

## Устойчивость почвенных микромицетов *Trichoderma viride* и *Alternaria alternata* к тяжёлым металлам Cu и Pb

© 2022. Е. В. Федосеева<sup>1</sup>, к. б. н., с. н. с., А. П. Кирюшина<sup>1</sup>, к. б. н., м. н. с., Д. И. Стом<sup>2,3</sup>, д. б. н., профессор, В. А. Терехова<sup>4</sup>, д. б. н., профессор,

<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова, 119071, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33,

<sup>2</sup>Иркутский государственный университет 664074, Россия, г. Иркутск, ул. Лермонтова, д. 83,

<sup>3</sup>Иркутский национальный исследовательский технический университет, 664003, Россия, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, д. 1,

<sup>4</sup>Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, 119234, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12,

e-mail: elenfedoseeva@gmail.com, apkiryushina@gmail.com, stomd@mail.ru, vtterekhova@gmail.com

Тяжёлые металлы (ТМ) в почве вызывают изменения в соотношении резистентных и чувствительных видов грибов, механизмы взаимодействия между которыми недостаточно изучены. Цель работы – изучение устойчивости к катионам Cu и Pb и антагонистических свойств двух видов почвенных микромицетов *Alternaria alternata* и *Trichoderma viride*. Устойчивость грибов оценивали по накоплению биомассы, диаметру колоний и интенсивности спороношения. Антагонистическую активность грибов оценивали методом встречных культур. Рассчитанные эффективные концентрации меди и свинца и индексы толерантности грибов позволили заключить, что и *A. alternata*, и *T. viride* являются высоко устойчивыми к Cu и Pb. Обнаружены видовые различия в тест-реакциях: развитие колоний *A. alternata* подавляется в большей степени, чем *T. viride*, однако стимуляция спороношения под воздействием ТМ у альтернрии выражена сильнее по сравнению с быстрорастущей триходермой. Исследуемый штамм *T. viride* оказался конкурентоспособным по отношению к фитопатогенному грибу *A. alternata* как в среде без ТМ, так и в их присутствии. Полученные данные могут быть полезны для прогноза фитопатогенной активности микромицетов на фоне химического загрязнения и динамики накопления того или иного вида грибов в неблагоприятных экологических условиях.

**Ключевые слова:** токсичность, тяжёлые металлы, *Alternaria*, *Trichoderma*, толерантность, биомасса, скорость роста, спороношение.

## Resistance of soil micromycetes *Trichoderma viride* and *Alternaria alternata* to heavy metals Cu and Pb

© 2022. E. V. Fedoseeva<sup>1</sup> ORCID: 0000-0002-4229-7338, A. P. Kiryushina<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-5374-0238, D. I. Stom<sup>2,3</sup> ORCID: 0000-0001-9496-2961, V. A. Terekhova<sup>4</sup> ORCID: 0000-0001-9121-639X

<sup>1</sup>A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, 33, Leninskiy Prospekt, Moscow, Russia, 119071,

<sup>2</sup>Irkutsk State University,

1, Karla Marksa St., Irkutsk, Russia, 664003,

<sup>3</sup>Irkutsk National Research Technical University,

83, Lermontova St., Irkutsk, Russia, 664074,

<sup>4</sup>Lomonosov Moscow State University,

GSP-1, 1-12, Leninskie Gory, Moscow, Russia, 119234,

e-mail: elenfedoseeva@gmail.com, apkiryushina@gmail.com,

stomd@mail.ru, vtterekhova@gmail.com

ity. The antagonistic activity of fungal species was assessed by competition test. The calculated effective concentrations and tolerance indices made it possible to conclude that *A. alternata* and *T. viride* are highly resistant to the investigated HMs. At the same time, species differences in the patterns of reactions were found. The growth of *A. alternata* colonies was inhibited to a greater extent than *T. viride*, however at the same HM concentration, the stimulation of sporulation in *Alternaria* was more pronounced than in the rapidly growing *Trichoderma*. The studied strain *T. viride* turned out to be quite competitive with respect to the phytopathogenic fungus *A. alternata*, and its antagonistic properties were well pronounced in the medium with HM. The data obtained can be useful for predicting the phytopathogenic activity of micromycetes against the background of chemical pollution and the dynamics of accumulation of various fungal species under adverse environmental conditions.

**Keywords:** toxicity, heavy metals, *Alternaria*, *Trichoderma*, tolerance, biomass, growth rate, sporulation.

Загрязнение тяжёлыми металлами (ТМ) может оказывать такое влияние на почвенные грибы, которое в итоге способно привести к нарушению биохимических циклов веществ и функционирования почвенных экосистем в целом [1–5]. Многие ТМ накапливаются в почвах в результате промышленной деятельности или чрезмерного использования пестицидов на основе ТМ [6]. Медь присутствует в низких концентрациях в почве и живых организмах [7]. В незагрязнённых почвах концентрация меди колеблется от 20 до 100 мг/кг [8], в агроценозах – от 200 до 1000 мг/кг [7], в почвах промышленных зон может достигать показателей выше 7000 мг/кг [9]. Концентрация свинца в почвах, подверженных промышленному загрязнению, в среднем варьирует от 34 до 348 мг/кг [9] и может достигать показателя 2420 мг/кг [10]. Почвенные микроорганизмы первыми подвергаются токсическому воздействию ТМ в загрязнённых почвах и в ответ способны на формирование устойчивого грибного комплекса [4, 5, 11]. Наибольшее количество изолятов металл-устойчивых грибов было получено из обогащённых Pb сред [12], что, возможно, связано с меньшей токсичностью этого металла для грибов.

Постоянно растущее загрязнение почв ТМ является тревожной ситуацией, что инициирует разработку различных подходов к их детоксикации [2, 6, 11, 13]. Грибы могут играть важную роль в восстановлении экологического качества почвенных экосистем благодаря их высокой устойчивости и различным механизмам адаптации к загрязнению ТМ. Наиболее распространённой группой почвенных грибов являются виды из отдела Ascomycota, обилие которых достигает 80% всей микобиоты [3, 12, 14]. Представители Ascomycota могут представлять собой альтернативу пестицидам и применяться для улучшения качества почв и продовольственных культур [13, 15]. В условиях загрязнения ТМ Ascomycota способны сохранять своё доминирование, претерпевая при этом структурные перестройки. Эти из-

менения вызваны выделением толерантных видов и снижением частоты встречаемости чувствительных видов [16]. В литературе *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Penicillium* и *Alternaria* чаще всего упоминаются как металл-устойчивые роды («metal tolerant genera») (табл. 1). Среди устойчивых к ТМ грибов интересны представители рода *Trichoderma*, распространённые в почвах разных агроклиматических зон. Грибы триходерма устойчивы к ряду агрохимикатов, ТМ и органическим загрязняющим веществам (ЗВ), их широко используют в сельском хозяйстве в качестве стимуляторов роста растений и для биологической борьбы с фитопатогенами [4, 15, 17]. Другие металл-устойчивые грибы из родов *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* и *Alternaria*, наоборот, способны к проявлению фитопатогенных свойств.

Степень устойчивости микромицетов к ТМ определяется разными факторами: условиями биотопа и видовыми особенностями, токсичностью металла и его концентрацией [22]. Поступление катионов ТМ в грибные клетки индуцирует изменения на клеточном и организменном уровнях, что в итоге приводит к изменениям в сообществах. Устойчивость микромицетов проявляется в степени сокращения диаметра и скорости роста колоний, нарушению образования конидий, ингибированию прироста биомассы [4, 6]. Устойчивость к ТМ связана с разнообразными стратегиями адаптации грибов [11, 13, 23, 24]. Недостаточные сведения о реакциях важных в хозяйственном отношении микромицетов на присутствие в среде ТМ, отсутствие представлений об изменениях антагонистических свойств на фоне химического загрязнения почв осложняют понимание механизмов возникновения эпифитотий в агроценозах.

Цель работы – сравнение показателей устойчивости к ТМ (Cu и Pb) и антагонистических свойств двух распространённых видов почвенных микромицетов – *Trichoderma viride* и *Alternaria alternata*.

Таблица 1 / Table 1

Резистентные к металлам почвенные микромицеты и источники выделения  
Metal-resistant soil micromycetes and sites of their isolation

Микромицеты Micromycetes	Источники выделения грибов Isolation sites	Ссылки Reference
<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. flavus</i> , <i>Penicillium verruculosum</i> , <i>P. citrinum</i>	Почвенные образцы, искусственно загрязнённые Ni, Pb, Cr, Cd / Soil samples artificially contaminated with Ni, Pb, Cr, Cd	[18]
<i>Fusarium</i> , <i>Mortierella</i>	Почвы заброшенных шахт, загрязнённые Pb, Cd, Cu и Zn (Южная Корея) / Soils of abandoned mines contaminated with Pb, Cd, Cu and Zn (South Korea)	[5]
<i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Umbelopsis</i> , <i>Pochonia</i>	Образцы лесной почвы, искусственно загрязнённые Zn, Fe, Cu, Ni, Cd, Cr (США) / Forest soil samples artificially contaminated with Zn, Fe, Cu, Ni, Cd, Cr (USA)	[12]
<i>Aspergillus</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Geotrichum</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Penicillium</i>	Вода и осадки, загрязнённые городскими сточными водами с Pb, Cr, Cu, Zn, Cd / Water and sediments contaminated by municipal wastewater with Pb, Cr, Cu, Zn, Cd	[19]
<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>Trichoderma asperellum</i> , <i>Penicillium simplicissimum</i> , <i>P. janthinellum</i>	Донные отложения реки, загрязнённые ТМ (Малайзия) / River sediments contaminated with HM (Malaysia)	[20]
<i>Acremonium persicinum</i> , <i>Penicillium simplicissimum</i> , <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Alternaria chlamydosporigena</i> , <i>Fusarium verticillioides</i>	Почвы из района добычи Pb и Zn (Иран) / Soils from Pb and Zn mining area (Iran)	[21]
<i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Mucor</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Botrytis</i>	Почвы, загрязнённые Fe, Zn, Ni, Cr, Cu, Co, Pb, Cd (Саудовская Аравия) / Soils contaminated with Fe, Zn, Ni, Cr, Cu, Co, Pb, Cd (Saudi Arabia)	[14]

### Материалы и методы исследования

**Грибные культуры и дизайн эксперимента.** Объектами исследования были почвенные штаммы: меланин-продуцирующий фитопатогенный гриб *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (1912) и *Trichoderma viride* Pers.:Fr. (1974). Микромицеты инкубировали при 22 °C в колбах с жидкой средой Чапека или в чашках Петри, содержащих агаризованную среду Чапека. В экспериментах на жидких питательных средах суспензию спор вносили в колбы со 100 мл среды Чапека до создания плотности спор  $10^5$ – $10^6$  ед./мл и инкубацию проводили на шейкере. В таких случаях грибная биомасса была представлена мицелиальными пеллетами и не продуцировала споры. На твёрдые среды грибной инокулюм переносили бактериологической петлей из пробирок с маточной культурой, спорообразование учитывали на 4–8 сут.

**Тяжёлые металлы.** Соли ТМ (сульфат меди и нитрат свинца) добавляли в среды одновременно с внесением грибного инокулюма. Методом кратных разведений создавали градиент

концентраций от 1 до 0,001 г/л в пересчёте на ионы Cu и Pb. Измеряли конечные точки роста грибов (fungal endpoints): биомассу мицелия, диаметр грибной колонии и продуктивность конидий. При выборе катионов металлов и испытываемых концентраций солей ориентировались на публикации об устойчивости грибов к ТМ [12, 20, 21].

**Оценка ростовых показателей грибных культур.** Биомассу мицелия собирали при фильтровании жидкой культуры на обеззоленные бумажные фильтры. Мицелий высушивали при 103 °C до постоянного веса, взвешивали. Кинетические показатели скорости роста колоний оценивали в чашках Петри по изменению диаметра колоний, который фиксировали с помощью линейки каждые два дня. Этот метод оценки по кинетическим показателям широко используется при анализе структурно-функциональной организации микобиоты в почвах [25]. Интенсивность спороношения рассчитывали по продукции конидий на мм<sup>2</sup>. Для этого вырезали три равных участка агаризованной среды со споро-

носным мицелием от центра к краю колонии микробиологическим сверлом. Вырезанные участки помещали в 5 мл дистиллированной воды с небольшим добавлением детергента (Твин-80), встряхивали, а затем суспензию спор фильтровали через капроновое сито. Интенсивность спороношения рассчитывали с помощью камеры Горяева согласно опубликованным рекомендациям [26]. Контролем служила питательная среда без ТМ.

**Оценка антагонистических свойств методом встречных культур.** Антагонистическую активность видов грибов, потенциально обладающих супрессорной активностью по отношению к фитопатогенам, оценивали методом встречных культур [27]. Диски, вырезанные с края активно растущей колонии антагониста и патогена, помещали в чашку Петри с агаризованной питательной средой Чапека, учитывали радиус колонии патогена, как обращённый навстречу колонии антагониста (Ra), так и в перпендикулярном (контрольном) направлении (Rc).

**Статистическая обработка.** Эксперименты проводили в 3–5 повторностях с расчётом средних арифметических и стандартных отклонений, на графиках указывали доверительный интервал. Для расчёта эффективных концентраций – ЭК90, 50, 30, 10 – применяли пробитный анализ. Индекс толерантности (ИТ) грибов рассчитывали по уравнению: ИТ (%) = показатель роста при обработке ТМ / показатель роста без обработки ТМ · 100. Зна-

чения ИТ ранжировали следующим образом [28]: 0,00–0,39 – очень низкая устойчивость к металлу; 0,40–0,59 – низкая металлостойкость; 0,60–0,79 – умеренная металлостойкость; 0,80–0,99 – высокая металлостойкость; 1,00 – очень высокая устойчивость к металлу. Все расчёты проводили в статистических программах R, Excel и ExcelStat.

**Результаты и обсуждение**

**Накопление биомассы.** В присутствии в среде роста солей обоих ТМ происходит ингибирование роста грибной биомассы. Соль меди оказывает более выраженный токсический эффект на прирост биомассы *A. alternata*, что можно проследить по величинам ЭК: рассчитанные значения для меди ниже, чем для свинца (табл. 2).

**Динамика роста колоний.** Исследованные ТМ подавляют развитие грибных колоний (рис. 1). Медь оказывает более выраженный токсический эффект на рост колоний *A. alternata* и *T. viride* (табл. 2). Судя по диаметру колоний, у быстрорастущей триходермы устойчивость к ТМ выше: ЭК50 меди для *A. alternata* на 4-ый день роста – 0,005 г/л, ЭК50 меди для *T. viride* на 4-ый день роста – 0,123 г/л; ЭК50 свинца для *A. alternata* на 4-ый день роста – 0,185 г/л, ЭК50 свинца для *T. viride* на 4-ый день роста – 0,259 г/л.

**Интенсивность спороношения** зависела от концентрации ТМ: происходило полное

**Таблица 2 / Table 2**  
 Эффективные концентрации (ЭК) Cu и Pb (г/л), отражающие 90, 50, 30 и 10% ингибирование ростовых характеристик *A. alternata* (7 сут) и *T. viride* (4 сут)\*  
 Effective concentrations (EC) of Cu and Pb (g/L) reflecting 90%, 50%, 30% and 10% inhibition of the growth points of *A. alternata* (7th day) and *T. viride* (4th day)\*

ЭК EC	Биомасса Biomass	Диаметр колонии Colony diameter		Интенсивность спороношения Sporulation activity	
	<i>A. alternata</i>	<i>A. alternata</i>	<i>T. viride</i>	<i>A. alternata</i>	<i>T. viride</i>
Cu					
ЭК90 / EC90	0,310	0,097	0,376	0,595	0,191
ЭК50 / EC50	0,046	0,005	0,123	0,316	0,054
ЭК30 / EC30	0,021	0,002	0,078	0,245	0,032
ЭК10 / EC10	0,007	0,0003	0,040	0,168	0,015
Pb					
ЭК90 / EC90	0,523	0,569	0,781	0,696	0,828
ЭК50 / EC50	0,148	0,240	0,259	0,447	0,342
ЭК30 / EC30	0,088	0,169	0,166	0,374	0,239
ЭК10 / EC10	0,042	0,101	0,086	0,287	0,141

Примечание: \* – разная длительность экспозиции обусловлена тем, что *A. alternata* и *T. viride* отличаются скоростью роста колоний.  
 Note: \* – different duration of exposure is due to the fact that *A. alternata* and *T. viride* differ in the rate of colony growth.

ингибирование при более высоких концентрациях (1 г/л) и стимулирование при меньших (0,2–0,01 г/л) (рис. 2). Как и при анализе скорости роста колоний, ЭК меди оказались ниже ЭК свинца (табл. 2). Интересно, что интенсивность спороношения стимулируется ТМ выше у альтернарии, чем у триходермы, что отражает, очевидно, различия жизненных стратегий этих двух видов. В норме обильного спорообразования быстрорастущей триходермы (*r*-стратег) достаточно для занятия новых ниш и не столь критично в условиях загрязнения ТМ. Для альтернарии, не выделяющейся высокой скоростью роста с менее интенсивным спорообразованием (типичные признаки *K*-стратегов), для успешного выживания и освоения новых ниш в неблагоприятных условиях требуется большая активация образования конидий.

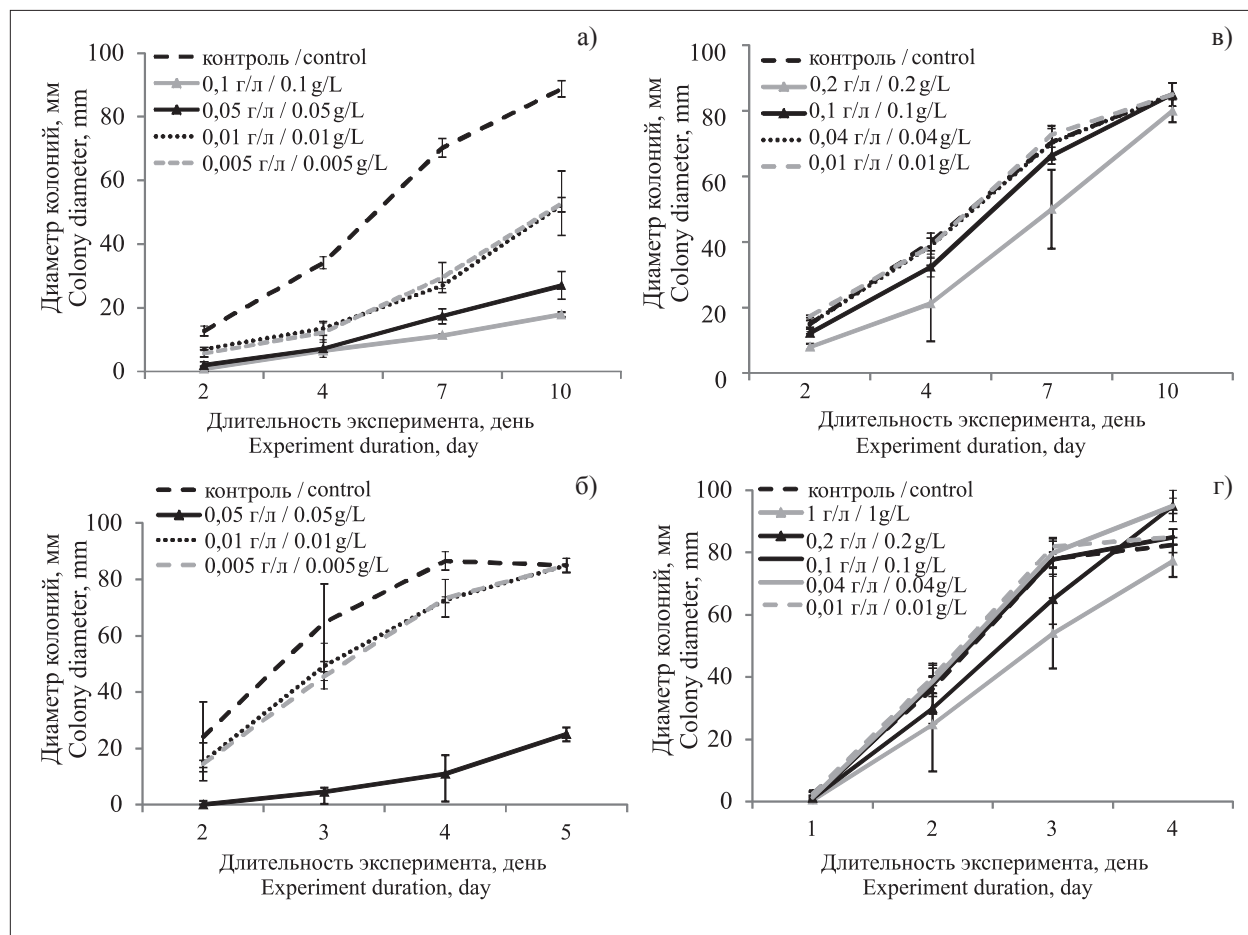
**Антагонистические свойства.** При оценке антагонизма в стандартной среде Чапека триходерма не проявляла ингибирующей активности по отношению к альтернарии ни в контроле,

ни в вариантах с ТМ (рис. 3а, б, см. цв. вкладку IV). Однако на фоне добавленного в среду гуминового препарата (0,1 г/л лигногумата) триходерма оказалась конкурентноспособной: «контрольный» радиус (Ra) роста альтернарии был значительно меньше радиуса в направлении триходермы (рис. 3в, см. цв. вкладку IV). На 3-ый день роста средний Ra *A. alternata* составлял  $15,3 \pm 0,6$  мм, а Ra *T. viride* –  $21,3 \pm 0,9$  мм.

Каждый из ростовых показателей (биомасса, диаметр колоний, продукция спор) информативен для оценки устойчивости к ТМ. Однако для объективного заключения о степени устойчивости микромицетов к загрязнению и дальнейшего прогноза динамики экспансии вида в условиях техногенной нагрузки необходимо учитывать их в комплексе.

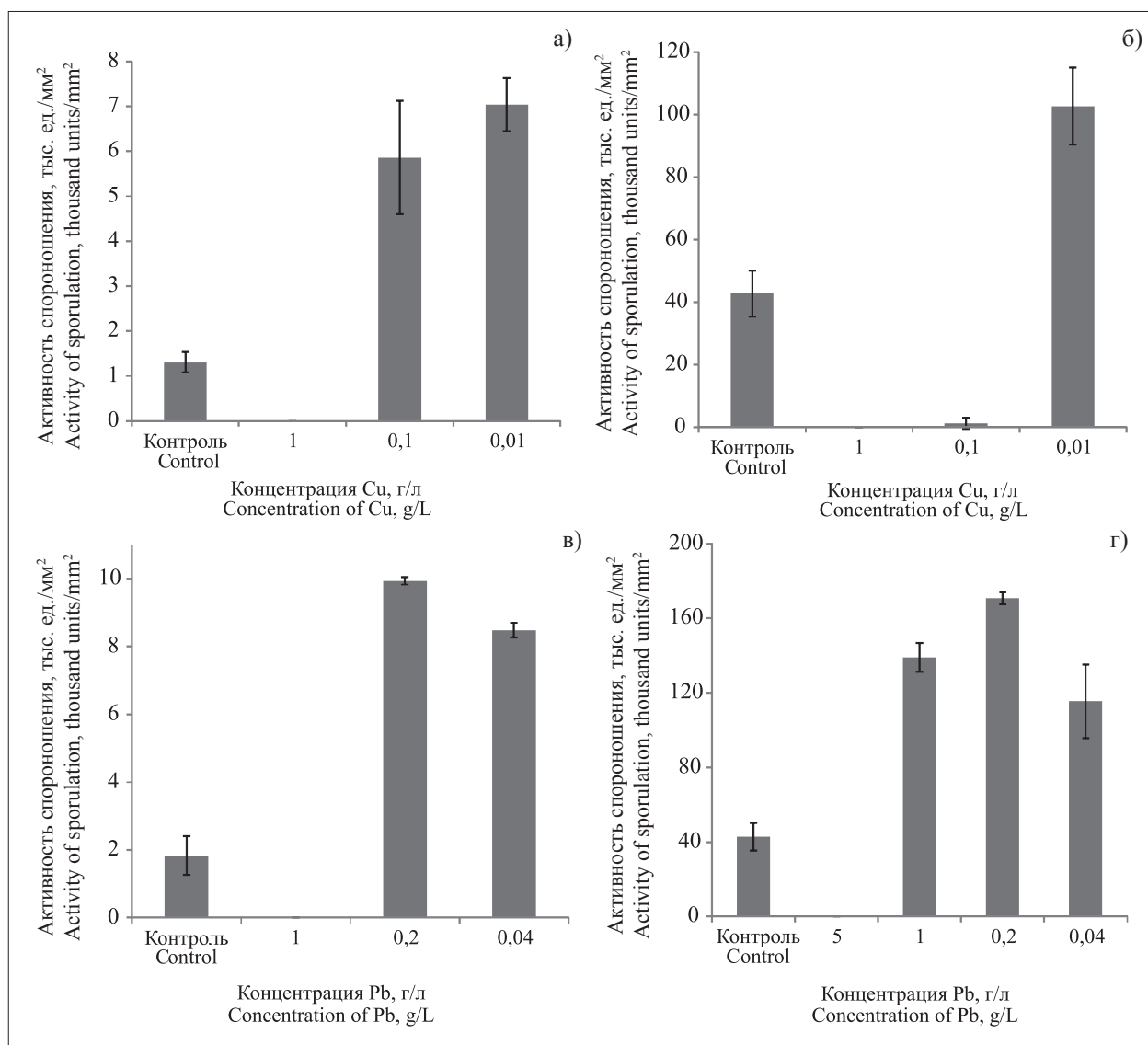
Для сравнения степени устойчивости исследованных грибов нами привлечены данные исследований, характеризующие устойчивость других микромицетов (табл. 4).

Расчёт ИТ грибов представляется удобным инструментом сравнения их степени



**Рис. 1.** Динамика роста колоний грибов *A. alternata* в присутствии катионов: а) Cu, в) Pb; *T. viride* в присутствии катионов б) Cu, г) Pb  
**Fig. 1.** Growth dynamics of fungal colonies *A. alternata* in the presence of cations: а) Cu, в) Pb; *T. viride* in the presence of cations б) Cu, г) Pb





**Рис. 2.** Интенсивность спороношения грибов *A. alternata* в присутствии катионов:

а) Cu, в) Pb; *T. viride* в присутствии катионов б) Cu, г) Pb  
**Fig. 2.** Intensity of fungal sporulation *A. alternata* in the presence of cations:  
 а) Cu, в) Pb; *T. viride* in the presence of cations б) Cu, г) Pb

**Таблица 3 / Table 3**

Индексы толерантности (ИТ) грибов *A. alternata* (7 сут) и *T. viride* (4 сут)\*  
 к катионам Cu и Pb на основании оценки ростовых показателей  
 Tolerance indices (IT) of *A. alternata* (7th day) and *T. viride* (4th day)\*  
 to Cu and Pb cations based on the assessment of growth points

ИТ IT	Диаметр колонии Colony diameter		Интенсивность спороношения Sporulation activity	
	<i>A. alternata</i>	<i>T. viride</i>	<i>A. alternata</i>	<i>T. viride</i>
Cu				
0,1 г/л / g/L	0,161	0,212	4,488	0,028
0,01 г/л / g/L	0,384	0,840	5,390	2,401
Pb				
0,1 г/л / g/L	0,941	1,032	5,409	3,992
0,01 г/л / g/L	1,032	1,032	4,619	2,699

Примечание: \* – см. таблицу 1 / Note: \* – see Table 1.

Таблица 4 / Table 4

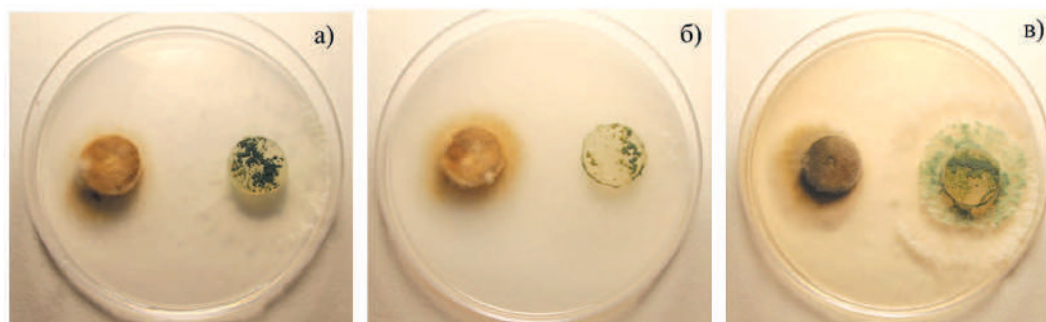
Индексы толерантности (ИТ) наиболее устойчивых микроорганизмов  
Tolerance indices (IT) of the most resistant microorganisms

Вид/штамм Species/strain	Сайт выделения Isolation site	ТМ HM	Концентрация Concentration	Тест-реакция Test-reaction	Значение ИТ IT value	Ссылка References
<i>Trichoderma citrinoviridae</i>	загрязнённая ТМ почва soil contaminated with HM	Pb	200 мг/л 200 mg/L	рост колоний colony growth	1	[6]
<i>T. reesei</i>	загрязнённая ТМ почва soil contaminated with HM	Pb	200 мг/л 200 mg/L	рост колоний colony growth	0,5	[6]
<i>T. ghanense</i>	почвы с рудников soil from mines	Pb	100–400 мг/кг 100–400 mg/kg	рост колоний colony growth	1,20–1,27	[28]
<i>T. citrinoviridae</i>	загрязнённая ТМ почва soil contaminated with HM	Cu	100 мг/л 100 mg/L	рост колоний colony growth	0,65	[6]
<i>T. reesei</i>	загрязнённая ТМ почва soil contaminated with HM	Cu	100 мг/л 100 mg/L	рост колоний colony growth	0,65	[6]
<i>T. ghanense</i>	почвы с рудников soil from mines	Cu	125–1000 мг/кг 125–1000 mg/kg	рост колоний colony growth	1,25–1,27	[28]
<i>T. asperellum</i>	лук onion	Pb	100 мг/л 100 mg/L	накопление биомассы biomass accumulation	0,83	[4]
<i>T. asperellum</i>	лук onion	Pb	–	интенсивность спорношения sporulation intensity	0,55	[4]
<i>Fusarium. fujikuroi</i>	загрязнённая ТМ почва soil contaminated with HM	Pb	200 мг/л 200 mg/L	рост колоний colony growth	0,65	[6]
<i>F. solani</i>	загрязнённая ТМ почва soil contaminated with HM	Pb	200 мг/л 200 mg/L	рост колоний colony growth	0,75	[6]
<i>F. fujikuroi</i>	загрязнённая ТМ почва soil contaminated with HM	Cu	100 мг/л 100 mg/L	рост колоний colony growth	0,78	[6]
<i>F. solani</i>	загрязнённая ТМ почва soil contaminated with HM	Cu	100 мг/л 100 mg/L	рост колоний colony growth	0,9	[6]
<i>Penicillium simplicissimum</i>	загрязнённые ТМ донные осадки sediments contaminated with HM	Pb	100–5000 мг/л 100–5000 mg/L	рост колоний colony growth	толерантен во всём диапазоне, кроме 1000 и 5000 мг/л (IT = 0,15 и 0) tolerant over the entire range except 1000 and 5000 mg/L (IT = 0.15 and 0)	[20]

<i>P. simplicissimum</i>	загрязнённые ТМ донные осадки sediments contaminated with HM	Cu	100–1000 мг/л 100–1000 mg/L	рост колоний colony growth	толерантен во всём диапазоне, кроме 1000 мг/л (IT = 0,08) tolerant over the entire range except 1000 mg/L (IT = 0.08)	[20]
<i>Aspergillus niger</i>	загрязнённая ТМ почва soil contaminated with HM	Pb	200 мг/л 200 mg/L	рост колоний colony growth	0,25	[6]
<i>A. niger</i>	загрязнённые ТМ донные осадки sediments contaminated with HM	Pb	100–5000 мг/л 100–5000 mg/L	рост колоний colony growth	толерантен во всём диапазоне, кроме 5000 мг/л (IT = 0,61) tolerant over the entire range except 5000 mg/L (IT = 0.61)	[20]
<i>A. niger</i>	загрязнённая ТМ почва soil contaminated with HM	Cu	100 мг/л 100 mg/L	рост колоний colony growth	0,3	[6]
<i>A. niger</i>	загрязнённые ТМ донные осадки sediments contaminated with HM	Cu	100–1000 мг/л 100–1000 mg/L	рост колоний colony growth	толерантен во всём диапазоне, кроме 1000 мг/л (IT = 0,36) tolerant over the entire range except 1000 mg/L (IT = 0.36)	[20]



Е. В. Федосеева, А. П. Кирюшина, Д. И. Стом, В. А. Терехова  
«Устойчивость почвенных микромицетов *Trichoderma viride*  
и *Alternaria alternata* к тяжёлым металлам Cu и Pb». С. 118.



**Рис. 3.** Фиксация антагонистических свойств методом встречных культур *A. alternata* и *T. viride*: а) на среде Чапека (контроль); б) с Pb; в) с лигногуматом  
**Fig. 3.** Fixation of antagonistic properties by the competition method of *A. alternata* and *T. viride*: a) on Czapek medium (control); b) with Pb; c) with lignohumate

резистентности к ЗВ [28]. Значения ИТ больше единицы указывают на устойчивый или толерантный характер грибов, а значения ИТ ниже единицы – чувствительный или нетолерантный характер грибов к определённому ТМ и его концентрации [28]. Исходя из степени сокращения диаметра колоний, *T. viride* можно отнести к грибам с высокой металлостойкостью (ИТ при 0,01 г/л ТМ от 0,840), а *A. alternata* – к грибам с умеренной металлостойкостью (ИТ при 0,01 г/л ТМ от 0,384) (табл. 3).

Исходя из ИТ по изменению активности спороношения, оба штамма характеризуются как высоко устойчивые. При этом ИТ тёмно-окрашенного штамма выше, что может быть обусловлено наличием меланина в клеточной стенке спор, придающего им большую устойчивость, а также более высокой стимуляцией спороношения *A. alternata* в присутствии ТМ. Сравнивая эффекты двух исследованных катионов ТМ, можно заключить, что свинец проявлял меньшую токсичность по отношению к обоим видам грибов.

Обсуждение устойчивости триходермы к ТМ важно в контексте её полезной роли в агроценозах. Известна роль *Trichoderma* в стимулировании роста растений, в качестве агента биоконтроля в сельском хозяйстве и как биоремедианта почв [15, 17]. Интересно, что изучаемый штамм *T. viride* оказался конкурентным к штамму фитопатогенного гриба *A. alternata* даже на средах с внесением с ТМ и обогащённых гуминовыми веществами.

### Заключение

Проанализированный набор ростовых показателей (накопление биомассы, диаметр колоний и продукция спор), а также рассчитанные на их основе индексы – ИТ и ЭЖ – позволили сделать вывод об общей высокой устойчивости *A. alternata* и *T. viride* к Cu и Pb. При этом видовые особенности (быстрый рост колоний триходермы и наличие меланина в спорах альтернативии) оказывают влияние на степень подавления ростовых показателей и характер устойчивости к ТМ. Эти данные могут быть полезны при прогнозировании динамики развития грибных сообществ в загрязнённых агроценозах.

*Авторы благодарят к. б. н. А. Е. Иванову за предоставление грибов из коллекции кафедры биологии почв факультета почвоведения МГУ имени М. В. Ломоносова.*

*Исследование выполнено за счёт гранта Российской государственной академии наук № 22-24-00799, <https://rscf.ru/project/22-24-00799/>.*

### References

1. Marfenina O.E. Anthropogenic ecology of soil fungi. Moskva: Medicine for everyone, 2005. 195 p. (in Russian).
2. Skugoreva S.G., Kantor G.Ya., Domracheva L.I., Sheshegova T.K. Assessment of sorption abilities of various species of *Fusarium* micromycetes in relation to heavy metal ions // Theoretical and Applied Ecology. 2019. No. 4. P. 102–109 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-4-103-109
3. Lin Y., Yea Y., Hua Y., Shia H. The variation in microbial community structure under different heavy metal contamination levels in paddy soils // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2019. V. 180. P. 557–564. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.05.057
4. Pérez-Torres E.J., Camacho-Luna V., Pérez-Ocampo S., Rodríguez-Monroy M., Sepúlveda-Jiménez G. Tolerance to oxidative stress caused by copper (Cu) in *Trichoderma asperellum* To // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2020. V. 29. Article No. 101783. doi: 10.1016/j.bcab.2020.101783
5. Chun S.-J., Kim Y.-J., Cui Y., Nam K.-H. Ecological network analysis reveals distinctive microbial modules associated with heavy metal contamination of abandoned mine soils in Korea // Environmental Pollution. 2021. V. 289. Article No. 117851. doi: 10.1016/j.envpol.2021.117851
6. Liaquat F., Haroon U., Hussain Munis M.F., Arif S., Khizar M., Ali W., Shengquan C., Qunlu L. Efficient recovery of metal tolerant fungi from the soil of industrial area and determination of their biosorption capacity // Environmental Technology & Innovation. 2020. V. 21. Article No. 101237. doi: 10.1016/j.eti.2020.101237
7. He M., Shi H., Zhao X.Y. Immobilization of Pb and Cd in contaminated soil using nano-crystallite hydroxyapatite // Procedia Environ. Sci. 2013. No. 18. P. 657–665. doi: 10.1016/j.proenv.2013.04.090
8. Tóth G., Hermann T., Da Silva M.R., Montanarella L. Heavy metals in agricultural soils of the European Union with implications for food safety // Environ. Int. 2016. V. 88. P. 299–309. doi: 10.1016/j.envint.2015.12.017
9. Trifonova T.A., Podolets A.A., Selivanov O.G., Martsev A.A., Podolets A.A. Assessment of soil contamination in the recreational areas of the city by the industrial compounds of heavy metals and arsenic // Theoretical and Applied Ecology. 2018. No. 2. P. 94–101 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2018-2-094-101/1
10. Pasqualetti M., Mulas B., Canzonetti G., Benedetti A., Tempesta S. Effects of long-term heavy metal contamination on soil fungi in the Mediterranean area // Cryptogamie, Mycologie. 2012. V. 33. No. 1. P. 43–57. doi: 10.7872/crym.v33.iss1.2012.043
11. Skugoreva S.G., Kantor G.Ya., Domracheva L.I. Biosorption of heavy metals by micromycetes: specificity of the process, mechanisms, kinetics // Theoretical and

Applied Ecology. 2019. No. 2. P. 14–31 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-2-014-031

12. Torres-Cruz T.J., Hesse C., Kuske C.R., Porrás-Alfaro A. Presence and distribution of heavy metal tolerant fungi in surface soils of a temperate pine forest // Applied Soil Ecology. 2018. V. 131. P. 66–74. doi: 10.1016/j.apsoil.2018.08.001

13. Domracheva L.I., Fokina A.I., Skugoreva S.G., Ashikhmina T.Ya. Two sides of soil fungi of the genus *Fusarium* and their metabolites: danger to biota and the possibility of use in biotechnology (review) // Theoretical and Applied Ecology. 2021. No. 1. P. 6–15. doi: 10.25750/1995-4301-2021-1-006-015

14. Alsabhan A.H., Perveen K., Alwadi A.S. Heavy metal content and microbial population in the soil of Riyadh Region, Saudi Arabia // Journal of King Saud University – Science. 2022. V. 34. Article No. 101671. doi: 10.1016/j.jksus.2021.101671

15. Kalinin A.A., Davidyuk D.S., Bokov N.A., Abubakirova R.I., Shirokikh A.A. Effect of the new biological product created on the basis of *Trichoderma* on soil microorganisms and plants of different taxons // Theoretical and Applied Ecology. 2021. No. 2. P. 115–121 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2021-2-115-121

16. Singh S., Kang S.H., Mulchandani A., Chen W. Bioremediation: environmental clean-up through pathway engineering // Curr. Opin. Biotechnol. 2008. V. 19. No. 5. P. 437–444. doi: 10.1016/j.copbio.2008.07.012

17. Gorai P.S., Barman S., Gond S.K., Manda N.C. *Trichoderma* // Beneficial Microbes in Agro-Ecology. 2020. Ch. 28. P. 571–591. doi: 10.1016/B978-0-12-823414-3.00028-9

18. Njoku K.L., Asunmo M.O., Ude E.O., Adesuyi A.A., Oyelami A.O. The molecular study of microbial and functional diversity of resistant microbes in heavy metal contaminated soil // Environmental Technology & Innovation. 2020. V. 17. Article No. 100606. doi: 10.1016/j.eti.2020.100606

19. Ezzouhri L., Castro E., Moya M., Espinola F., Lairini K. Heavy metal tolerance of filamentous fungi isolated from polluted sites in Tangier, Morocco // Afr. J. Microbiol. Res. 2009. V. 3. No. 2. P. 35–48. doi: 10.5897/AJMR.9000354

20. Iskandar N.L., Izzati Mohd Zainudin N.A., Tan S.G. Tolerance and biosorption of copper (Cu) and lead (Pb) by filamentous fungi isolated from a freshwater ecosystem // Journal of Environmental Sciences. 2011. V. 23. No. 5. P. 824–830. doi: 10.1016/S1001-0742(10)60475-5

21. Mohammadian E., Babai Ahari A., Arzanlou M., Oustan S., Hossein Khazaei S. Tolerance to heavy metals in filamentous fungi isolated from contaminated mining soils in the Zanjan Province, Iran // Chemosphere. 2017. V. 185. P. 290–296. doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.07.022

22. Ruta L., Paraschivescu C., Matache M., Avramescu S., Farcasanu I.C. Removing heavy metals from synthetic effluents using “kamikaze” *Saccharomyces cerevisiae* cells // Appl Microbiol Biotechnol. 2010. V. 85. P. 763–771. doi: 10.1007/s00253-009-2266-3

23. Fomina M., Gadd G.M. Biosorption: current perspectives on concept, definition and application // Bioresour. Technol. 2014. V. 160. P. 3–14. doi: 10.1016/j.biortech.2013.12.102

24. Korneykova M.V., Lebedeva E.V. Opportunistic fungi in the polluted soils of Kola Peninsula // Geography, Environment, Sustainability. 2018. V. 11. No. 2. P. 125–137. doi: 10.24057/2071-9388-2018-11-2-125-137

25. Netrusov A.I., Bonch-Osmolovskaya E., Gorlenko V.M., Ivanov M.V., Karavaiko G.I., Kozhevnikov P.A., Kolotilova N.N., Kotova I.B., Maksimov V.N., Nozhevnikova A.N., Semenov A.M., Turova T.P., Yudina T.G. Ecology of microorganisms. Moskva: Yurayt, 2013. 268 p. (in Russian).

26. Sanin S.S., Neklesa N.P., Sanina A.A., Pacholko E.V. Methodical recommendations on creation of infectious backgrounds for immunogenetic studies of wheat. Moskva: Russian Research Institute of Phytopathology, 2008. 68 p. (in Russian).

27. Matarese F., Sarrocco S., Gruber S., Seidl-Seiboth V., Vannacci G. Biocontrol of *Fusarium* head blight: interactions between *Trichoderma* and mycotoxigenic *Fusarium* // Microbiology. 2012. V. 158. No. 1. P. 98–106. doi: 10.1099/mic.0.052639-0

28. Oladipo O.G., Awotoye O.O., Olayinka A., Bezuidenhout C.C., Maboeta M.S. Heavy metal tolerance traits of filamentous fungi isolated from gold and gemstone mining sites // Brazilian Journal of Microbiology. 2018. V. 49. No. 1. P. 29–37. doi: 10.1016/j.bjm.2017.06.003