХ составляет около 40%, а ФК отсутствует. В процессе роста мицелия гриба относительное содержание стерина на жидкой среде возрастало на обеих средах и достигало 23% от суммы на среде с глицерином и 35% на среде с солью. В конидиях, выращенных на обеих средах, доля Ст составляла около 40%. Кроме того, в спорах отсутствовали такие фосфолипиды, как кардиолипины, фосфатидилсерин, фосфатидилинозиты, лизо-ФХ, лизо-ФЭ, обнаруженные в мицелии. Количество мембранных липидов в конидиях не превышало 0.2–0.3% от сухой массы, тогда как в мицелии – на порядок больше.

Количество УиП в обоих образцах конидий достигало 10–15% от сухой массы. Учитывая малое количество запасных липидов (0.5–0.6% от сухой массы), очевидно, что именно углеводы служат энергетическим запасом клетки, используемым при прорастании спор. В мицелии гриба, выра-

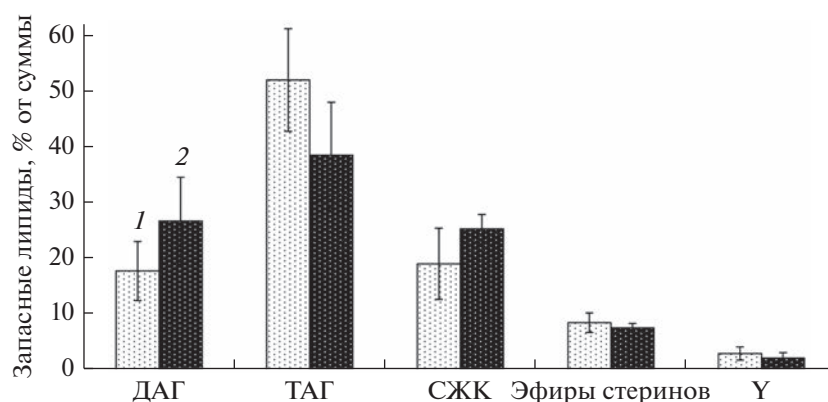


Рис. 5. Профиль запасных липидов спор гриба, выращенных на средах с высоким содержанием NaCl (1) или глицерина (2). ДАГ — диацилглицериды; ТАГ — триацилглицериды; СЖК — свободные жирные кислоты; Y — неидентифицированный липид.

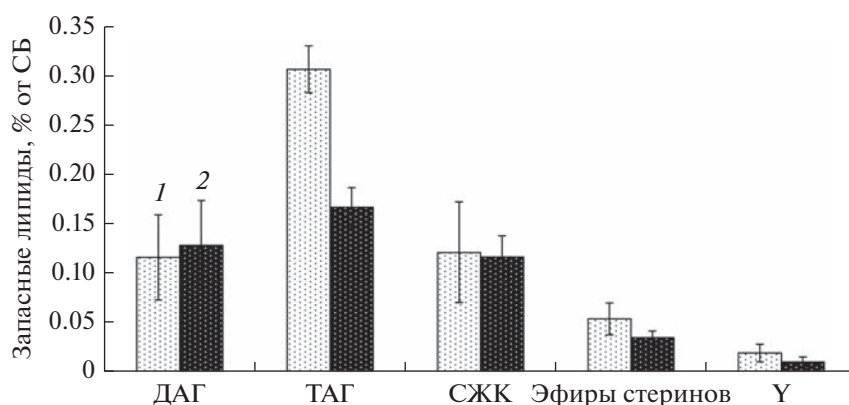


Рис. 6. Количество запасных липидов спор гриба, выращенных на средах с высоким содержанием NaCl (1) или глицерина (2).

щенного на обеих средах, наблюдалось доминирование глицерина, относительное содержание которого достигало 90% от суммы УиП в случае глицериновой среды и 70% — на среде с солью (Danilova et al., 2022). В спорах культур, выращенных на глицериновой среде, сохранялось доминирование глицерина (60%), тогда как на среде с солью не выявлено доминирования глицерина, так как глицерин, эритрит, арабит, маннит и трегалоза присутствовали в сравнимых долях (10–30%). На обеих средах в конидиях содержалось 2.5% трегалозы от сухой массы, что составляло около 20% от суммы, т.е. доля полиолов была одинакова и составляла 80%, но их состав различался в зависимости от среды выращивания.

Трегалоза является протектором макромолекул и мембран клетки (Elbein et al., 2003; Crowe, 2007; Iturriaga et al., 2009; Patel, Williamson, 2016; Rubio-Texeira et al., 2016; Glatz et al., 2016) и, как правило, накапливается в больших количествах в структурах переживания. Так в аскоспорах алкалофильного гриба *Sodiomyces alkalinus* количество

трегалозы достигало 8% от сухой массы (70% от суммы), в которых, кроме того, присутствовало около 15% запасных липидов (Kozlova et al., 2019). Трегалоза доминировала во всех видах покоящихся клеток *Blakeslea trispora* (Терешина et al., 2002).

У исследуемого гриба в конидиях преобладают полиолы, трегалоза составляет только 20% от суммы УиП и 2.5% от сухой массы. Ранее нами было показано, что в мицелии гриба в условиях ТШ также образовывалось небольшое количество трегалозы — не более 1% от сухой массы (Ianutsevich et al., 2023). Мы предположили, что это связано с тем, что глицерин может способствовать повышению термоустойчивости, так как является, как и трегалоза, универсальным антистрессорным протектором (Stevenson et al., 2017). Подобное предположение было сделано также на основании примера дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, у которых мутанты по биосинтезу глицерина (*hog1*, *gpd1gpd2* и *gpp1gpp2*) были термочувствительны (Siderius et al., 2000), однако механизм этого

взаимовоздействия неясен. Можно предположить, что выявленные различия в составе УиП в конидиях исследуемого гриба, связаны с адаптацией к окружающей среде и готовностью к прорастанию на разных средах — с высоким содержанием соли или глицерина.

Ранее нами было показано, что доля маннита, эритрита и арабита в мицелии гриба на среде с солью достигала 30% от суммы УиП, а на среде с глицерином около 1% (Danilova et al., 2022). В конидиях доминирование глицерина наблюдалось только на среде с высоким содержанием глицерина, тогда как на среде с солью все полиолы были представлены в сравнимых долях. Недавно было показано, что споры грибов, прикрепленные к спорофорам, не являются покоящимися, т.к. в них происходит процесс транскрипции, следствием которого является специфический набор мРНК в спорах, позволяющий адаптироваться к той среде, в которой происходило их созревание, чтобы ускорить будущий процесс прорастания (Wang et al., 2021). В исследованиях этих авторов впервые показано, что конидии, сформировавшиеся в различных условиях, содержат специфический набор мРНК, что обуславливает их фенотипическое разнообразие и увеличивает выживаемость в различных условиях окружающей среды. Различия в составе УиП конидий *A. penicilloides* демонстрируют, что конидии могут не только иметь разный состав мРНК, но и содержат те осмолиты, которые будут способствовать прорастанию в тех условиях, в которых происходило созревание конидий.

Соотношение мембранных и запасных липидов, в отличие от состава УиП, в конидиях гриба, выращенных на разных средах, практически не различалось. Однако обнаружены различия в количестве стерина и ТАГ: на среде с солью их было значительно больше, что согласуется с повышенным содержанием этих компонентов в мицелии. Ранее установлено, что в мицелии гриба основными мембранными липидами являются небислойные ФК и стерин, тогда как основной бислойный липид ФХ является минорным компонентом (Danilova et al., 2022). Количество мембранных липидов в спорах было значительно меньше, чем в мицелии, и доминируют в них другие липиды — ФХ и Ст, составляющие около 80% от суммы. Известно, что ФХ является основным бислойным липидом у грибов, способным самостоятельно образовывать липидный бислой (Hazel, 1995), а стерин, будучи ригидными гидрофобными соединениями, способствуют стабилизации липидного бислоя, встраиваясь между ацильными цепями фосфолипидов (Mendoza de, Pilon, 2019). Фосфатидилхолины являются субстратом для фосфолипаз, что обеспечивает быстрое образование ФК, из которых образуются остальные фосфолипиды клетки (Белов и соавт., 1990). Кроме того, в спорах обнаружены сфинголипиды (около 8% от суммы), которые так-

же обладают стабилизирующим мембраны действием (Yu et al., 1986). По составу ацильных цепей фосфолипиды конидий не отличаются от фосфолипидов мицелия (Danilova et al., 2022), что характерно для спор, находящихся в состоянии экзогенного покоя (Терешина и соавт., 2002). В совокупности это показывает высокую стабильность мембран конидий исследуемого гриба. Нужно подчеркнуть, что не обнаружено различий по соотношению мембранных липидов в конидиях, выращенных на разных средах. Это указывает на консервативность состава мембран в конидиях. Напротив, в составе УиП конидий, выращенных на средах с высоким содержанием соли или глицерина, обнаружены значительные различия, что указывает на их ключевую роль в адаптации к окружающей среде.

Таким образом, исследование конидий ксерофила *A. penicilloides* показало стабильность состава мембранных и запасных липидов независимо от среды выращивания, в то время как состав УиП существенно различался, что указывает на ключевую роль осмолитов в адаптации гриба. Доминирование в составе мембранных липидов бислойного фосфолипида фосфатидилхолина и стерина, а также присутствие сфинголипидов свидетельствует о высокой стабилизации липидного бислоя в конидиях гриба. В конидиях культур, выращенных на среде с глицерином, наблюдается его доминирование в составе УиП, тогда как на среде с солью глицерин, эритрит, арабит, маннит и трегалоза присутствуют в сравнимых долях. Общей закономерностью является одинаково низкое количество (2.5%) и доля (20%) трегалозы независимо от среды культивирования, что, возможно, связано с небольшим количеством мембранных липидов в конидиях.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований, в которых в качестве объектов использовались животные или люди.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Белов А.П., Зинченко Г.А., Ефременко А.А. Изучение путей обмена жирными кислотами между фосфолипидами и триацилглицеринами у термотолерантных дрожжей *Candida rugosa* // Микробиология. 1990. V. 59. P. 976–981.

- Терешина В.М., Меморская А.С., Кочкина Г.А., Феофилова Е.П. Покоящиеся клетки в цикле развития *Blakeslea trispora*: отличия в липидном и углеводном составе // Микробиология. 2002. Т. 71. С. 794–800.
- Tereshina V.M., Memorskaia A.S., Kochkina G.A., Feofilova E.P. Dormant cells in the developmental cycle of *Blakeslea trispora*: distinct patterns of the lipid and carbohydrate composition // Microbiology. 2002. V. 71. P. 684–689. <https://doi.org/10.1023/A:1021432007070>
- Терешина В.М. Термоустойчивость у грибов: роль белков теплового шока и трегалозы // Микробиология. 2005. Т. 74. С. 293–304.
- Tereshina V.M. Thermotolerance in fungi: the role of heat shock proteins and trehalose // Microbiology (Moscow). 2005. V. 74. P. 247–257. <https://doi.org/10.1007/s11021-005-0059-y>
- Феофилова Е.П., Иващенко А.А., Алехин А.И., Сергеева Я.Э. Споры грибов: покой, прорастание, химический состав (обзор) // Прикл. биохимия и микробиология. 2012. V. 48. P. 5–17.
- Feofilova E.P., Ivashechkin A.A., Alekhin A.I., Sergeeva Y.E. Fungal spores: dormancy, germination, chemical composition, and role in biotechnology (review) // Appl. Biochem. Microbiol. 2012. V. 48. P. 1–11. <https://doi.org/10.1134/S0003683812010048>
- Argüelles J.-C., Guirao-Abad J.P., Sánchez-Fresneda R. Trehalose: A crucial molecule in the physiology of fungi // Reference module in life sciences. Elsevier, 2017. P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.12084-9>
- Barrera C.R. Formation and germination of fungal arthroconidia // Crit. Rev. Microbiol. 1986. V. 12. P. 271–292. <https://doi.org/10.3109/10408418509104431>
- Crowe J.H. Trehalose as a “chemical chaperone”: fact and fantasy // Adv. Exp. Med. Biol. 2007. V. 594. P. 143–158. https://doi.org/10.1007/978-0-387-39975-1_13
- Danilova O.A., Ianutsevich E.A., Bondarenko S.A., Antropova A.B., Tereshina V.M. Membrane lipids and osmolytes composition of xerohalophilic fungus *Aspergillus penicillioides* during growth on high NaCl and glycerol Media // Microbiology (Moscow). 2022. V. 91. P. 503–513. <https://doi.org/10.1134/S0026261722601373>
- Elbein A.D., Pan Y.T., Pastuszak I., Carroll D. New insights on trehalose: a multifunctional molecule // Glycobiology. 2003. V. 13. P. 17R–27R. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwg047>
- Glatz A., Pilbat A., Németh G.L., Vince-Kontár K., Jósavay K., Hunya Á., Udvardy A., Gombos I., Péter M., Balogh G., Horváth I., Vigh L., Török Z. Involvement of small heat shock proteins, trehalose, and lipids in the thermal stress management in *Schizosaccharomyces pombe* // Cell Stress Chaperones. 2016. V. 21. P. 327–338. <https://doi.org/10.1007/s12192-015-0662-4>
- Hazel J.R. Thermal adaptation in biological membranes: is homeoviscous adaptation the explanation? // Annu. Rev. Physiol. 1995. V. 57. P. 19–42. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.57.030195.000315>
- Ianutsevich E.A., Danilova O.A., Groza N.V., Kotlova E.R., Tereshina V.M. Heat shock response of thermophilic fungi: membrane lipids and soluble carbohydrates under elevated temperatures // Microbiology (SGM). 2016. V. 162. P. 989–999. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000279>
- Ianutsevich E.A., Danilova O.A., Antropova A.B., Tereshina V.M. Acquired thermotolerance, membrane lipids and osmolytes profiles of xerohalophilic fungus *Aspergillus penicillioides* under heat shock // Fungal Biol. 2023. V. 127. P. 909–917. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2023.01.002>
- Iturriaga G., Suárez R., Nova-Franco B. Trehalose metabolism: from osmoprotection to signaling // Int. J. Mol. Sci. 2009. V. 10. P. 3793–3810. <https://doi.org/10.3390/ijms10093793>
- Kahraman M., Sevim G., Bor M. The role of proline, glycinebetaine, and trehalose in stress-responsive gene expression // Osmoprotectant-mediated abiotic stress tolerance in plants / Ed. Hossain M. et al. Cham: Springer Int. Publishing, 2019. P. 241–256. https://doi.org/10.1007/978-3-030-27423-8_11
- Kogej T., Stein M., Volkmann M., Gorbushina A.A., Galinski E.A., Gunde-Cimerman N. Osmotic adaptation of the halophilic fungus *Hortaea werneckii*: role of osmolytes and melanization // Microbiology (SGM). 2007. V. 153. P. 4261–4273. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/010751-0>
- Kosar F., Akram N.A., Sadiq M., Al-Qurainy F., Ashraf M. Trehalose: a key organic osmolyte effectively involved in plant abiotic stress tolerance // J. Plant Growth Regul. 2019. V. 38. P. 606–618. <https://doi.org/10.1007/s00344-018-9876-x>
- Kozlova M.V. Life cycle in a haloalkalitolerant ascomycete *Heleococcum alkalinum* Bilanenko et Ivanova // Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М.: МГУ, 2006. <https://doi.org/10.13140/2.1.2702.8800>
- Kozlova M.V., Ianutsevich E.A., Danilova O.A., Kamzolnikina O.V., Tereshina V.M. Lipids and soluble carbohydrates in the mycelium and ascumata of alkaliphilic fungus *Sodiomyces alkalinus* // Extremophiles. 2019. V. 23. P. 487–494. <https://doi.org/10.1007/s00792-019-01100-z>
- Mendoza D. de, Pilon M. Control of membrane lipid homeostasis by lipid-bilayer associated sensors: a mechanism conserved from bacteria to humans // Prog. Lipid Res. 2019. V. 76. P. 100996. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2019.100996>
- Oshero N., May G.S. The molecular mechanisms of conidial germination // FEMS Microbiol. Lett. 2001. V. 199. P. 153–60. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2001.tb10667.x>
- Patel T.K., Williamson J.D. Mannitol in plants, fungi, and plant–fungal interactions // Trends Plant Sci. 2016. V. 21. P. 486–497. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.006>
- Petrova-Nikitina A.D., Antropova A.B., Mokeeva V.L., Chekunova L.N., Bilanenko E.N., Bulgakova T.A., Zheltikova T.M. To the study of biocenotic relationships between house dust mites (Acariformes: *Pyroglyphidae*) and mould fungi // Acarina. 2005. V. 13. P. 75–84.
- Prista C., Loureiro-Dias M.C., Montiel V., García R., Ramos J. Mechanisms underlying the halotolerant way of *Debaryomyces hansenii* // FEMS Yeast Res. 2005. V. 5. P. 693–701. <https://doi.org/10.1016/j.femsyr.2004.12.009>
- Rubio-Teixeira M., Zeebroeck G. Van, Thevelein J.M. Trehalose metabolism: enzymatic pathways and physiological functions // The Mycota: A Treatise on the Biology of Fungi with Emphasis on Systems for Fundamental and Applied Research / Ed. Hoffmeister D. Cham: Springer Interna-

- tional Publishing, 2016. P. 191–277.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-27790-5_10
- Siderius M., Wuytswinkel O. Van, Reijenga K.A., Kelders M., Mager W.H.* The control of intracellular glycerol in *Saccharomyces cerevisiae* influences osmotic stress response and resistance to increased temperature // *Mol. Microbiol.* 2000. V. 36. P. 1381–1390.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.01955.x>
- Stevenson A., Hamill P.G., Medina Á., Kminek G., Rummel J.D., Dijksterhuis J., Timson D.J., Magan N., Leong S.L.L., Halls-worth J.E.* Glycerol enhances fungal germination at the water-activity limit for life // *Environ. Microbiol.* 2017. V. 19. P. 947–967.
<https://doi.org/10.1111/1462-2920.13530>
- Sussman A.S., Halvorson H.O.* Spores their dormancy and germination. New York: Harper & Row, 1966. 354 p.
- Tapia H., Koshland D.E.* Trehalose is a versatile and long-lived chaperone for desiccation tolerance // *Curr. Biol.* 2014. V. 24. P. 2758–2766.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.005>
- Wang F., Sethiya P., Hu X., Guo S., Chen Y., Li A., Tan K., Wong K.H.* Transcription in fungal conidia before dormancy produces phenotypically variable conidia that maximize survival in different environments // *Nat. Microbiol.* 2021. V. 6. P. 1066–1081.
<https://doi.org/10.1038/s41564-021-00922-y>
- Yancey P.H.* Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses // *J. Exp. Biol.* 2005. V. 208. P. 2819–2830.
<https://doi.org/10.1242/jeb.01730>
- Yu R.K., Koerne, T.A.W., Scarsdale J.N., Prestegard J.H.* Elucidation of glycolipid structure by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy // *Chem. Phys. Lipids.* 1986. V. 42. P. 27–48.
[https://doi.org/10.1016/0009-3084\(86\)90041-1](https://doi.org/10.1016/0009-3084(86)90041-1)
- Zajc J., Kogej T., Galinski E.A., Ramos J., Gunde-Cimerman N.* Osmoadaptation strategy of the most halophilic fungus, *Wallemia ichthyophaga*, growing optimally at salinities above 15% NaCl // *Appl. Environ. Microbiol.* 2014. V. 80. P. 247–256.
<https://doi.org/10.1128/AEM.02702-13>

Osmolytes and Lipids of the Conidia of the Xerohalophilic Micromycete *Aspergillus penicillioides*

O. A. Danilova¹*, E. A. Ianutsevich¹, A. B. Antropova², and V. M. Tereshina¹

¹ Winogradsky Institute of Microbiology, Research Center of Biotechnology, Russian Academy of Sciences, Moscow 119071 Russia

² Federal State Scientific Institution “Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera”, Moscow 105064 Russia

*e-mail: noitcelfer@mail.ru

Received July 13, 2023; revised July 17, 2023; accepted July 18, 2023

Abstract—Investigation of the lipid and osmolyte composition in conidia of the xerohalophile *Aspergillus penicillioides* grown on media with high concentrations of NaCl and glycerol is important for the understanding of the functions of these compounds in the adaptation of the extremophile. Conidia of the fungus grown on a medium with glycerol contained up to 15% of the dry mass of carbohydrates and polyols (CaP) of the cytosol, with predominance of glycerol (60% of the total) in their composition, while on a medium with salt, the proportion of glycerol did not exceed 20%, and the amount of CaP was 10%. On both media, the proportion (20%) and amount (2.5%) of trehalose were the same; the proportion of polyols was thus about 80%, although their composition was different, indicating a possible synergy between trehalose and polyols in adaptation. Both variants of conidia were characterized by a low content of both membrane and storage lipids, represented mainly by triacylglycerides. Phosphatidylcholines and sterols were the predominant membrane lipids of the fungal conidia, regardless of the composition of the medium, which indicated high stability and conservatism of the lipid bilayer. The constancy of the composition of membrane and storage lipids and their low content, the high level of CaP, and significant differences in their composition indicate the key role of osmolytes in the adaptation of fungal conidia to various environmental conditions.

Keywords: filamentous fungi, xerophilia, halophilia, trehalose, glycerol