

УДК 631.461: 502.521

**В.Н. Гришко, О.Н. Кориновская**

Криворожский ботанический сад НАН Украины, ул. Маршака, 50,  
Кривой Рог, 50089, Украина, тел.: +38 (097) 852 83 51,  
e-mail: Korinovskaya2009@yandex.ru

## **УСТОЙЧИВОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ К СОВМЕСТНОМУ ДЕЙСТВИЮ СОЕДИНЕНИЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

*Исследована устойчивость микромицетов к совместному действию азотнокислых соединений кадмия, цинка, меди, никеля и свинца. Самыми чувствительными к минимальному содержанию (0,75 ПДК) соединений тяжелых металлов в среде Чапека были *Absidia butleri* Lendn, *Mortierella vanecae* Dixon-Stewart, *Cunninghamella echinulata* Thaxter, *Curvularia tuberculata* Jain и *Fusarium solani* (C. Mart.) Appel et Wollenw, тогда как у *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *Penicillium* sp4 и *Micor globosus* Fischer наблюдался умеренный рост даже при максимальной концентрации (50 ПДК). Наибольшее ингибирование синтеза биомассы (в 7,3 раза) при концентрации ионов тяжелых металлов в среде 3 ПДК отмечено у *Penicillium* sp1.*

*Ключевые слова:* микромицеты, тяжелые металлы, устойчивость, биомасса.

В результате повышенной антропогенной нагрузки эдафотопы промышленных регионов Украины загрязнены различного рода поллютантами, в частности, соединениями тяжелых металлов. Накапливаясь в почве, последние негативно влияют на микроорганизмы, в том числе, и на микроскопические грибы, приводя к изменению видового состава микробного ценоза. Кроме этого, микромицеты могут быть индикаторными видами и использоваться в мониторинге антропогенной нагрузки на эдафотопы [5, 6].

Для прогнозирования последствий загрязнения почв ионами тяжелых металлов целесообразным является изучение закономерностей перестройки структуры и функционирования комплекса микромицетов при воздействии различных концентраций токсикантов, поскольку именно высокая устойчивость микромицетов к тяжелым металлам позволяет занимать определенным видам доминирующее положение в микробном ценозе загрязненных почв. В настоящее время известно несколько типов взаимодействия микромицетов с тяжелыми металлами, которые обуславливают их высокую устойчивость: ограничение поглощения токсичных элементов, отложение их в клетке в безопасной форме, исключение из

© В.Н. Гришко, О.Н. Кориновская, 2012



метаболизма участка, чувствительного к определенному металлу [10]. Одним из интегральных показателей чувствительности организмов к изменяющимся условиям внешней среды является количество продуцируемой биомассы. В почвах тундры основной частью микробиоценоза являются микромицеты. Биомасса их в верхних корнеобитаемых горизонтах почвы составляет порядка 75–80% от общей микробной биомассы [1]. Микроскопические грибы являются одними из активных продуцентов органического вещества почвы. Разлагая растительные и животные остатки, они принимают непосредственное участие в образовании гумуса, а также осуществляют минерализацию разнообразных веществ [11]. Хотя отдельное влияние кадмия, никеля, цинка, меди и свинца на синтез биомассы некоторыми микромицетами изучено, остаются невыясненными эффекты влияния комплекса соединений тяжелых металлов на продуцирование ими биомассы [9, 10]. Целью работы была оценка действия различных соединений тяжелых металлов на рост почвенных микромицетов.

### Материалы и методы

Материалом для исследования являлись культуры микромицетов, выделенные из техноземов промышленных предприятий г. Кривого Рога и чернозема обыкновенного (всего 49 штаммов). Их идентификацию проводили по определителям отечественных и зарубежных авторов [7, 12, 13, 14]. Чувствительность микромицетов к тяжелым металлам оценивали при культивировании на среде Чапека с добавлением  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  из расчета предельно допустимых концентраций (ПДК) каждого элемента ( $\text{Cu} - 3,0$ ;  $\text{Cd} - 3,0$ ;  $\text{Ni} - 4,0$ ;  $\text{Pb} - 20,0$  и  $\text{Zn} - 23,0$  мг/л) в концентрациях 0,75; 1; 3; 5; 7; 10; 15; 20 и 50 ПДК [4]. Рост колоний на агаризованной среде Чапека, не содержащей соединений тяжелых металлов, был контролем.

Для изучения способности накапливать биомассу были отобраны как доминантные, так и типичные частые в микробиоценозах природных и загрязненных эдафотопов штаммы, а также различные по устойчивости к тяжелым металлам [5]. *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *Aspergillus niger* Tiegh, *A. wentii* Thom et Church, *Fusarium oxysporum* E.F.Sm. Et Swingle и *Penicillium sp1* культивировали 14 суток в конических колбах объемом 250 мл с 50 мл жидкой среды Чапека с добавлением  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  в концентрациях 0,5; 1; 1,5; 2 и 3 ПДК при 27 °С. Вес грибной биомассы определяли гравиметрически после фильтрования, промывания бидистиллированной водой и высушивания при 105 °С до постоянного веса [8].

### Результаты и их обсуждение

Как видно из таблицы, микромицеты имеют разную чувствительность к повышенному содержанию тяжелых металлов. Наши эксперименты показали, что 10% тест-штаммов (*A. butleri*, *M. vanescea*, *C. echinulata*, *C. tuberculata* и *F. solani*) проявляли наибольшую чувствительность к ионам тяжелых металлов и прекращали рост уже при их минимальной концентрации. С увеличением содержания токсических соединений в питательной среде до 3 ПДК росли 81% культур микромицетов. При повышении концентрации до 5 ПДК отсутствие роста наблюдалось у 24% исследованных штаммов (кроме перечисленных выше, также у *M. corticola*, *B. cinerea*, *A. wentii*). На среде с содержанием соединений тяжелых металлов 7 ПДК наблюдали отсутствие роста только *A. glausa*. С последующим увеличением концентрации до 10 ПДК неустойчивыми оказались представители родов *Absidia*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Cunninghamella*, *Eupenicillium sp.* и *Paecilomyces*.

Однако 39% изученных микромицетов, относящихся к родам *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chetomium*, *Fusarium*, *Humicola*, *Mortierella*, *Mucor*, *Penicillium* и *Trichoderma*, проявляли относительную резистентность к действию ионов тяжелых металлов в среде в концентрации до 15 ПДК. Причем из них хороший и слабый рост имели 68%. Устойчивость к изученному комплексу соединений тяжелых металлов проявляли *Penicillium sp1*, *A. nidulans*, *A. ustus*, *M. isabelina*, *F. oxysporum*, *F. javanicum*, *C. globosum*, *H. brevis* и *A. fumigatus*, которые имели хороший и слабый рост при концентрации 20 ПДК, тогда как чувствительными к отмеченному содержанию тяжелых металлов оказались *Penicillium sp5*, *M. jenkini*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *T. viride* и *M. piriformis*. Самую высокую резистентность к азотнокислым соединениям меди, цинка, никеля, кадмия и свинца проявляли лишь *T. longibrachiatum*, *A. alternata*, *Penicillium sp4* и *M. globosus*, которые росли даже при их максимальной концентрации.

Интенсивность накопления биомассы у различных микромицетов зависит от скорости метаболических процессов и является видоспецифической характеристикой [6]. Поэтому в последующих экспериментах использовались виды, у которых она значительно различалась. Так, данные рисунка свидетельствуют, что в условиях контроля наибольшей скоростью накопления биомассы обладал *A. wentii* (574,1 мг). В 1,2–1,6 раза меньше эти значения были у *T. longibrachiatum*, *F. oxysporum*, *Penicillium sp1* и *A. niger*, тогда как биомасса *A. alternata* составляла 162,7 мг. Известно, что в различных экологических условиях другие факторы могут как стимулировать, так и ингибировать ее синтез, выступая в последнем случае лимитирующими. Показано, что селенат натрия в концентрациях  $10^{-7}$ – $10^{-4}$  г/л среды обуславливает увеличение на 30–121% скорости роста *Penicillium chrysogenum*, *P. nigricans*, *Fusidium coccineum*, *Acremonium chrysogenum* и накопления биомассы [3].



Таблица 1

Рост микромицетов на среде Чапека с разным содержанием соединений тяжелых металлов

Table 1

Growth of micromycetes on the Chapek medium with different maintenance of heavy metals compounds

№ п/п	Штаммы	Контроль	0,75 ПДК	1 ПДК	3 ПДК	5 ПДК	7 ПДК	10 ПДК	15 ПДК	20 ПДК	50 ПДК
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	<i>Absidia butleri</i>	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	<i>A. glauca</i>	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—
3	<i>Alternaria alternata</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
4	<i>Aspergillus niger</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
5	<i>A. ochraceus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
6	<i>A. ustus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
7	<i>A. nidulans</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
8	<i>A. versicolor</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—
9	<i>A. wentii</i>	+++	+++	++	+	—	—	—	—	—	—
10	<i>A. flavus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—
11	<i>A. fumigatus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
12	<i>Arthrobotrys longispora</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—
13	<i>Botrytis cinerea</i>	+++	+++	++	+	—	—	—	—	—	—
14	<i>Chaetomium globosum</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
15	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
16	<i>C. herbarum</i>	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-
17	<i>Curularia tuberculata</i>	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	<i>Cunninghamella echinulata</i>	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	<i>Eupenicillium sp.</i>	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
20	<i>Fusarium oxysporum</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-
21	<i>F. solani</i>	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	<i>F. javanicum</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-
23	<i>F. avenaceum</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
24	<i>Humicola brevis</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-
25	<i>Mortierella jenkini</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-
26	<i>M. isabelina</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-
27	<i>M. vancea</i>	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	<i>Mucor corticola</i>	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
29	<i>M. globosus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
30	<i>M. racemosus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
31	<i>M. piriformis</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-
32	<i>Raecilomyces lilacinus</i>	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-



Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
33	<i>Penicillium sp1</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-
34	<i>Penicillium sp2</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
35	<i>Penicillium sp3</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
36	<i>Penicillium sp4</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
37	<i>Penicillium sp5</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-
38	<i>Penicillium sp6</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
39	<i>Penicillium sp7</i>	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-
40	<i>Penicillium sp8</i>	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-
41	<i>Penicillium sp9</i>	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-
42	<i>Phoma sp.</i>	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-	-	-
43	<i>Rhizopus oligosporus</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
44	<i>Stachybotrys alternans</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
45	<i>Trichoderma viride</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-
46	<i>T. koningii</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
47	<i>T. lignorum</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
48	<i>T. longibrachiatum</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
49	<i>Verticillium album</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-

Примечание: +++ обильный рост; ++ средний рост; + слабый рост; - отсутствие роста  
 Note: +++ abundant growth; ++ middle growth; + weak growth; - absence of growth

Соединения меди, серебра и ртути в концентрациях до 1 ПДК стимулировали накопление биомассы и спороношение у микромицетов рода *Penicillium* [2].

В наших экспериментах при совместном воздействии азотнокислых солей меди, цинка, никеля и кадмия уже при минимальном содержании тяжелых металлов в среде наблюдалось ингибирование образования биомассы у *T. longibrachiatum*, *F. oxysporum*, *A. niger* и *Penicillium sp1*, тогда как у *A. alternata* и *A. wentii* она статистически достоверно не отличалась от контроля. Вместе с этим, у первой группы видов большее снижение биомассы (на 49–65%) было характерно для *F. oxysporum* и *A. niger*. Возрастание концентрации ионов тяжелых металлов до 1 и 1,5 ПДК приводило к уменьшению накопления биомассы всеми микромицетами, причем наименьшие темпы (до 33%) были у *A. alternata*, а наибольшее (74,3%) – у *Penicillium sp1*. Полученные результаты свидетельствуют как об увеличении синергического влияния ионов тяжелых металлов, так и о его видоспецифичности. При максимальном содержании тяжелых металлов в среде биомасса *Penicillium sp1* уменьшалась в 7,3 раза по сравнению с контролем, у *A. wentii* и *A. alternata* до 5 раз, тогда как у остальных видов составляла 15–19% от контроля.

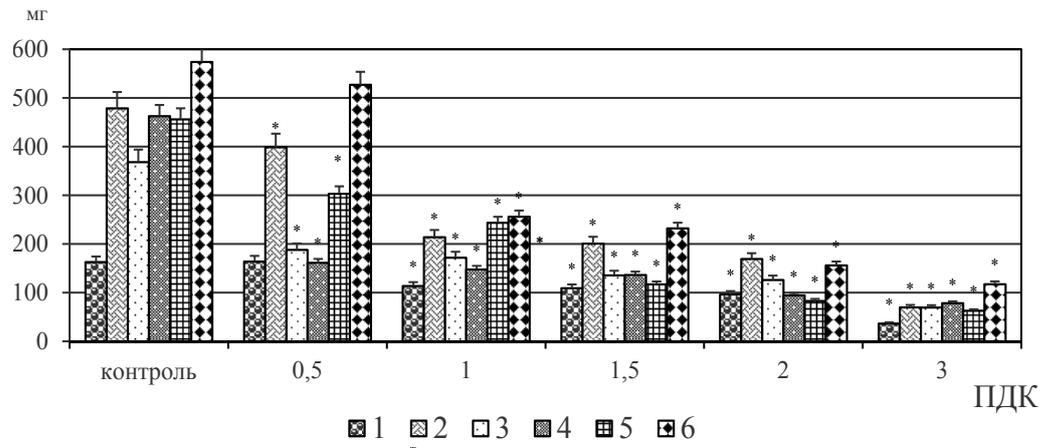


Рис.1. Биомасса микромицетов на среде Чапека с разным содержанием соединений тяжелых металлов (мг)

*Alternaria alternata* (1), *Trichoderma longibrachiatum* (2), *Fusarium oxysporum* (3), *Aspergillus niger* (4), *Penicillium sp1* (5), *Aspergillus wentii* (6), \* – статистически достоверная разница относительно контроля,  $p < 0.05$ .

Fig.1. Biomass of micromycetes on the Чапек medium with different maintenance of heavy metals compounds (mg)

*Alternaria alternata* (1), *Trichoderma longibrachiatum* (2), *Fusarium oxysporum* (3), *Aspergillus niger* (4), *Penicillium sp1* (5), *Aspergillus wentii* (6), \* – statistically reliable difference in relation to control at  $p < 0.05$ .



Наиболее чувствительными к минимальному содержанию тяжелых металлов в среде Чапека были 10% исследованных тест-штаммов, тогда как при их максимальной концентрации не переставали расти 8% культур микромицетов. Наибольшее ингибирование синтеза биомассы (в 7,3 раза) отмечено у *Penicillium sp1*.

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Евдокимова Г.А. Микроорганизмы тундровых и лесных подзолов Кольского Севера / Евдокимова Г.А., Мозгова Н.П. // — Апатиты: Изд-во КНЦ РАН, 2001. — 184 с.
2. Жилин О.В. Биосорбция и трансформация золота и сопутствующих тяжелых металлов микромицетами: Автореф. дис канд. биол. наук: спец. 03.00.07. “Микробиология” / Жилин О.В. — Благовещенск, 2003. — 12 с.
3. Ильин Д.Ю. Влияние селена на рост и развитие микромицетов-продуцентов биологически активных веществ: Автореф. дис. канд. биол. спец. 03.00.24. “Микология” / Ильин Д.Ю. — Москва, 2001. — 12 с.
4. Іутинська Г.О. Резистентність ґрунтових мікроорганізмів до забруднення ґрунтів важкими металами / Іутинська Г.О., Петрушка З.В. // Мікробіол. журн. — 1999. — Т. 61, № 5. — С. 72–77.
5. Коріновська О.М. Загальна характеристика чисельності та видового складу мікроміцетів в ґрунтах забруднених сполуками важких металів / Коріновська О.М., Гришко В.М. // Біологічні системи. Науковий вісник Чернівецького університету. — 2012. — Вип. 2. — Т. 2 (4) — С. 176–179.
6. Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов / Марфенина О.Е. — М.: Медицина для всех, 2005. — С. 45–47.
7. Мельник В.А. Определитель грибов России класс *Hyphomycetes*, сем. *Dematiaceae* / Мельник В.А. — Спб.: Наука, 2000. — 358 с.
8. Методы экспериментальной микологии / под. ред. В.И. Билай. — К.: Наукова думка, 1982. — 432 с.
9. Олішевська С.В. Сорбція іонів міді ґрунтовими мікроміцетами / Олішевська С.В., Василевська А.І., Фоміна М.О., Манічаєв В.Й. // Мікробіол. журн. — 2006. — Т. 68, № 4 — С. 60–70.
10. Cervantes C. Copper resistance mechanism in bacteria and fungi / Cervantes C., Gutierrez-Corona F. // FEMS Microbiol Rev. — 1994. — Vol. 14, № 2. — P. 121–137.
11. Christensen M.A. View of fungal ecology / Christensen M.A. // Mycologia. — 1989. — Vol. 81, № 1. — P. 1–19.
12. Domsh K.H. Compendium of soil fungi / Domsh K.H., Gams W., Andersen T.H. — London: Acad. Press, 1993. — Vol. 1. — 859 p.
13. Ellis M.B. Dematiaceus hyphomycetes / Ellis M.B. — Common. Mycol. Inst.: Kew, 1993. — 608 p.
14. Modern concept in *Penicillium* and *Aspergillus* classification / Ed. by R.A. Samson, J.I. Pitt. — New York: Plenum Press, 1990. — 460 p.

Стаття надійшла до редакції 29.08.12.



**В.М. Гришко, О.М. Кориновська**

Криворізький ботанічний сад НАН України, вул. Маршака, 50,  
Кривий Ріг, 50089, Україна, тел.: +38 (097) 852 83 51,  
e-mail: Korinovskaya2009@yandex.ru

## **СТІЙКІСТЬ МІКРОМІЦЕТІВ ДО СУМІСНОЇ ДІЇ СПОЛУК ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

### **Реферат**

Досліджено стійкість мікроміцетів до сумісної дії азотнокислих сполук кадмію, цинку, нікелю і плюмбуму. Найчутливішими до мінімального вмісту (0,75 ГДК) сполук важких металів в середовищі Чапека були *Absidia butleri* Lendn, *Mortierella vanecae* Dixon-Stewart, *Cunninghamella echinulata* Thaxter, *Curvularia tuberculata* Jain і *Fusarium solani* (C. Mart.) Appel et Wollenw, тоді як у *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *Penicillium sp4* і *Mucor globosus* Ficher спостерігався помірний ріст навіть за максимальної концентрації (50 ГДК). Найбільше інгібування синтезу біомаси (у 7,3 рази) за концентрації іонів важких металів в середовищі 3 ГДК відмічено у *Penicillium sp1*.

Ключові слова: мікроміцети, важкі метали, стійкість, біомаса.

**V.M. Gryshko, O.N. Korinovska**

Kryvyi Rig Botanical Garden, NASU,  
50, Marshaka str., Kryvyi Rig, 50089, Ukraine, tel.:+38 (097) 852 83 51,  
e-mail: Korinovskaya2009@yandex.ru

## **MICROMYCETES STABILITY TO THE HEAVY METALS COMPOUNDS JOINT ACTION**

### **Summary**

It has been studied the micromycetes stability to the joint action of nitric acid compounds of cadmium, zinc, copper, nickel and lead. Most sensible to minimum maintenance (0.75 MPC) of heavy metals compounds in the Chapek medium were *Absidia butleri* Lendn, *Mortierella vanecae* Dixon-Stewart, *Cunninghamella echinulata* Thaxter, *Curvularia tuberculata* Jain and *Fusarium solani* (C. Mart.) Appel et Wollenw, while at *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *Penicillium sp4* and *Mucor globosus* Ficher moderate growth was observed even at a maximal concentration (50 MPC). The most inhibition of biomass synthesis (in 7.3 times) at the concentration of heavy metal ions in medium 3 MPC is marked at *Penicillium sp1*.

Key words: micromycetes, heavy metals, stability, biomass.

