

## Estratégia OSMAC: Um Método Acessível para a Descoberta de Novas Substâncias Microbianas

### OSMAC Strategy: An Affordable Method for the Discovery of New Microbial Compounds

Raissa Rezende Ferreira,<sup>a</sup> Jacqueline Santos Cruz,<sup>b</sup> Lidilhone Hamerski<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Pesquisas de Produtos Naturais Walter Mors, Rua Carlos Chagas Filho 373, CEP 21941-902, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

<sup>b</sup> Instituto Militar de Engenharia, Seção de Engenharia Química, Praça General Tibúrcio 80, Praia Vermelha, Urca, CEP 22290-270, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

\*Email: [hamerski@ippn.ufrj.br](mailto:hamerski@ippn.ufrj.br)

Recebido em: 5 de Outubro de 2021

Aceito em: 13 de Dezembro de 2021

Publicado online: 1 de Abril de 2022

Natural products from microbial origin have always been an abundant source of structurally diversified secondary metabolites, which have been used in the pharmaceutical, agrochemical, and food industries. Furthermore, the biotechnological potential of microorganisms is huge however, the quickness to discover new bioactive secondary metabolites has been slowing down due to the use of the same conventional cultivation and isolation procedures. Genomic studies have been shown of the secondary metabolites production on microorganisms is underestimated, there are many essential gene clusters for the biosynthesis of different classes of compounds, but they are silenced under cultivation conditions. Thus, new approaches were developed to improve the production of new bioactive metabolites by activating the silenced genes. The OSMAC (One Strain Many Compounds) strategy has been a simple and effective approach to activate new metabolic pathways, and consequently the synthesis of new secondary metabolites. Thus, the paper briefly presents the main concepts of the OSMAC strategy to induce the production of secondary metabolites that are not expressed in conventional laboratory culture conditions, and thus favour the discovery of new microbial natural products.

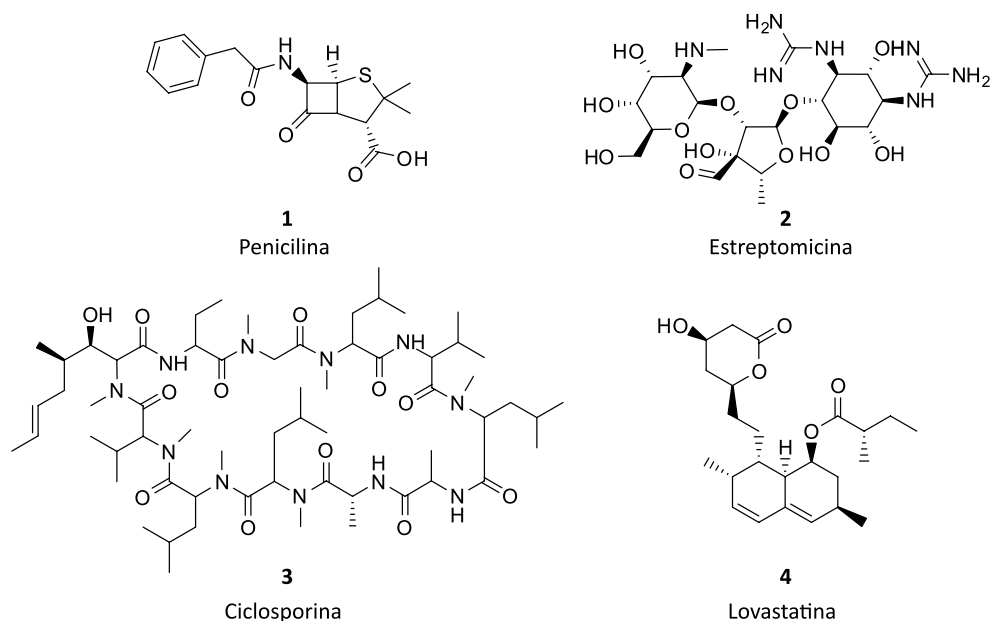
**Keywords:** OSMAC; microorganisms; BGC silent

### 1. Introdução

Os produtos naturais, particularmente aqueles de origem microbiana, sempre foram uma fonte abundante de metabólitos estruturalmente diversificados e com amplas aplicações nas indústrias farmacêutica, agroquímica e alimentícia. Os registros históricos mostram que o uso dos micro-organismos pelos povos da região da Suméria, Geórgia e Egito datam de aproximadamente 6000 a.C.. A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, por exemplo, era usada para a fermentação de cerveja, vinho e pão.<sup>1-3</sup> Séculos mais tarde o vinho estragado por bactérias do gênero *Acetobacter* levou a descoberta do vinagre pelos babilônios. Hipócrates (420 a.C.) considerado o pai da medicina moderna, recomendava preparados de vinagre para limpeza de ulcerações e no tratamento de feridas.<sup>4</sup> Durante a Dinastia Ming (1368-1644) o fungo Shitake (*Lentinula edodes*) foi utilizado como tônico para aliviar dores e fadigas, associadas ao envelhecimento, e na prevenção de doenças cardíacas e pulmonares.<sup>5</sup>

A relevância dos micro-organismos era conhecida desde as civilizações antigas, entretanto, foi a descoberta da penicilina (Figura 1) em 1929 por Alexander Fleming que revolucionou o desenvolvimento de medicamentos.<sup>6</sup> A produção da penicilina pelo fungo *Penicillium notatum* foi um grande marco na medicina moderna sendo o primeiro fármaco bem-sucedido no tratamento de infecções bacterianas.<sup>7</sup> Desde então, compostos derivados de micro-organismos (Figura 1) têm sido isolados e usados na medicina, agricultura, indústria alimentícia e pesquisa científica.<sup>8</sup>

Os produtos naturais de origem microbiana também ganharam espaço e importância na indústria de cosméticos.<sup>9</sup> Nas últimas décadas houve um aumento considerável na demanda de cosméticos pelo mercado internacional, principalmente para produtos de beleza produzidos a partir de fontes biológicas. A receita do mercado internacional de cosméticos em 2019 foi avaliada em US\$ 380,2 bilhões e estima-se que a taxa de crescimento anual pode chegar a 5,3% no período de 2021 a 2027.<sup>10</sup> Micro-organismos ricos em ácidos graxos, peptídeos, vitaminas, lipopolissacarídeos, pigmentos, além de aminoácidos e enzimas com propriedades anti-inflamatórias, antioxidante e anti-idade são alvos de investigação na indústria cosmética (Tabela 1).<sup>11,12</sup> Até neurotoxinas como a toxina botulínica (Botox<sup>®</sup>) produzida pela bactéria *Clostridium botulinum* usada inicialmente para tratamento de doenças como estrabismo e distonia cervical, tem sido muito utilizada em tratamentos de rugas de expressão.<sup>13,14</sup>



**Figura 1.** Metabólitos isolados de micro-organismos utilizados como medicamentos: antibióticos (1, 2), imunossupressor (3) e anticolesterolêmico (4)

Metabólitos secundários microbianos continuam a desempenhar um papel significativo no processo de descoberta e desenvolvimento de produtos biologicamente

ativos. Esse arsenal químico é resultado da constante evolução e sobrevivência em diferentes habitats e hospedeiros, e é formado através de vias multienzimáticas

**Tabela 1.** Substâncias produzidas por micro-organismos usadas na indústria de cosméticos

Classificação	Substância	Espécie	Aplicação Cosmética	Referência
Oligossacarídeo	Ciclodextrina	<i>Bacillus subtilis</i>	Reduz a volatilidade dos ésteres, preservando os aromas	15
	Ácido Hialurônico	<i>Streptococcus thermophilus</i>	Anti-idade e regeneração da pele	16,17
Biossurfactantes	Rhamnolipídeo	<i>Pseudomonas sp.</i>	Emulsificante	18
	Surfactina	<i>Bacillus subtilis</i>	Antirrugas	19
	Manosileritritol	<i>Pseudozyma sp.</i> <i>Candida antarctica</i>	Hidratante	20,21
	Soforolipídeos	<i>Candida sp.</i>	Emulsificante e detergente	22
Pigmento	Astaxantina	<i>Paracoccus sp.</i> <i>Aurantiochytrium sp.</i>	Antioxidante e regeneração da pele	23,24
	Zeaxantina	<i>Corynebacterium autotrophicum</i>	Protetor UV, antioxidante, hidratante	25
Exopolissacarídeos	Dextrana	<i>Leuconostoc mesenterioide</i>	Promove brilho e maciez da pele	26
	Alginato	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Azotobacter vinelandii</i>	Espessante e agente de gelificação	27
	Xantana	<i>Xanthomonas spp.</i>	Espessante e emulsificante.	28,29
	Superóxido dismutase	<i>Marinomonas sp.</i> <i>Thermus thermophilus</i>	Antioxidante, protetor-UV e cicatrizante	30
Enzimas e Proteínas	Queratinase	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Streptomyces sp.</i> <i>Aspergillus candidus</i>	Antirrugas, esfoliante, remoção de cabelo	31,32
	Colagenase	<i>Clostridium histolyticum</i> <i>Vibrio alginolyticus</i>	Regeneração da pele	33
Outros	Ácido Lático	<i>Rhizopus sp.</i> <i>Lactobacillus</i>	Hidratante, promove maciez e suavidade da pele.	34,35

reguladas por um conjunto de genes denominados genes biossintéticos.<sup>36,37</sup> Estes genes são responsáveis por modular os substratos base, pelo transporte de produtos/substratos, por responder aos estímulos regulatórios e de resistência etc.<sup>37</sup> Indubitavelmente, o potencial biotecnológico dos micro-organismos é imenso, contudo, a velocidade de descoberta de novos metabólitos secundários bioativos diminuiu devido ao uso dos mesmos procedimentos convencionais de cultivo e isolamento.

O potencial biotecnológico dos micro-organismos respalda-se nos estudos de genômica e demonstra que a capacidade total de produção de metabólitos secundários destes seres vivos está subestimada. Isto significa que as espécies consideradas cultiváveis apresentam muitos clusters essenciais para biossíntese de diversas classes de substâncias, mas estão silenciados nas condições de cultivo até hoje conhecidas e testadas. Recentemente, novas abordagens foram desenvolvidas com o objetivo de melhorar a produção de novos metabólitos bioativos. Entre elas a estratégia OSMAC (*One Strain Many Compounds* – “uma cepa muitos compostos”, tradução livre do inglês) tem sido uma abordagem simples e eficaz para ativar novas vias metabólicas e conseqüentemente a síntese de novos metabólitos secundários. Assim, neste artigo é apresentado de forma resumida os principais conceitos vinculados à estratégia OSMAC para induzir a produção de metabólitos que não são expressos em condições convencionais de cultura de laboratório, e assim favorecer a descoberta de novos produtos naturais microbianos.

## 2. Micro-Organismos: “Uma Caixa de Surpresas”

---

A influência dos micro-organismos no bem-estar da vida humana vem de alguns milênios, esse fato é inquestionável, e ainda o será por vários outros.<sup>1</sup> Entretanto, há muito que ainda não sabemos sobre estes seres vivos, a começar pelo número de espécies que habitam o planeta Terra. Estima-se que há entre 10<sup>5</sup> ou 10<sup>6</sup> espécies de micro-organismo, mas apenas alguns milhares foram isolados e identificados. Aqui, entra outra estimativa, mais de 99% dos micro-organismos do ambiente furtam-se ao cultivo em laboratório, ou seja, são micro-organismos classificados como não cultiváveis.<sup>38</sup> Desenvolver métodos ou tecnologias que permitirão o cultivo destes micro-organismos é um dos desafios que precisa ser superado.

O parâmetro de cultivo não influencia apenas o crescimento ou não dos micro-organismos, mas também influencia a síntese dos metabólitos secundários. Este fato torna-se mais claro e evidente com a combinação de resultados de todos os produtos gênicos: genoma, transcriptoma, proteoma e metaboloma, de diversos estudos com micro-organismos cultiváveis.<sup>39-41</sup>

Actinobactérias e fungos filamentosos foram os primeiros micro-organismos a terem a sequências completas

do genoma e constatou-se que eles têm um potencial para produzir metabólitos secundários com estruturas complexas, muito maior do que o observado por estudos tradicionais de triagem apoiada em atividade biológica.<sup>42,43</sup> Outros estudos corroboraram com esta conclusão e a identificação de clusters de genes biossintéticos (BGC, sigla em inglês) de metabólitos secundários, estruturalmente distintos, foram detectados.<sup>44-46</sup> Os principais agrupamentos de genes que codificam enzimas tipicamente envolvidas na biossíntese de metabólitos secundários são: policetídeos sintases (PKSs), peptídeos sintetases não ribossômicos (NRPSs), terpeno ciclases (TCs), dimetilalil triptofano sintases (DMATSs), terpeno-sintases e sideróforo sintetases independentes de NRPS.<sup>37,47</sup>

O genoma de fungos e bactéria demonstra a formidável capacidade destes seres vivos em produzir uma gama de substâncias químicas que poderão desempenhar um papel crucial na vida do ser humano, um medicamento para tratar uma doença sem opções terapêuticas ou um novo antibiótico, por exemplo.<sup>48</sup> Entretanto, sabe-se também que esse arcabouço enzimático, na maioria das vezes, permanece inativo, isso porque o metaboloma é uma resposta da expressão gênica e o fenótipo geral do organismo, ou seja, os metabólitos secundários não dependem exclusivamente do genoma, depende também, e principalmente, do meio ambiente ou mutação.<sup>49</sup> Deste modo, encontrar ferramentas mais eficientes para identificar os BGCs e métodos mais eficazes para ativá-los, sob condições padrão de crescimento em laboratório, tem incentivado diferentes pesquisadores das mais diversas áreas científicas. É importante lembrar que há outro aspecto que requer atenção: qual é a função biológica dos metabólitos secundários? A compreensão da função biológica poderá contribuir para uma melhor assimilação das condições de cultivo que facilitarão a ativação de um BGC específico ou de interesse. Na natureza, as funções dos produtos do metabolismo secundário de micro-organismos são ecológicas e principalmente usadas para defesa, aquisição de nutrientes, dicas de assentamento, simbiose, “comunicação” intra e inter-espécies, entre outras.<sup>50,51</sup>

Portanto, o principal obstáculo, para atingir o potencial das abordagens baseadas na genômica para a descoberta de novos produtos naturais microbianos, é ativar a expressão de BGCs silenciosos nas condições de cultivo em laboratório. Várias abordagens são utilizadas para este fim, como abordagens pleiotrópicas e específicas de vias para ativação de BGC. Neste contexto, a estratégia OSMAC insere-se como uma abordagem pleiotrópica.<sup>52</sup>

## 3. Estratégia OSMAC – Uma Cepa, Muitos Compostos

---

A abordagem OSMAC, descrita pela primeira vez por Zeeck e colaboradores, representa uma das estratégias mais importantes para a diversificação do perfil metabólico dos

micro-organismos.<sup>53</sup> Esta abordagem visa à obtenção de uma variedade de substâncias a partir de uma única cepa de micro-organismo. Para tanto, alterações nos parâmetros de cultivo, como: meio de cultura, condição de cultivo (mudanças na temperatura, no pH e na concentração de oxigênio), estado de cultivo (meio líquido, sólido, estático ou dinâmico), co-cultivo com outras espécies, adição de modificadores epigenéticos, adição de precursores biossintéticos ou inibidores enzimáticos são utilizados para induzir a produção de novos metabólitos secundários.<sup>53,54</sup>

### 3.1. Variação do meio de cultivo

As condições de cultivo exercem efeito no crescimento e no metabolismo de qualquer micro-organismo. Assim, fontes de carbono e nitrogênio, salinidade, íons metálicos, fontes de enxofre, fósforo e halogênios podem regular o grau e o padrão da expressão dos genes de metabólitos secundários microbianos.<sup>54</sup>

A fonte de carbono exerce uma influência significativa na regulação do metabolismo primário e secundário microbiano.<sup>55,56</sup> Proporciona a base para a construção de biomassa, fornece unidades de carbono para os metabólitos secundários e é uma fonte de energia para todos os heterótrofos.<sup>8</sup> Um excelente exemplo é a quitina, biopolímero renovável mais abundante nos oceanos e constitui uma importante fonte de carbono em ambientes marinhos. Gram e colaboradores relataram que a produção do antibiótico peptídico andrimida (**5**, Figura 2) em *Vibrio coralliilyticus*, uma bactéria marinha que pode ser patogênica de corais e crustáceos, foi estimulada quando uma das fontes de carbono no meio de cultura foi a quitina.<sup>57,58</sup> A produção da andrimida foi mais que o dobro em meios

contendo quitina como a única fonte de carbono em relação às células cultivadas com glicose. Desse modo, a produção de andrimida poderia ser regulada por fontes naturais de quitina.<sup>57</sup>

O nitrogênio é usado na síntese de proteínas essenciais e ácidos nucleicos, fornecendo unidades de nitrogênio para os metabólitos secundários e possuindo uma influência significativa no metabolismo desses produtos.<sup>56</sup> O consumo desse nutriente pode afetar o pH do cultivo em caldo, por exemplo, pelo acúmulo de amônia.<sup>59</sup> Estudos realizados com o fungo *Penicillium sp.* mostraram a influência do nitrogênio na produção dos pigmentos PP-V (**6**) e PP-R (**7**), quando cultivado em um meio contendo amido solúvel, nitrato de amônio, extrato de levedura e tampão citrato em pH 5.<sup>60</sup> Apesar de haver a disponibilidade de nitrogênio tanto no nitrato quanto na amônia, o nitrogênio da amônia foi mais eficaz para a síntese dos pigmentos. Por outro lado, em um meio livre de nitrato de amônio, o fungo produziu exclusivamente os pigmentos PP-O (**8**) e PP-Y.<sup>61,62</sup>

A concentração da fonte de nitrogênio também alterou significativamente o padrão de metabólitos secundários produzidos pelo *Aspergillus aculeatus* isolado do mamão *Cariaca papaya*. A adição de 3,5 % de NaNO<sub>3</sub> estimulou a produção de conjugados do ácido L-triptofano-fenilático (**9**), além de outras substâncias: *N*-[(2*S*)-2-hidróxi-1-oxo-3-fenilpropil]-L-triptofano metil éster (**10**), *N*-[(2*S*)-2-hidróxi-1-oxo-3-fenilpropil]-L-triptofano (**11**) e acudioxomorfolina (**12**).<sup>63</sup>

O cultivo de micro-organismos em diferentes meios de cultura também possibilita a expressão de genes biossintéticos favorecendo a síntese de novos metabólitos. O estudo com *Streptomyces sp.* marinho, em diferentes meios de cultura, mostrou a presença predominante de octapeptídeos cíclicos

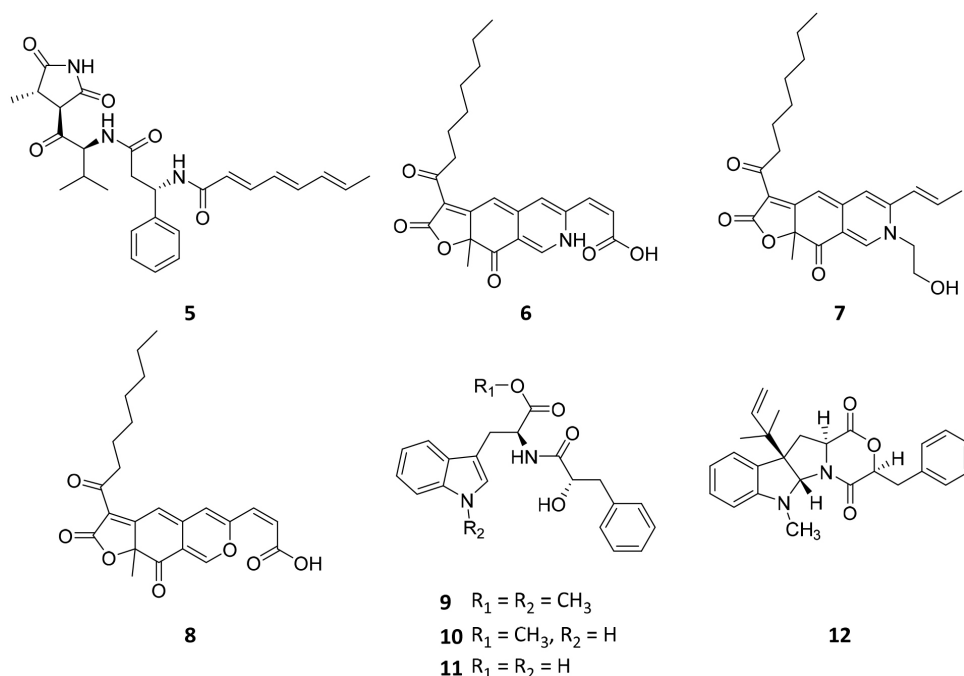


Figura 2. Metabólitos produzidos por micro-organismos a partir da variação das fontes de carbono e nitrogênio.

(surugamida A, **13**, Figura 3) quando cultivado no meio de amido-caseína. Também foram produzidos a desferrioxamina E, ácido xanturênico (**14**) e uma dicetopiperazina (**15**). Além disso, quatro regiões biossintéticas de agrupamentos de genes de metabólitos secundários foram detectadas. Entre elas, o gene relacionado como sideróforo desferrioxamina E, os genes responsáveis pela biossíntese de dicetopiperazinas, o gene descrito para a biossíntese de pepticinamina E e o gene biossintético das surugamidas.<sup>64</sup>

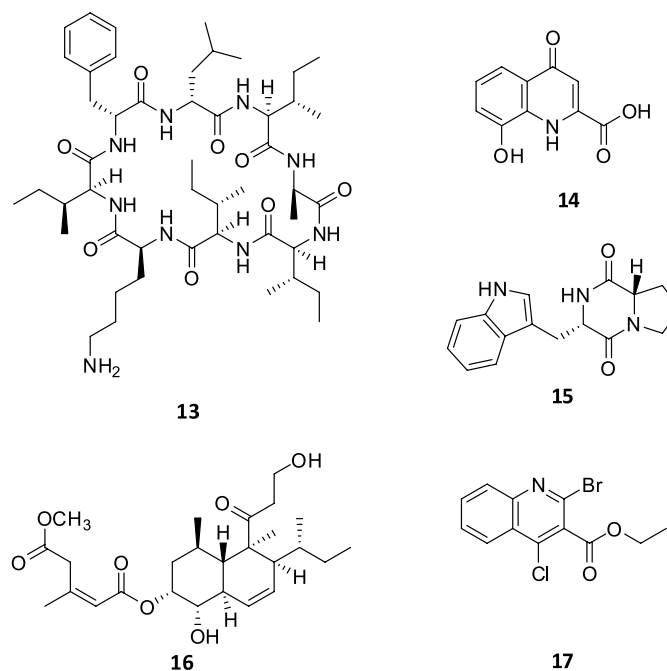
A estratégia OSMAC adotada para o fungo *Trichoderma harzianum* mostrou mudanças significativas na produção de metabólitos secundários usando dois meios de cultura diferentes, arroz e Czapek. Da cultura do arroz, foi isolado a tricoharzina B (**16**) e a metil-tricoharzina. Uma nova quinolina halogenada, a etil-2-bromo-4-cloroquinolina-3-carboxilato (**17**), foi obtida da cultura de Czapek.<sup>65</sup>

A salinidade, em conjunto com a temperatura e pressão osmótica alteram os processos fisiológicos, morfológicos e bioquímicos dentro do sistema de cultivo afetando o metabolismo microbiano.<sup>66</sup> A salinidade adequada é importante para o crescimento microbiano normal, por outro lado, a alta pressão osmótica desidrata as células e afeta as reações bioquímicas microbianas.<sup>67</sup> A pressão osmótica também é alterada em meios de cultura suplementados com diferentes halogênios. Assim, o processo para restaurar o equilíbrio osmótico pode ativar outras vias metabólicas, e consequentemente ativar os genes biossintéticos que estão silenciados no micro-organismo nessas condições de cultivo. Avaliando o crescimento em diferentes salinidades, Saha e colaboradores monitoraram a produção de um lipídio antimicrobiano (**18**, Figura 4) da actinobactéria marinha *Streptomyces thermocarboxydus* usando águas naturais

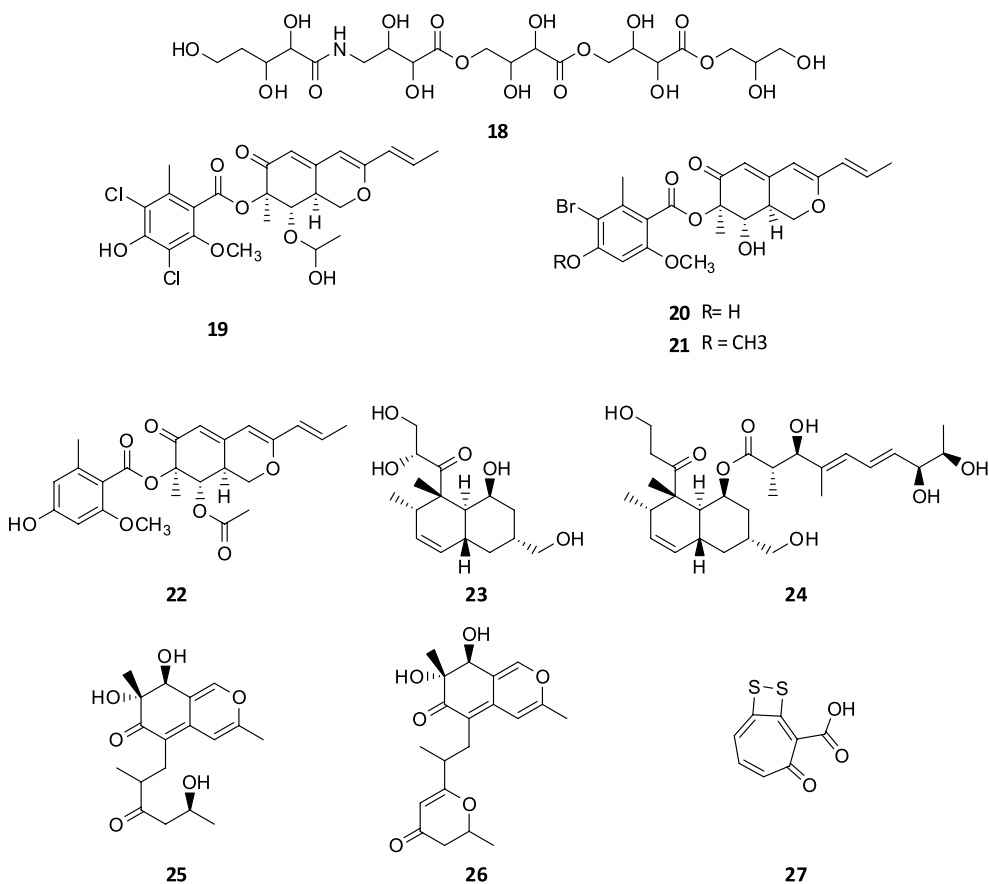
e água do mar artificial contendo apenas NaCl. Embora este isolado cresça em até 20% de NaCl, a produção do antibiótico cessou a uma concentração entre 5% e 10%.<sup>68</sup>

Culturas de *Aspergillus falconensis* isolado de sedimentos do Mar Vermelho, produziram azafilonas cloradas (**19**) após fermentação em meio arroz suplementado com 3,5 % de NaCl. A substituição do cloreto de sódio por brometo de sódio na mesma proporção gerou novas azafilonas bromadas (**20-21**), bem como um derivado não halogenado (**22**). A azafilona **21** apresentou melhor atividade inibitória contra o fator NK- $\kappa\beta$  em linhagens de células de câncer de mama.<sup>69</sup> A adição de halogênios não interfere apenas na resposta metabólica de micro-organismos marinhos, mas também influencia a de terrestres. Estudos com o fungo *Dothideomycete* sp., isolado da espécie de planta *Tiliacora triandra*, mostraram a produção de novos policetídeos (**23-26**) quando cultivado em meio suplementado com KBr ou em água do mar. Entretanto, estes metabólitos não foram detectados quando esta espécie foi cultivada em meio contendo KI ou em água deionizada.<sup>70</sup>

O efeito das concentrações de fósforo na produção de metabólitos secundários por micro-organismos também tem sido alvo de pesquisas científicas. Por outro lado, o papel do enxofre é investigado com menos frequência. A associação entre fontes de enxofre e metabólitos secundários foi descrita principalmente para antibióticos contendo átomos de enxofre produzidos por micro-organismos terrestres, a penicilina é um exemplo.<sup>71</sup> A produção do antibiótico ácido tropoditético (TDA, **27**, Figura 4) produzido por bactérias marinhas dos gêneros *Phaenobacter*, *Silicibacter*, *Ruegeria* e *Pseudooceanicola*,<sup>72-74</sup> além de outros compostos voláteis contendo enxofre sintetizados por



**Figura 3.** Metabólitos produzidos por micro-organismos em diferentes meios de cultura



**Figura 4.** Metabólitos produzidos por micro-organismos quando cultivados em meios de cultura suplementados com sais (**18-26**) e enxofre (**27**)

cepas do gênero *Roseobacter*, foi estimulada pela adição de dimetilsulfoniopropionato.<sup>72,75</sup> O TDA também é produzido pela bactéria marinha do gênero *Pseudovibrio sp.* quando cultivada em um meio limitado de fósforo.<sup>71</sup>

Os íons metálicos também afetam a estrutura fisiológica e a função dos micro-organismos.<sup>76</sup> Os efeitos regulatórios dos metais sobre a síntese de metabólitos secundários microbianos são reconhecidos há décadas e têm sido bem documentados para uma variedade de micro-organismos. Vários metais com funções redox, como Fe, Mn, Zn, Co, Ni, Mo e Mg, são fatores-chave para muitas enzimas microbianas envolvidas nas vias de biossíntese.<sup>77</sup> Na Tabela 2 é possível observar a influência dos íons metálicos na produção e/ou inibição de metabólitos secundários.

### 3.2. Condição de cultivo

Condições de cultivo adequadas, como temperatura, pH, concentração de oxigênio e estado físico de cultivo (meio de cultivo sólido ou líquido, estático ou dinâmico) são essenciais para o crescimento e para as reações bioquímicas dos micro-organismos.<sup>54</sup> A manipulação destas condições experimentais de cultivo geralmente resulta em uma grande diferenciação entre os perfis metabólicos.<sup>91</sup>

A temperatura de fermentação está diretamente envolvida na ativação/desativação das enzimas, sendo uma

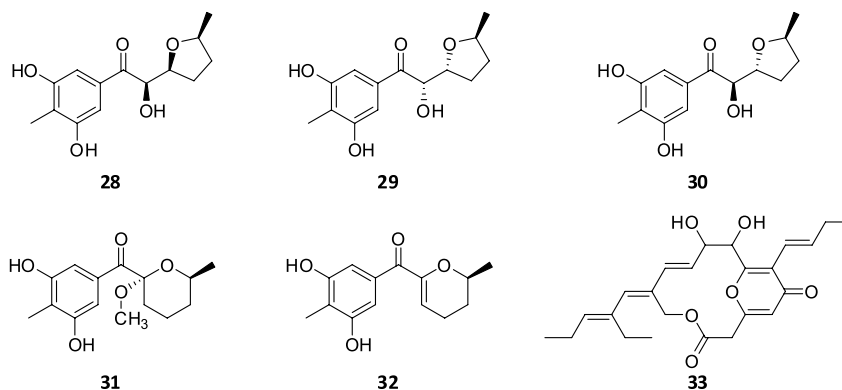
característica fundamental para a diversificação metabólica. Em geral compostos bioativos são produzidos em maior quantidade à temperatura ambiente. Entretanto a atividade da bactéria *Serratia proteamaculans* foi detectada em temperaturas a baixo de 25°C, sendo capaz de produzir o antibiótico andrimida (**5**) a 8°C.<sup>92</sup> Da mesma forma, a estratégia de aplicar baixas temperaturas para fermentações do fungo *Penicillium raistrickii* e do actinomiceto *Streptomyces peucetius* induziu a produção de novos metabólitos bioativos (**28-33**, Figura 5).<sup>93,94</sup>

Durante o processo de fermentação, o pH do meio de cultivo pode ser alterado por decomposição, por utilização de nutrientes e/ou por acúmulo de metabólitos secundários.<sup>95,96</sup> Esta alteração geralmente afeta a atividade enzimática microbiana e a carga superficial da membrana. Darabpour e colaboradores observaram que o pH ligeiramente alcalino foi ideal para a produção de um antibiótico contra MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina) através da bactéria marinha *Pseudoalteromonas piscicida*.<sup>97</sup> Em contraste, o cultivo do fungo *Rhytidhysterion rufulum* em meio ácido (pH 5) aumentou significativamente a produção dos metabólitos antitumorais espirobisnftalenos (**34-35**, Figura 6).<sup>98</sup>

Outros fatores, como a alterações no suprimento de oxigênio, também influenciam as reações bioquímicas e ativam diferentes conjuntos de genes funcionais para

**Tabela 2.** Influência de íons metálicos na produção de metabólitos secundários

Íon Metálico	Micro-organismo	Metabólito Secundário	Função	Referência
Cádmio	<i>Aspergillus parasiticus</i>	Versicolorina A	Inibição da síntese	78
	<i>Streptomyces griseus</i>	Antraciclina	Estimula a produção do metabólito	79
Cobalto	<i>Streptomyces coelicolor</i>	Prodigiosina	Estimula a produção do metabólito	80
	<i>Aspergillus sp.</i>	Aspergestressina	Estimula a produção do metabólito	81
Cobre	<i>Paraphaeosphaeria quadrisepitata</i>	Monociclina I	Aumenta a produção do metabólito	82
	<i>Streptomyces actuosus</i>	Nosiheptídeo	Reduz a produção do metabólito	83
Ferro	<i>Aspergillus terreus</i>	Terrefina	A falta do íon estimula a produção do metabólito	84
	<i>Streptomyces sp.</i>	Ciclodepsipeptídeo NC-1	Estimula a produção do metabólito	85
Manganês	<i>Bacillus licheniformis</i>	Bacitracina	Estimula a produção do metabólito	86
	<i>Penicillium urticae</i>	Patulina	Estimula a produção do metabólito	87
Magnésio	<i>Ascotricha sp.</i>	Cariofileno	Estimula a produção do metabólito	88
	<i>Aspergillus terreus</i>	Lovastatina	Aumenta a produção do metabólito	89
Zinco	<i>Streptomyces coelicolor</i>	Actinorodina	Estimula a produção do metabólito	90

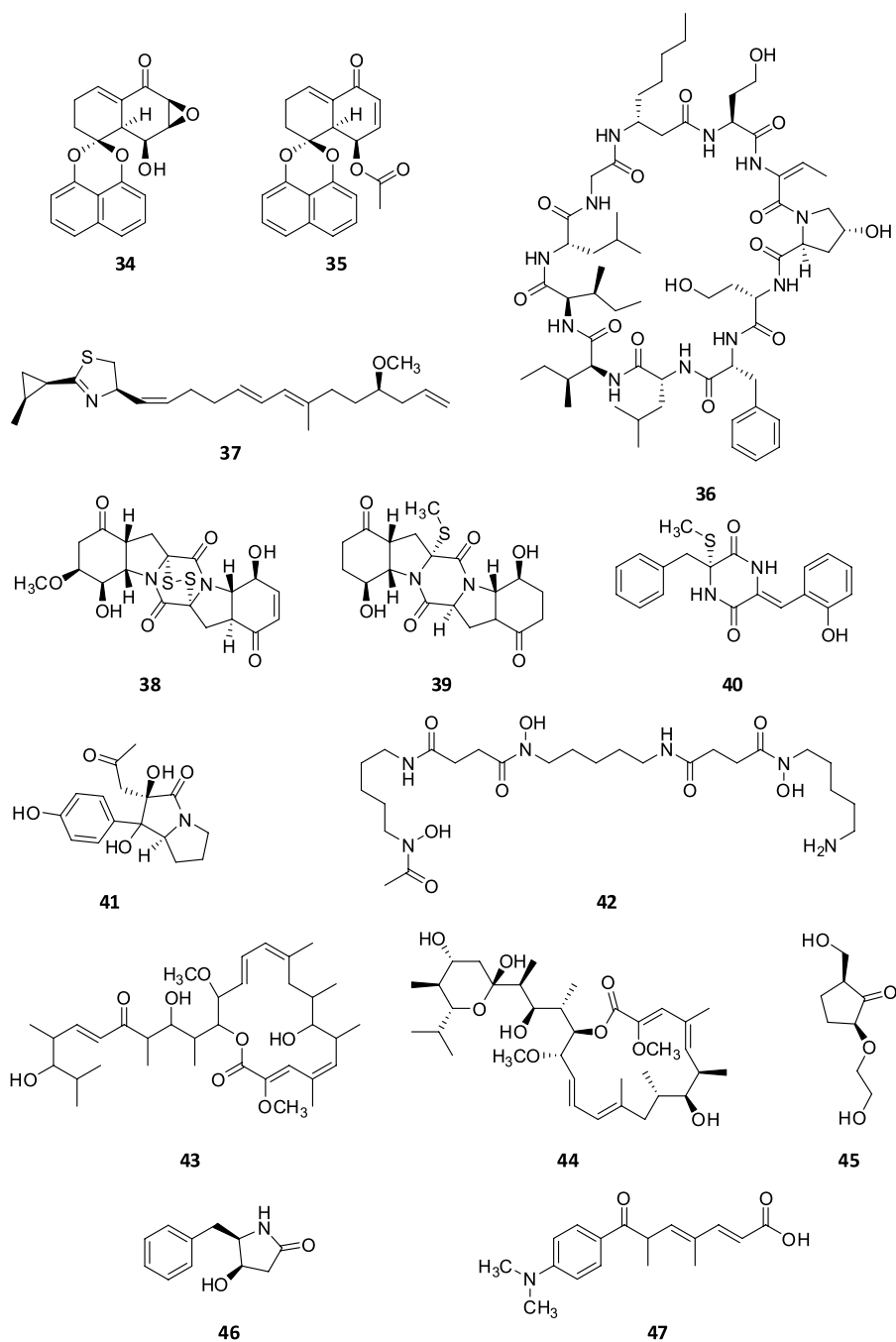
**Figura 5.** Metabólitos secundários produzidos em baixas temperaturas

produção de diferentes metabólitos secundários.<sup>99</sup> Em sua pesquisa, Burja e colaboradores, observaram um aumento da produção de lipopeptídeos (**36-37**) a partir da cianobactéria *Lyngbya majuscula* quando injetaram ar dentro do vaso do reator acima do nível da água.<sup>100</sup>

Modificações nos estados de cultivo, sendo sólido ou líquido, estático ou dinâmico, promovem alterações nas vias metabólicas, além de ativar os BGCs silenciados. A investigação do perfil químico do fungo *Penicillium brocae* mostrou a produção de derivados tiodicetopiperazínicos (**38**) quando cultivado em meio batata dextrose ágar.<sup>101</sup> Por outro lado, quando cultivado em meio líquido (Batata Dextrose ou Czapek) outros metabólitos foram produzidos entre eles:

penicibrocizinas (**39**), alcaloides dicetopiperazinas (**40**) e derivados N-hidroxifenopirrozina (**41**).<sup>102,103</sup>

O perfil metabólico do actinomiceto *Streptomyces sp.* foi avaliado em vinte e três diferentes condições de cultivo, em meios sólidos e líquidos. Somente os extratos provenientes de meios sólidos foram ativos contra bactérias Gram positivas e negativas.<sup>104</sup> Recentemente a modificação do estado de cultivo de actinomicetos marinhos promoveu a produção de compostos com atividade antiparasitária, dentre eles a desferrioxamina B (**42**), bafilomicina D (**43**) e bafilomicina A1 (**44**), todos produzidos em meio sólido. Enquanto em meio líquido foram produzidos: vertimicina (**45**), estreptopirrolidina (**46**) e ácido tricostático (**47**).<sup>105</sup>



**Figura 6.** Metabólitos secundários produzidos a partir de modificações em diferentes parâmetros de cultivo

### 3.3. Co-cultivo

Os micro-organismos no ambiente natural, além de enfrentarem mudanças nos fatores físicos e químicos, também estão envolvidos em uma rede de relações intra e interespecies, que podem ser competitivas, antagônicas ou harmônicas.<sup>53</sup> Portanto, o co-cultivo é uma estratégia muito eficiente para produção de metabólitos diversificados e para expressar os genes biossintéticos silenciados.<sup>106</sup>

Um exemplo do co-cultivo intraespecies foi a mistura do caldo de fermentação de duas linhagens epífitas do

fungo *Aspergillus* sp. isolado do manguezal *Avicennia marina*. Este co-cultivo levou ao isolamento de um novo alcaloide aspergicina (**48**, Figura 7) que apresentou atividade antibacteriana contra *Bacillus dysenteriae* e *Escherichia coli*.<sup>107</sup> Semelhantemente, diferentes cepas da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* mudaram seus perfis metabólicos e produziram aeruciclâmidas (**49**), aeruginosinas (**50**) e cianopeptolinas (**51**), em resposta ao co-cultivo.<sup>108</sup>

Novos derivados chermebilaenas A (**52**) e B (**53**), juntamente com os cicloneodiol (**54**) e metil(R,Z)-2-metil-6-((S)-4-metil-2-oxociclohex-3-en-1-il)hept-2-



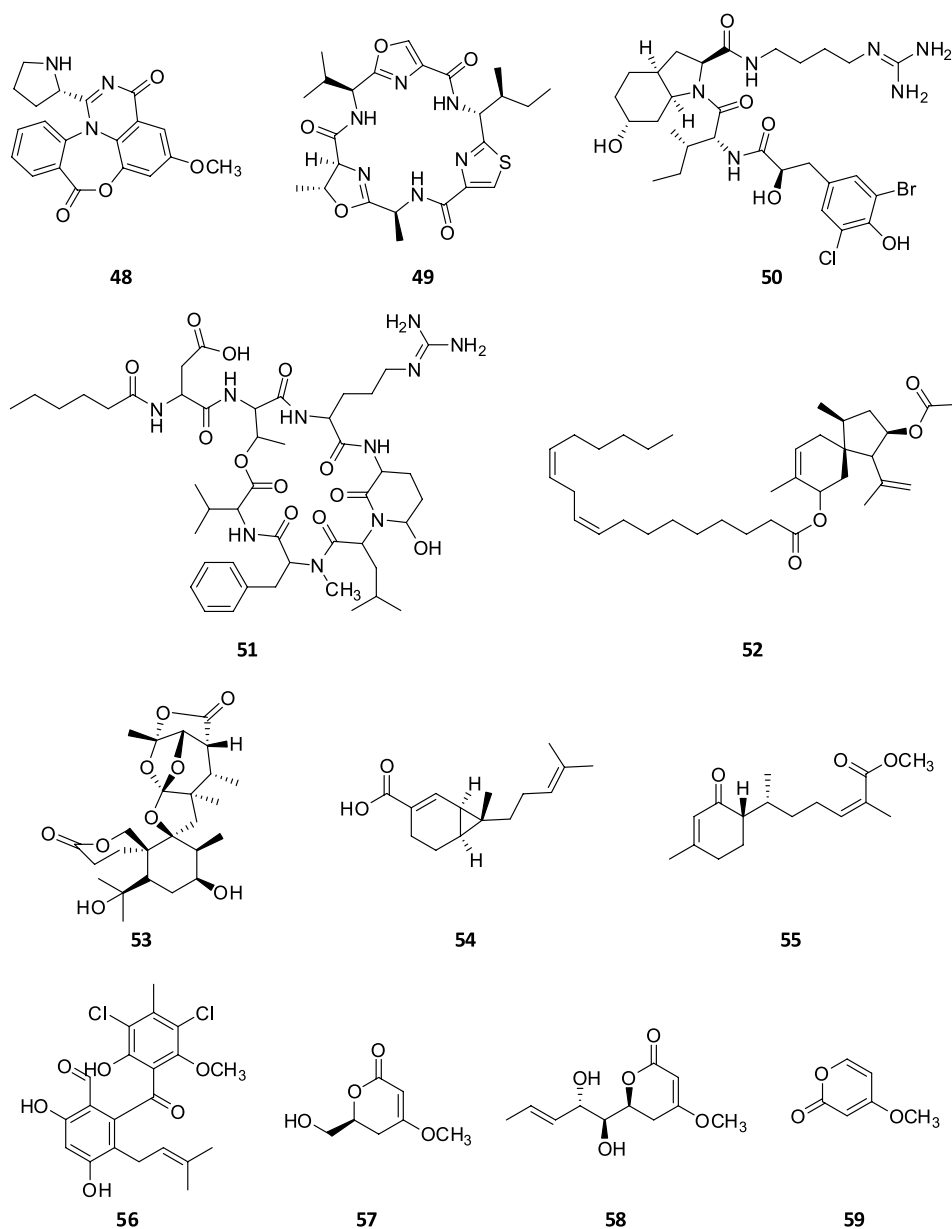


Figura 7. Metabólitos secundários produzidos a partir de co-culturas

enoato (**55**) já descritos na literatura, foram caracterizados a partir de co-culturas dos fungos *Penicillium bilaiae* e *P. chermesinum*. É importante ressaltar que nenhum destes fungos produziu estas substâncias quando cultivados sozinhos sob as mesmas condições. O metabólito **52** representa o primeiro sesquiterpeno natural hibridizado com ácido octadecadienóico com atividade antimicrobiana.<sup>109</sup>

O estudo da relação interespecíes entre o fungo *Pestalotia sp.*, isolado da alga *Rosenvingea sp.*, e uma bactéria marinha do gênero *Thalassospira* mostrou a produção de um potente antibiótico denominado pestalone (**56**).<sup>110</sup> A mesma bactéria também desencadeou a produção de novos diterpenoides, com atividade anticâncer, quando adicionada a uma cultura do fungo *Libertella sp.*<sup>111</sup> O perfil metabólico da espécie *Penicillium restrictum* também foi modificado ao ser

cultivado com o mexilhão *Mytilus edulis*. Foi observado uma diversidade de piran-2-onas, entre elas: 5,6-di-hidro-6S-hidroximetil-4-metóxi-2H-piran-2-ona (**57**), 5,6-dihidro-4-metóxi-6S-(1'S, 2'S-dihidróxi pent-3'(E)-enil)-2H-piran-2-ona (**58**) e 4-metóxi-2H-piran-2-ona (**59**).<sup>112</sup>

### 3.4. Elicidores químicos

Inúmeras interações microbiológicas que induzem a produção de metabólitos secundários são sustentadas por complexos mecanismos de ecologia química que dependem de pequenas moléculas denominadas de eliciadores químicos.<sup>71,113</sup> Estas moléculas induzem alterações na biossíntese dos metabólitos secundários via diferentes mecanismos de ação, ativando os seus genes silenciosos e consequentemente induzindo a síntese

de novos metabólitos ou otimizando a quantidade de metabólitos de interesse.<sup>114</sup>

Moléculas pertencentes a diferentes classes química e com pesos moleculares diversos tem sido bem-sucedidas como eliciadores químicos (Figura 8) na ativação de BGCs. A 5-azacitidina, o ácido suberoil-bis-hidroxiâmico (SBHA), o suberoilamida hidroxiâmico (SAHA), a nicotinamida, a quercetina, o butirato de sódio e o ácido valpróico atuam como modificadores epigenéticos.<sup>114-118</sup> Enquanto o bortezomibe é inibidor de proteassomos.<sup>119</sup> Os solventes orgânicos como dimetilsulfóxido, acetona, 1-butanol, etanol e acetonitrila que apesar dos mecanismos de ação serem desconhecidos, também foram descritos como indutores de alterações no perfil metabólico de fungos.<sup>120,121</sup>

A manipulação química epigenética de fungos revelou-se como uma abordagem promissora para a ativação de BGCs. Moléculas que alteram a regulação dos processos epigenéticos são responsáveis pela remodelagem da cromatina e da modificação covalente do DNA, levando a alterações nos perfis de transcrição e consequentemente na produção de metabólitos secundários.<sup>50,71</sup> Neste contexto, estudos recentes demonstram que inibidores de histona deacetilase (HDAC) e inibidores de DNA-metil transferase, como o SBHA e a 5-Aza, respectivamente, são capazes de ativar a expressão dos BGCs fúngicos.<sup>122-124</sup>

A incorporação do ácido suberoil-bis-hidroxiâmico (SBHA) em culturas de *Arthrobotrys foliicola* induziu a produção da cumarina 4-etil-7-hidroxi-8-metil-2H-cromeno-2-ona (**60**, Figura 9). Além disso, essa investigação também isolou o 6-etil-2,4-dihidroxi-3-metilbenzaldeído (**61**) e outras 2,5-dicetopiperazinas (**62-64**).<sup>125</sup> Em contrapartida, a exposição de culturas do fungo marinho *Eutypella* sp. ao SBHA e a 5-Aza resultou na ativação de agrupamentos de genes responsáveis pela biossíntese de sesquiterpenos. Foram identificados dezesete novos eutipeterpenos (**65-70**) com potencial anti-inflamatório, entre eles o eutipeterpeno A (**65**) que é

o primeiro sesquiterpeno do tipo bergamoteno incorporado com uma unidade de dioxolanona.<sup>126</sup>

Estudos com o fungo *Aspergillus awamori*, cultivado em diferentes meios de cultura e com o uso de modificadores epigenéticos, mostraram alterações no perfil químico deste micro-organismo. O meio arroz e malte dextrose ágar foram identificados como os melhores meios de cultivo em termos de diversidade de metabólitos secundários, produzindo predominantemente policetídeos e antraquinonas. Entre os modificadores, a nicotinamida foi o melhor indutor de metabólitos. Quanto a atividade biológica o uso dos eliciadores induziram a produção de metabólitos com atividade antibacteriana (**71-73**), enquanto o uso dos meios arroz e MDA induziu a produção de metabólitos citotóxicos (**74-75**).<sup>127</sup>

A adição do inibidor de proteossomos, bortezomibe, no caldo fermentativo de *Pestalotiopsis maculans* levou ao isolamento de novos xilariterpenoides (**76-77**).<sup>128</sup> Enquanto o uso de DMSO como eliciador químico para a indução de compostos halogenados pelo fungo marinho *Trichoderma brevicompactum*, gerou novas epidicetopiperazinas (**78-79**), que apresentam uma ligação dissulfeto entre as posições  $\alpha$  e  $\beta$  de dois resíduos de aminoácidos.<sup>129</sup>

Há várias revisões que relatam a ativação dos BGCs em fungos, entretanto pouco se sabe sobre a ativação de aglomerados genéticos em bactérias por eliciadores químicos.<sup>36,130,131</sup> Estudos com inibidores de histona deacetilase (HDAC), comumente usados para a expressão de BGCs fúngicos, foram testados em bactérias do gênero *Streptomyces* supondo que a estrutura do nucleóide desempenhasse um papel análogo à estrutura da cromatina.<sup>116,118</sup> Neste aspecto, quando culturas de *Streptomyces coelicolor* e *Streptomyces tsukubaensis* foram expostas ao butirato de sódio, um inibidor de HDAC, a produção do antibiótico actinorrodina (**80**) e do imunossupressor tacrolimo (**81**) foi afetada significativamente.<sup>116,132</sup>

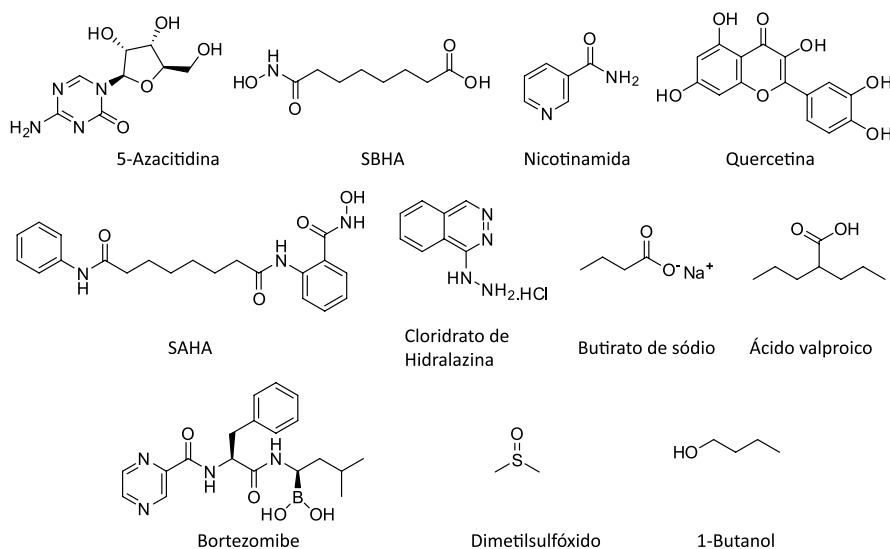


Figura 8. Moléculas usadas como eliciadores químicos

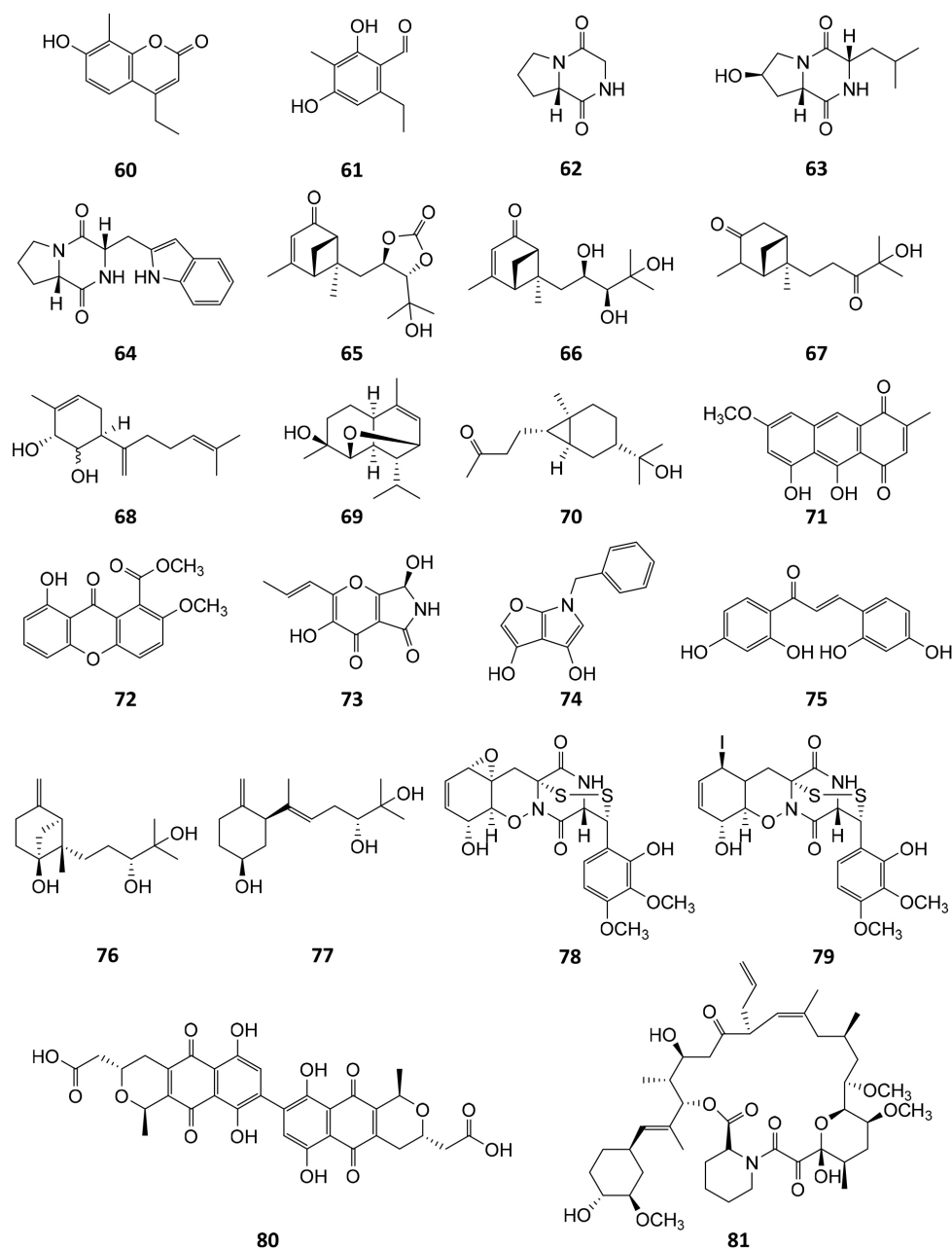


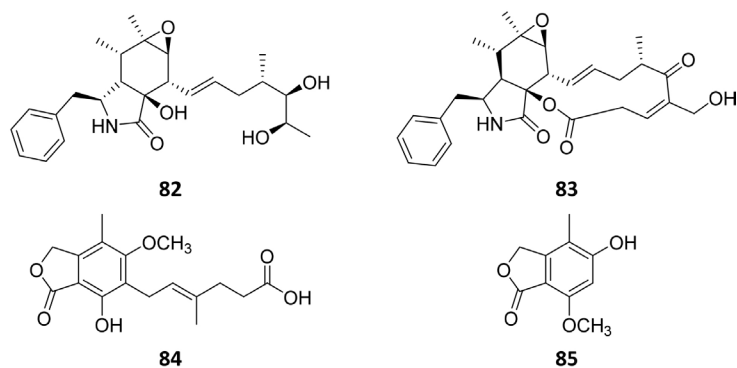
Figura 9. Metabólitos secundários microbianos produzidos após o uso de eliciadores químicos

### 3.5. Adição de precursores biossintéticos

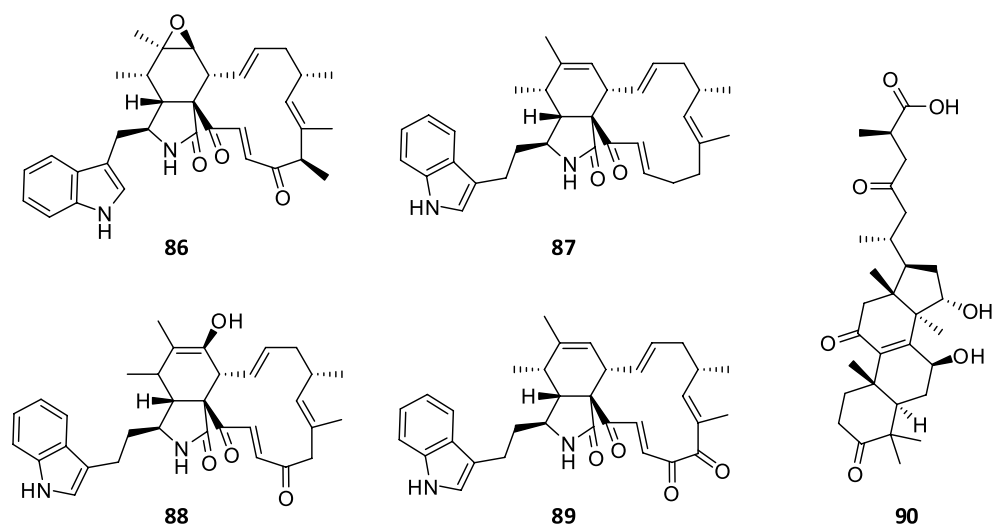
Um precursor biossintético é uma substância química capaz de ser incorporado ao produto final. Esses produtos podem alterar as vias de biossíntese de metabólitos secundários resultando em novos compostos.<sup>133</sup> Por exemplo, o fungo *Spicaria elegans* produziu novas citocalasinas citotóxicas (**82-83**, Figura 10) quando cultivado em meio contendo L- e D-triptofano.<sup>134</sup> Enquanto o fungo *Penicillium crustosum*, isolado da baga de *Coffea arabica* L., após ser tratado com ácido ferúlico e ácido quínico, ou, ácido cinâmico e ácido 3,4-metilenodioxicinâmico, produziu ácido micofenólico (**84**) e 5-hidróxi-7-metóxi-4-metilftalida (**85**).<sup>135</sup>

### 3.6. Adição de inibidor enzimático

As enzimas possuem um papel importante na regulação da biossíntese de metabólitos secundários. Algumas substâncias químicas podem inibir seletivamente a atividade dessas enzimas na via biossintética e estimular o progresso de outras vias metabólicas.<sup>54</sup> O fungo *Chaetomium subaffine* quando cultivado na presença de metirapona, um inibidor do citocromo P-450, induziu a síntese de novos policetídeos (**86-87**, Figura 11), além de dois análogos menos oxidados (**88-89**).<sup>136</sup> Liang e colaboradores também testaram a hipótese de que enzimas do citocromo P-450 estariam envolvidas na regulação da biossíntese de metabólitos secundários, como triterpenoides. A adição de fenobarbital,



**Figura 10.** Metabólitos secundários produzidos após cultivo dos micro-organismos com precursores biossintéticos



**Figura 11.** Metabólitos produzidos na presença de metirapona (**86-89**) e fenobarbital (**90**)

um indutor do citocromo P-450, potencializou a produção do ácido ganodérico (**90**) em culturas líquidas/estáticas de *Ganoderma lucidum*.<sup>120,137</sup>

#### 4. Considerações Finais

Os estudos contínuos de micro-organismos têm demonstrado que os parâmetros de cultivo afetam significativamente a síntese de metabólitos secundários e por consequência limita a descoberta de novas substâncias com atividade biológica. A estratégia OSMAC é uma abordagem simples, rápida e eficaz para forçar a ativação de agrupamentos de genes silenciosos e, assim, estimular a produção de metabólitos secundários bioativos. Além disso a estratégia OSMAC soma-se a outras, como: análise de redes moleculares por LC-MS/MS, mineração de genoma microbiano e fracionamento guiado por ensaio biológico para a descoberta de novas moléculas bioativas a partir de micro-organismos.

#### Agradecimentos

Os autores agradecem as bolsas concedidas pelo

Programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica (PiBIC) da Universidade Federal do Rio de Janeiro e pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Código de Financiamento de Bolsas 001).

#### Referências Bibliográfica

1. Fernandes, P. M. B.; *Levedura: do pão à biotecnologia* EDUFES: Vitória, 2009.
2. Cavalieri, D.; McGovern, P. E.; Hartl, D. L.; Mortimer, R.; Polsinelli, M.; Evidence for *S. cerevisiae* fermentation in ancient wine. *Journal of Molecular Evolution* **2003**, *57*, S226. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
3. Vitorino, L. C.; Bessa, L. A.; Technological microbiology: development and applications. *Frontiers in Microbiology* **2017**, *8*, 827. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
4. Johnston, C. S.; Gaas, C. A.; Vinegar: medicinal uses and antiglycemic effect. *MedGenMed : Medscape general medicine* **2006**, *8*, 61. [[PubMed](#)]
5. Money, N. P.; Are mushrooms medicinal? *Fungal Biology* **2016**, *120*, 449. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]

6. Fleming, A.; The antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenza*. *British Journal of Experimental Pathology* **1929**, *10*, 226. [[PubMed](#)]
7. Rossolini, G. M. ; Arena, F.; Pecile, P.; Pollini, S.; Update on the antibiotic resistance crisis. *Current Opinion in Pharmacology* **2014**, *18C*, 56. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
8. Sanchez, S.; Guzmán-Trampe, S.; Ávalos, M.; Ruiz, B.; Rodríguez-Sanoja, R.; Jiménez-Estrada, M.; Em *Natural Products in Chemical Biology* John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2012. [[Crossref](#)]
9. Gupta, P. L.; Rajput, M.; Oza, T.; Trivedi, U.; Sanghvi, G.; Eminence of microbial products in cosmetic industry. *Natural Products and Bioprospecting* **2019**, *9*, 267. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
10. Chouhan, N.; Vig, H.; Deshmukh, R.; Cosmetics market by category (skin and sun care products, hair care products, deodorants & fragrances, and makeup & color cosmetics), gender (men, women, and unisex), and distribution channel (hypermarkets/supermarkets, specialty stores, pharmacies, onlin. *Allied Market Research* **2021**, 338. [[Link](#)]
11. Brunt, E. G.; Burgess, J. G.; The promise of marine molecules as cosmetic active ingredients. *International Journal of Cosmetic Science* **2018**, *40*, 1. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
12. Satyanarayana, T.; Johri, B. N.; Prakash, A.; *Microorganisms in Environmental Management* Springer Netherlands: Dordrecht, 2012. [[Crossref](#)]
13. Nepal, M. R.; Jeong, T. C.; Alternative methods for testing botulinum toxin: current status and future perspectives. *Biomolecules & Therapeutics* **2020**, *28*, 302. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
14. Nigam, P.; Nigam, A.; Botulinum toxin. *Indian Journal of Dermatology* **2010**, *55*, 8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
15. Tarimci, N.; Em *Cyclodextrins in Pharmaceutics, Cosmetics, and Biomedicine* John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2011. [[Crossref](#)]
16. Chong, B. F.; Blank, L. M.; Mclaughlin, R.; Nielsen, L. K.; Microbial hyaluronic acid production. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2005**, *66*, 341. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
17. Izawa, N.; Serata, M.; Sone, T.; Omasa, T.; Ohtake, H.; Hyaluronic acid production by recombinant *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **2011**, *111*, 665. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
18. Soberón-Chávez, G.; Lépine, F.; Déziel, E.; Production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2005**, *68*, 718. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
19. Lu, J. K.; Wang, H. M.; Xu, X. R.; US20160030322A1 (2016). [[Link](#)]
20. Arutchelvi, J. I.; Bhaduri, S.; Uppara, P. V.; Doble, M.; Mannosylerythritol lipids: a review. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* **2008**, *35*, 1559. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
21. Morita, T.; Fukuoka, T.; Imura, T.; Kitamoto, D.; Mannosylerythritol lipids: production and applications. *Journal of Oleo Science* **2015**, *64*, 133. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
22. Morya, V. K.; Ahn, C.; Jeon, S.; Kim, E. K.; Medicinal and cosmetic potentials of sophorolipids. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **2013**, *13*, 1761. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
23. Suen, Y. L.; Tang, H.; Huang, J.; Chen, F.; Enhanced production of fatty acids and astaxanthin in *Aurantiochytrium* sp. by the expression of *Vitreoscilla* hemoglobin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2014**, *62*, 12392. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
24. Frengova, G. I.; Beshkova, D. M.; Carotenoids from *Rhodotorula* and *Phaffia*: yeasts of biotechnological importance. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* **2009**, *36*, 163. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
25. Zhang, Y.; Liu, Z.; Sun, J.; Xue, C.; Mao, X.; Biotechnological production of zeaxanthin by microorganisms. *Trends in Food Science & Technology* **2018**, *71*, 225. [[Crossref](#)]
26. Kato, I.; The application of sodium dextran sulfate to the field of cosmetics. *International Journal of Cosmetic Science* **2007**, *29*, 68. [[Crossref](#)]
27. Müller, J. M.; Santos, R. L. dos; Brigido, R. V.; Produção de alginato por microrganismos. *Polímeros* **2011**, *21*, 305. [[Crossref](#)]
28. Petri, D. F. S.; Xanthan gum: A versatile biopolymer for biomedical and technological applications. *Journal of Applied Polymer Science* **2015**, *132*, 42035. [[Crossref](#)]
29. Bilanovic, D.; Starosvetsky, J.; Armon, R. H.; Preparation of biodegradable xanthan–glycerol hydrogel, foam, film, aerogel and xerogel at room temperature. *Carbohydrate Polymers* **2016**, *148*, 243. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
30. Bafana, A.; Dutt, S.; Kumar, S.; Ahuja, P. S.; Superoxide dismutase: an industrial perspective. *Critical Reviews in Biotechnology* **2011**, *31*, 65. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
31. Srivastava, B.; Khatri, M.; Singh, G.; Arya, S. K.; Microbial keratinases: An overview of biochemical characterization and its eco-friendly approach for industrial applications. *Journal of Cleaner Production* **2020**, 252, 119847. [[Crossref](#)]
32. Gopinath, S. C. B.; Anbu, P.; LakshmiPriya, T.; Tang, T.-H.; Chen, Y.; Hashim, U.; Ruslinda, A. R.; Arshad, M. K. M.; Biotechnological aspects and perspective of microbial keratinase production. *BioMed Research International* **2015**, *2015*, 140726. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
33. Watanabe, K.; Collagenolytic proteases from bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2004**, *63*, 520. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
34. Saito, K.; Hasa, Y.; Abe, H.; Production of lactic acid from xylose and wheat straw by *Rhizopus oryzae*. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **2012**, *114*, 166. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
35. Abedi, E.; Hashemi, S. M. B.; Lactic acid production – producing microorganisms and substrates sources-state of art. *Heliyon* **2020**, *6*, e04974. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
36. Brakhage, A. A.; Regulation of fungal secondary metabolism. *Nature Reviews Microbiology* **2013**, *11*, 21. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
37. Keller, N. P.; Fungal secondary metabolism: regulation, function and drug discovery. *Nature Reviews Microbiology* **2019**, *17*, 167. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
38. Kaerberlein, T.; Isolating “uncultivable” microorganisms in pure culture in a simulated natural environment. *Science* **2002**, *296*, 1127. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
39. Saito, K.; Matsuda, F.; Metabolomics for functional genomics, systems biology, and biotechnology. *Annual Review of Plant Biology* **2010**, *61*, 463. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]

40. Harvey, A. L.; Edrada-Ebel, R.; Quinn, R. J.; The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. *Nature Reviews Drug Discovery* **2015**, *14*, 111. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
41. Caesar, L. K.; Montaser, R.; Keller, N. P.; Kelleher, N. L.; Metabolomics and genomics in natural products research: complementary tools for targeting new chemical entities. *Natural Product Reports* **2021**, *38*, 2041. [[Crossref](#)]
42. Omura, S.; Ikeda, H.; Ishikawa, J.; Hanamoto, A.; Takahashi, C.; Shinose, M.; Takahashi, Y.; Horikawa, H.; Nakazawa, H.; Osonoe, T.; Kikuchi, H.; Shiba, T.; Sakaki, Y.; Hattori, M.; Genome sequence of an industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*: Deducing the ability of producing secondary metabolites. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2001**, *98*, 12215. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
43. Keller, N. P.; Turner, G.; Bennett, J. W.; Fungal secondary metabolism — from biochemistry to genomics. *Nature Reviews Microbiology* **2005**, *3*, 937. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
44. Lee, N.; Kim, W.; Hwang, S.; Lee, Y.; Cho, S.; Palsson, B.; Cho, B.K.; Thirty complete *Streptomyces* genome sequences for mining novel secondary metabolite biosynthetic gene clusters. *Scientific Data* **2020**, *7*, 55. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
45. Skinnider, M. A.; Johnston, C. W.; Gunabalasingam, M.; Merwin, N. J.; Kieliszek, A. M.; MacLellan, R. J.; Li, H.; Ranieri, M. R. M.; Webster, A. L. H.; Cao, M. P. T.; Pfeifle, A.; Spencer, N.; To, Q. H.; Wallace, D. P.; Dejong, C. A.; Magarvey, N. A.; Comprehensive prediction of secondary metabolite structure and biological activity from microbial genome sequences. *Nature Communications* **2020**, *11*, 6058. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
46. Zheng, Y.; Saitou, A.; Wang, C.M.; Toyoda, A.; Minakuchi, Y.; Sekiguchi, Y.; Ueda, K.; Takano, H.; Sakai, Y.; Abe, K.; Yokota, A.; Yabe, S.; Genome features and secondary metabolites biosynthetic potential of the class Ktedonobacteria. *Frontiers in Microbiology* **2019**, *10*, 893. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
47. Challis, G. L.; Exploitation of the *Streptomyces coelicolor* A3(2) genome sequence for discovery of new natural products and biosynthetic pathways. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **2014**, *41*, 219. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
48. Hug, J. J.; Krug, D.; Müller, R.; Bacteria as genetically programmable producers of bioactive natural products. *Nature Reviews Chemistry* **2020**, *4*, 172. [[Crossref](#)]
49. Fiehn, O.; Metabolomics—the link between genotypes and phenotypes. *Plant molecular biology* **2002**, *48*, 155. [[PubMed](#)]
50. Rutledge, P. J.; Challis, G. L.; Discovery of microbial natural products by activation of silent biosynthetic gene clusters. *Nature Reviews Microbiology* **2015**, *13*, 509. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
51. Amiri Moghaddam, J.; Jautzus, T.; Alanjary, M.; Beemelmans, C.; Recent highlights of biosynthetic studies on marine natural products. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2021**, *19*, 123. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
52. Baral, B.; Akhgari, A.; Metsä-Ketelä, M.; Activation of microbial secondary metabolic pathways: Avenues and challenges. *Synthetic and Systems Biotechnology* **2018**, *3*, 163. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
53. Bode, H. B.; Bethe, B.; Höfs, R.; Zeeck, A.; Big effects from small changes: possible ways to explore nature's chemical diversity. *ChemBioChem* **2002**, *3*, 619. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
54. Pan, R.; Bai, X.; Chen, J.; Zhang, H.; Wang, H.; Exploring structural diversity of microbe secondary metabolites using OSMAC strategy: A literature review. *Frontiers in Microbiology* **2019**, *10*, 294. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
55. Ruiz, B.; Chávez, A.; Forero, A.; García-Huante, Y.; Romero, A.; Sánchez, M.; Rocha, D.; Sánchez, B.; Rodríguez-Sanoja, R.; Sánchez, S.; Langley, E.; Production of microbial secondary metabolites: Regulation by the carbon source. *Critical Reviews in Microbiology* **2010**, *36*, 146. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
56. Singh, V.; Haque, S.; Niwas, R.; Srivastava, A.; Pasupuleti, M.; Tripathi, C. K. M.; Strategies for fermentation medium optimization: An in-depth review. *Frontiers in Microbiology* **2017**, *7*, 2087. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
57. Wietz, M.; Månsson, M.; Gram, L.; Chitin stimulates production of the antibiotic andrimid in a *Vibrio coralliilyticus* strain. *Environmental Microbiology Reports* **2011**, *3*, 559. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
58. Giubergia, S.; Phippen, C.; Gotfredsen, C. H.; Nielsen, K. F.; Gram, L.; Influence of niche-specific nutrients on secondary metabolism in Vibrionaceae. *Applied and Environmental Microbiology* **2016**, *82*, 4035. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
59. Ma, L.; Xing, D.; Wang, H.; Wang, X.; Xue, D.; Effect of culture conditions on cell growth and lipid accumulation of oleaginous microorganism. *Sheng wu gong cheng xue bao = Chinese journal of biotechnology* **2009**, *25*, 55. [[PubMed](#)]
60. Arai, T.; Umemura, S.; Ota, T.; Ogiwara, J.; Kato, J.; Kasumi, T.; Effects of inorganic nitrogen sources on the production of PP-V [(10 Z)-12-carboxyl-monascorubramine] and the expression of the nitrate assimilation gene cluster by *Penicillium* sp. AZ. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **2012**, *76*, 120. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
61. Arai, T.; Koganei, K.; Umemura, S.; Kojima, R.; Kato, J.; Kasumi, T.; Ogiwara, J.; Importance of the ammonia assimilation by *Penicillium purpurogenum* in amino derivative Monascus pigment, PP-V, production. *AMB Express* **2013**, *3*, 19. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
62. Arai, T.; Kojima, R.; Motegi, Y.; Kato, J.; Kasumi, T.; Ogiwara, J.; PP-O and PP-V, Monascus pigment homologues, production, and phylogenetic analysis in *Penicillium purpurogenum*. *Fungal Biology* **2015**, *119*, 1226. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
63. Wang, H.; Eze, P. M.; Höfert, S.P.; Janiak, C.; Hartmann, R.; Okoye, F. B. C.; Esimone, C. O.; Orfali, R. S.; Dai, H.; Liu, Z.; Proksch, P.; Substituted L-tryptophan- L-phenyllactic acid conjugates produced by an endophytic fungus *Aspergillus aculeatus* using an OSMAC approach. *RSC Advances* **2018**, *8*, 7863. [[Crossref](#)]
64. Tangerina, M. M. P.; Furtado, L. C.; Leite, V. M. B.; Bauermeister, A.; Velasco-Alzate, K.; Jimenez, P. C.; Garrido, L. M.; Padilla, G.; Lopes, N. P.; Costa-Lotufo, L. V.; Pena Ferreira, M. J.; Metabolomic study of marine *Streptomyces* sp.: Secondary metabolites and the production of potential anticancer compounds. *PLOS ONE* **2020**, *15*, e0244385. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
65. Yu, J. Y.; Shi, T.; Zhou, Y.; Xu, Y.; Zhao, D. L.; Wang, C. Y.; Naphthalene derivatives and halogenate quinoline from the coral-derived fungus *Trichoderma harzianum* (XS-20090075)

- through OSMAC approach. *Journal of Asian Natural Products Research* **2021**, *23*, 250. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
66. Blunt, J. W.; Copp, B. R.; Keyzers, R. A.; Munro, M. H. G.; Prinsep, M. R.; Marine natural products. *Natural Product Reports* **2015**, *32*, 116. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  67. Poolman, B.; Glaasker, E.; Regulation of compatible solute accumulation in bacteria. *Molecular Microbiology* **1998**, *29*, 397. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  68. Saha, M.; Ghosh, D.; Ghosh, D.; Garai, D.; Jaisankar, P.; Sarkar, K. K.; Dutta, P. K.; Das, S.; Jha, T.; Mukherjee, J.; Studies on the production and purification of an antimicrobial compound and taxonomy of the producer isolated from the marine environment of the Sundarbans. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2005**, *66*, 497. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  69. El-Kashef, D. H.; Youssef, F. S.; Hartmann, R.; Knedel, T.O.; Janiak, C.; Lin, W.; Reimche, I.; Teusch, N.; Liu, Z.; Proksch, P.; Azaphilones from the Red sea fungus *Aspergillus falconensis*. *Marine Drugs* **2020**, *18*, 204. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  70. Wijesekera, K.; Mahidol, C.; Ruchirawat, S.; Kittakoop, P.; Metabolite diversification by cultivation of the endophytic fungus *Dothideomycete* sp. in halogen containing media: Cultivation of terrestrial fungus in seawater. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2017**, *25*, 2868. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  71. Romano, S.; Jackson, S.; Patry, S.; Dobson, A.; Extending the “one strain many compounds” (OSMAC) principle to marine microorganisms. *Marine Drugs* **2018**, *16*, 244. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  72. Geng, H.; Belas, R.; Expression of tropodithietic acid biosynthesis is controlled by a novel autoinducer. *Journal of Bacteriology* **2010**, *192*, 4377. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  73. Beyersmann, P. G.; Tomasch, J.; Son, K.; Stocker, R.; Göker, M.; Wagner-Döbler, I.; Simon, M.; Brinkhoff, T.; Dual function of tropodithietic acid as antibiotic and signaling molecule in global gene regulation of the probiotic bacterium *Phaeobacter inhibens*. *Scientific Reports* **2017**, *7*, 730. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  74. Wolter, L. A.; Wietz, M.; Ziesche, L.; Breider, S.; Leinberger, J.; Poehlein, A.; Daniel, R.; Schulz, S.; Brinkhoff, T.; *Pseudoceanicola* algae sp. nov., isolated from the marine macroalga *Fucus spiralis*, shows genomic and physiological adaptations for an algae-associated lifestyle. *Systematic and Applied Microbiology* **2021**, *44*, 126166. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  75. Brock, N. L.; Menke, M.; Klapschinski, A., T.; Dickschat, S., J.; Marine bacteria from the *Roseobacter* clade produce sulfur volatiles via amino acid and dimethylsulfoniopropionate catabolism. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2014**, *12*, 4318. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  76. Dedyukhina, E. G.; Eroshin, V. K.; Essential metal ions in the control of microbial metabolism. *Process Biochemistry* **1991**, *26*, 31. [[Crossref](#)]
  77. Dubey, M. K.; Meena, M.; Aamir, M.; Zehra, A.; Upadhyay, R. S.; *Em New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* Elsevier, 2019. [[Crossref](#)]
  78. Failla, L. J.; Niehaus, W. G.; Regulation of Zn<sup>2+</sup> uptake and versicolorin A synthesis in a mutant strain of *Aspergillus parasiticus*. *Experimental Mycology* **1986**, *10*, 35. [[Crossref](#)]
  79. Gräfe, U.; Eritt, I.; Riesenber, D.; Synergistic effect of cobalt on the induction by A-factor of the formation of aerial mycelium and anthracyclines by a blocked mutant of *Streptomyces griseus*. *Journal of Basic Microbiology* **1985**, *25*, 279. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  80. Morgenstern, A.; Paetz, C.; Behrend, A.; Spittler, D.; Divalent transition-metal-ion stress induces prodigiosin biosynthesis in *Streptomyces coelicolor* M145: formation of coeligosins. *Chemistry - A European Journal* **2015**, *21*, 6027. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  81. Ding, C.; Wu, X.; Auckloo, B.; Chen, C.T.; Ye, Y.; Wang, K.; Wu, B.; An unusual stress metabolite from a hydrothermal vent fungus *Aspergillus* sp. WU 243 induced by cobalt. *Molecules* **2016**, *21*, 105. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  82. Paranagama, P. A.; Wijeratne, E. M. K.; Gunatilaka, A. A. L.; Uncovering biosynthetic potential of plant-associated fungi: effect of culture conditions on metabolite production by *Paraphaeosphaeria quadriseptata* and *Chaetomium chiversii*. *Journal of Natural Products* **2007**, *70*, 1939. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  83. Zhou, W.; Liu, X.; Zhang, P.; Zhou, P.; Shi, X.; Effect analysis of mineral salt concentrations on nosiheptide production by *Streptomyces actuosus* Z-10 using response surface methodology. *Molecules* **2014**, *19*, 15507. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  84. Gressler, M.; Meyer, F.; Heine, D.; Hortschansky, P.; Hertweck, C.; Brock, M.; Phytotoxin production in *Aspergillus terreus* is regulated by independent environmental signals. *eLife* **2015**, *4*, e07891. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  85. Liu, M.; Liu, N.; Shang, F.; Huang, Y.; Activation and identification of NC-1: a cryptic cyclodepsipeptide from red soil-derived *Streptomyces* sp. FXJ1.172. *European Journal of Organic Chemistry* **2016**, *2016*, 3943. [[Crossref](#)]
  86. Froyshov, O.; Mathiesen, A.; Haavik, H. I.; Regulation of bacitracin synthetase by divalent metal ions in *Bacillus licheniformis*. *Microbiology* **1980**, *117*, 163. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  87. Scott, R. E.; Jones, A.; Gaucher, G. M.; Manganese and antibiotic biosynthesis. III. The site of manganese control of patulin production in *Penicillium urticae*. *Canadian Journal of Microbiology* **1986**, *32*, 273. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  88. Wang, W. J.; Li, D. Y.; Li, Y. C.; Hua, H. M.; Ma, E. L.; Li, Z. L.; Caryophyllene sesquiterpenes from the marine-derived fungus *Ascotricha* sp. ZJ-M-5 by the one strain–many compounds strategy. *Journal of Natural Products* **2014**, *77*, 1367. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  89. Jia, Z.; Zhang, X.; Cao, X.; Effects of carbon sources on fungal morphology and lovastatin biosynthesis by submerged cultivation of *Aspergillus terreus*. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering* **2009**, *4*, 672. [[Crossref](#)]
  90. Liu, G.; Chater, K. F.; Chandra, G.; Niu, G.; Tan, H.; Molecular regulation of antibiotic biosynthesis in *Streptomyces*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **2013**, *77*, 112. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
  91. Feller, G.; Narinx, E.; Arpigny, J. L.; Zekhnini, Z.; Swings, J.; Gerday, C.; Temperature dependence of growth, enzyme secretion and activity of psychrophilic Antarctic bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology* **1994**, *41*, 477. [[Crossref](#)]

92. Sánchez, L. A.; Sierra, M. G.; Siñeriz, F.; Delgado, O.; Andrimid production at low temperature by a psychrotolerant *Serratia proteamaculans* strain. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **2013**, *29*, 1773. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
93. Liu, D.-S.; Rong, X. G.; Kang, H. H.; Ma, L. Y.; Hamann, M.; Liu, W. Z.; Raistrickiones A–E from a highly productive strain of *Penicillium raistrickii* generated through thermo change. *Marine Drugs* **2018**, *16*, 213. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
94. Pham, V. T. T.; Nguyen, H. T.; Nguyen, C. T.; Choi, Y. S.; Dhakal, D.; Kim, T. S.; Jung, H. J.; Yamaguchi, T.; Sohng, J. K.; Identification and enhancing production of a novel macrolide compound in engineered *Streptomyces peucetius*. *RSC Advances* **2021**, *11*, 3168. [[Crossref](#)]
95. Gibson, A. M.; Bratchell, N.; Roberts, T. A.; Predicting microbial growth: growth responses of salmonellae in a laboratory medium as affected by pH, sodium chloride and storage temperature. *International Journal of Food Microbiology* **1988**, *6*, 155. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
96. Tan, Y.; Wang, Z. X.; Marshall, K. C.; Modeling pH effects on microbial growth: A statistical thermodynamic approach. *Biotechnology and Bioengineering* **1998**, *59*, 724. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
97. Darabpour, E. M. R. A.; Motamedi, H.; Ronagh, M. T.; Najafzadeh, H.; Purification and optimization of production conditions of a marine-derived antibiotic and ultra-structural study on the effect of this antibiotic against MRSA. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* **2012**, *16*, 157. [[PubMed](#)]
98. Siridechakorn, I.; Yue, Z.; Mittraphab, Y.; Lei, X.; Pudhom, K.; Identification of spirobisanthralene derivatives with anti-tumor activities from the endophytic fungus *Rhytidhysterium rufulum* AS21B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2017**, *25*, 2878. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
99. Sato, S.; Microbial production and control of cellular growth under high dissolved oxygen concentration.—Monograph—. *Journal of Fermentation and Bioengineering* **1990**, *70*, 293. [[Crossref](#)]
100. Burja, A. M.; Abou-Mansour, E.; Banaigs, B.; Payri, C.; Burgess, J. G.; Wright, P. C.; Culture of the marine cyanobacterium, *Lynbya majuscula* (Oscillatoriaceae), for bioprocess intensified production of cyclic and linear lipopeptides. *Journal of Microbiological Methods* **2002**, *48*, 207. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
101. Meng, L. H.; Li, X. M.; Lv, C. T.; Huang, C. G.; Wang, B. G.; Brocazines A–F, cytotoxic bishiodiketopiperazine derivatives from *Penicillium brocae* MA-231, an endophytic fungus derived from the marine mangrove plant *Avicennia marina*. *Journal of Natural Products* **2014**, *77*, 1921. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
102. Meng, L. H.; Zhang, P.; Li, X. M.; Wang, B. G.; Penicbrocazines A–E, five new sulfide diketopiperazines from the marine-derived endophytic fungus *Penicillium brocae*. *Marine Drugs* **2015**, *13*, 276. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
103. Meng, L. H.; Li, X. M.; Liu, Y.; Xu, G. M.; Wang, B. G.; Antimicrobial alkaloids produced by the mangrove endophyte *Penicillium brocae* MA-231 using the OSMAC approach. *RSC Advances* **2017**, *7*, 55026. [[Crossref](#)]
104. English, A. L.; Boufridi, A.; Quinn, R. J.; Kurtböke, D. I.; Evaluation of fermentation conditions triggering increased antibacterial activity from a near-shore marine intertidal environment-associated *Streptomyces* species. *Synthetic and Systems Biotechnology* **2017**, *2*, 28. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
105. Gamaleldin, N. M.; Bakeer, W.; Sayed, A. M.; Shamikh, Y. I.; El-Gendy, A. O.; Hassan, H. M.; Horn, H.; Abdelmohsen, U. R.; Hozzein, W. N.; Exploration of chemical diversity and antitrypanosomal activity of some Red sea-derived actinomycetes using the OSMAC approach supported by LC-MS-based metabolomics and molecular modelling. *Antibiotics* **2020**, *9*, 629. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
106. Takahashi, J. A.; Teles, A. P. C.; de Almeida Pinto Bracarense, A.; Gomes, D. C.; Classical and epigenetic approaches to metabolite diversification in filamentous fungi. *Phytochemistry Reviews* **2013**, *12*, 773. [[Crossref](#)]
107. Zhu, F.; Chen, G.; Chen, X.; Huang, M.; Wan, X.; Aspergicin, a new antibacterial alkaloid produced by mixed fermentation of two marine-derived mangrove epiphytic fungi. *Chemistry of Natural Compounds* **2011**, *47*, 767. [[Crossref](#)]
108. Briand, E.; Bormans, M.; Gugger, M.; Dorrestein, P. C.; Gerwick, W. H.; Changes in secondary metabolic profiles of *Microcystis aeruginosa* strains in response to intraspecific interactions. *Environmental Microbiology* **2016**, *18*, 384. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
109. Meng, L. H.; Li, X. M.; Li, H. L.; Wang, B. G.; Chermebilaenes A and B, new bioactive meroterpenoids from co-cultures of marine-derived isolates of *Penicillium bilaiae* MA-267 and *Penicillium chermesinum* EN-480. *Marine Drugs* **2020**, *18*, 339. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
110. Cueto, M.; Jensen, P. R.; Kauffman, C.; Fenical, W.; Lobkovsky, E.; Clardy, J.; Pestalone, a new antibiotic produced by a marine fungus in response to bacterial challenge. *Journal of Natural Products* **2001**, *64*, 1444. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
111. Oh, D. C.; Jensen, P. R.; Kauffman, C. A.; Fenical, W.; Libertellenones A–D: Induction of cytotoxic diterpenoid biosynthesis by marine microbial competition. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2005**, *13*, 5267. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
112. Le, V.T.; Bertrand, S.; Robiou du Pont, T.; Fleury, F.; Caroff, N.; Bourgeade-Delmas, S.; Gentil, E.; Logé, C.; Genta-Jouve, G.; Grovel, O.; Untargeted metabolomics approach for the discovery of environment-related pyran-2-ones chemodiversity in a marine-sourced *Penicillium restrictum*. *Marine Drugs* **2021**, *19*, 378. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
113. Wu, Q.; Zhang, G.; Wang, B.; Li, X.; Yue, S.; Chen, J.; Zhang, H.; Wang, H.; Production and identification of inthomycin B produced by a deep-sea sediment-derived *Streptomyces* sp. YB104 based on cultivation-dependent approach. *Current Microbiology* **2018**, *75*, 942. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
114. Toghueo, R. M. K.; Sahal, D.; Boyom, F. F.; Recent advances in inducing endophytic fungal specialized metabolites using small molecule elicitors including epigenetic modifiers. *Phytochemistry* **2020**, *174*, 112338. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
115. Chung, Y. M.; Wei, C.K.; Chuang, D. W.; El-Shazly, M.; Hsieh, C.T.; Asai, T.; Oshima, Y.; Hsieh, T. J.; Hwang, T. L.; Wu, Y.C.; Chang, F. R.; An epigenetic modifier enhances the production of anti-diabetic and anti-inflammatory sesquiterpenoids from *Aspergillus sydowii*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2013**, *21*, 3866. [[Crossref](#)]



116. Moore, J. M.; Bradshaw, E.; Seipke, R. F.; Hutchings, M. I.; McArthur, M.; Use and discovery of chemical elicitors that stimulate biosynthetic gene clusters in *Streptomyces* bacteria. *Methods in Enzymology* **2012**, *517*, 367. [[Crossref](#)]
117. González-Menéndez, V.; Pérez-Bonilla, M.; Pérez-Victoria, I.; Martín, J.; Muñoz, F.; Reyes, F.; Tormo, J.; Genilloud, O.; Multicomponent analysis of the differential induction of secondary metabolite profiles in fungal endophytes. *Molecules* **2016**, *21*, 234. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
118. Mohammadipanah, F.; Kermani, F.; Salimi, F.; Awakening the secondary metabolite pathways of *Promicromonospora kermanensis* using physicochemical and biological elicitors. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **2020**, *192*, 1224. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
119. VanderMolen, K. M.; Darveaux, B. A.; Chen, W.-L.; Swanson, S. M.; Pearce, C. J.; Oberlies, N. H.; Epigenetic manipulation of a filamentous fungus by the proteasome-inhibitor bortezomib induces the production of an additional secondary metabolite. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 18329. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
120. Pettit, R. K.; Small-molecule elicitation of microbial secondary metabolites. *Microbial Biotechnology* **2011**, *4*, 471. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
121. Toghueo, R. M. K.; Sahal, D.; Zabalgoceazcoa, Í.; Baker, B.; Boyom, F. F.; Conditioned media and organic elicitors underpin the production of potent antiplasmodial metabolites by endophytic fungi from Cameroonian medicinal plants. *Parasitology Research* **2018**, *117*, 2473.. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
122. Amorim, M. R.; Wijeratne, E. M. K.; Zhou, S.; Arnold, A. E.; Batista, A. N. L.; Batista, J. M.; dos Santos, L. C.; Gunatilaka, A. A. L.; An epigenetic modifier induces production of 3-(4-oxopyrano)-chromen-2-ones in *Aspergillus* sp. AST0006, an endophytic fungus of *Astragalus lentiginosus*. *Tetrahedron* **2020**, *76*, 131525. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
123. Mishra, R.; Kushveer, J. S.; Majumder, D.; Sarma, V. V.; Stimulation of secondary metabolite production in *Hypoxylon anthochroum* by naturally occurring epigenetic modifiers. *Journal of Food Measurement and Characterization* **2020**, *14*, 946. [[Crossref](#)]
124. Aldholmi, M.; Wilkinson, B.; Ganesan, A.; Epigenetic modulation of secondary metabolite profiles in *Aspergillus calidoustus* and *Aspergillus westerdijkiae* through histone deacetylase (HDAC) inhibition by vorinostat. *The Journal of Antibiotics* **2020**, *73*, 410. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
125. Li, C.; Lo, I.; Hsueh, Y.; Chung, Y.; Wang, S.; Korinek, M.; Tsai, Y.; Cheng, Y.; Hwang, T.; Wang, C. C. C.; Chang, F.; Wu, Y.; Epigenetic manipulation induces the production of coumarin-type secondary metabolite from *Arthrobotrys foliicola*. *Israel Journal of Chemistry* **2019**, *59*, 432. [[Crossref](#)]
126. Niu, S.; Liu, D.; Shao, Z.; Liu, J.; Fan, A.; Lin, W.; Chemical epigenetic manipulation triggers the production of sesquiterpenes from the deep-sea derived *Eutypella* fungus. *Phytochemistry* **2021**, *192*, 112978. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
127. Lotfy, M. M.; Sayed, A. M.; AboulMagd, A. M.; Hassan, H. M.; El Amir, D.; Abouzid, S. F.; El-Gendy, A. O.; Rateb, M. E.; Abdelmohsen, U. R.; Alhadrami, H.; Mohammed, R.; Metabolomic profiling, biological evaluation of *Aspergillus awamori*, the river Nile-derived fungus using epigenetic and OSMAC approaches. *RSC Advances* **2021**, *11*, 6709. [[Crossref](#)]
128. Li, Y.; Zhang, F.; Banakar, S.; Li, Z.; Bortezomib-induced new bergamotene derivatives xylariterpenoids H–K from sponge-derived fungus *Pestalotiopsis maculans* 16F-12. *RSC Advances* **2019**, *9*, 599. [[Crossref](#)]
129. Yamazaki, H.; Rotinsulu, H.; Narita, R.; Takahashi, R.; Namikoshi, M.; Induced production of halogenated epithiodiketopiperazines by a marine-derived *Trichoderma cf. brevicompactum* with sodium halides. *Journal of Natural Products* **2015**, *78*, 2319. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
130. Abdelmohsen, U. R.; Grkovic, T.; Balasubramanian, S.; Kamel, M. S.; Quinn, R. J.; Hentschel, U.; Elicitation of secondary metabolism in actinomycetes. *Biotechnology Advances* **2015**, *33*, 798. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
131. Tomm, H. A.; Ucciferri, L.; Ross, A. C.; Advances in microbial culturing conditions to activate silent biosynthetic gene clusters for novel metabolite production. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* **2019**, *46*, 1381. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
132. Wang, C.; Huang, D.; Liang, S.; Identification and metabolomic analysis of chemical elicitors for tacrolimus accumulation in *Streptomyces tsukubaensis*. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2018**, *102*, 7541. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
133. Ramm, S.; Krawczyk, B.; Mühlenweg, A.; Poch, A.; Mösker, E.; Süßmuth, R. D.; A self-sacrificing N-methyltransferase is the precursor of the fungal natural product omphalotin. *Angewandte Chemie International Edition* **2017**, *56*, 9994. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
134. Wang, F. Z.; Wei, H. J.; Zhu, T. J.; Li, D. H.; Lin, Z. J.; Gu, Q. Q.; Three new cytochalasins from the marine-derived fungus *Spicaria elegans* KLA03 by supplementing the cultures with L- and D-tryptophan. *Chemistry & Biodiversity* **2011**, *8*, 887. [[Crossref](#)]
135. Valente, A. M. M. P.; Ferreira, A. G.; Daolio, C.; Rodrigues Filho, E.; Boffo, E. F.; Souza, A. Q. L.; Sebastianes, F. L. S.; Melo, I. S.; Production of 5-hydroxy-7-methoxy-4-methylphthalide in a culture of *Penicillium crustosum*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **2013**, *85*, 487. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
136. Oikawa, H.; Murakami, Y.; Ichihara, A.; Useful approach to find the plausible biosynthetic precursors of secondary metabolites using P-450 inhibitors: postulated intermediates of chaetoglobosin A. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1* **1992**, 2949. [[Crossref](#)]
137. Liang, C. X.; Li, Y. B.; Xu, J. W.; Wang, J. L.; Miao, X. L.; Tang, Y. J.; Gu, T.; Zhong, J. J.; Enhanced biosynthetic gene expressions and production of ganoderic acids in static liquid culture of *Ganoderma lucidum* under phenobarbital induction. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2010**, *86*, 1367. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]