

Меланинсодержащие микромицеты в почвах и органических отходах

© 2022. В. А. Терехова^{1,2}, д. б. н., профессор,
Е. В. Федосеева², к. б. н., с. н. с., В. Д. Волкова¹, магистрант,
А. Е. Иванова^{1,2}, к. б. н., в. н. с., О. С. Якименко¹, к. б. н., в. н. с.,

¹Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова,
119234, Россия, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12,

²Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова Российской академии наук,
119071, Россия, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33,
e-mail: vtterekhova@gmail.com

Меланинообразование у грибов, используемых для индикации химического и радиационного загрязнения почв, зависит от состава среды и условий питания. Актуальность данного исследования обусловлена оценкой индикаторной значимости меланинсодержащих грибов в разных условиях. Исследовали структуру микобиоты в образцах техногрунта из органических компостированных отходов и в натуральных почвах, различающихся по содержанию тяжёлых металлов (ТМ) и доступных источников углеродного питания ($C_{\text{орг}}$). Общую численность микромицетов, разнообразие, представленность меланинсодержащих грибов оценивали методами посева и с помощью высокопроизводительного секвенирования генома. Оба метода показали рост числа колониеобразующих единиц (КОЕ) меланинсодержащих грибов при повышении нагрузки ТМ в образцах дерново-подзолистых почв. Однако традиционным методом посева выявлено также заметное влияние содержания $C_{\text{орг}}$ на увеличение меланизированных форм в сформировавшейся микобиоте почв с ТМ. Так, в слабогумусированной почве ($C_{\text{орг}} = 1,3\%$) внесение ТМ привело к увеличению численности КОЕ меланизированных форм на 38%, в сильногумусированной ($C_{\text{орг}} = 3,9$) – лишь на 18%. Полученные данные подтверждают положение о том, что в обеднённых углеродным питанием субстратах меланинообразование способствует повышению резистентности к окислительным стрессам. В техногрунте из компостированных отходов, несмотря на значительное содержание ТМ, в частности, кадмия, доля меланизированных грибов невелика, что, вероятно, объясняется незрелостью грибных сообществ в отходах. Сделан вывод о большей биоиндикационной информативности метода микробиологического посева перед дорогостоящим метагеномным секвенированием и эффективности его применения в экомониторинге загрязнения почв.

Ключевые слова: микоиндикация, меланин, химическое загрязнение, почва, техногрунт, органический углерод, культивируемые микромицеты, метагеномный анализ.

Melanin-containing micromycetes in soils and organic waste

© 2022. V. A. Terekhova^{1,2}, ORCID: 0000-0001-9121-639X²

E. V. Fedoseeva², ORCID: 0000-0002-4229-7338², V. D. Volkova¹, ORCID: 0000-0002-0193-840X²
A. E. Ivanova^{1,2}, ORCID: 0000-0002-0840-4400², O. S. Yakimenko¹, ORCID: 0000-0003-0499-5482²

¹Lomonosov Moscow State University,

1, Leninskie Gory, Moscow, Russia, 119991,

²A. N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences,
33, Leninsky Prospekt, Moscow, Russia, 119071,

e-mail: vtterekhova@gmail.com

Melanin formation in fungi used to indicate chemical and radiation contamination of soils depends on the composition of the environment and nutritional conditions. The relevance of this study is due to the assessment of the indicator significance of melanin-containing fungi under different conditions. The structure of mycobiota was studied in technosoil samples from organic composted wastes and in natural soils differing in the content of heavy metals (HMs) and available sources of carbon nutrition (C_{org}). The total number of micromycetes, diversity, and representation of melanin-containing fungi were assessed by inoculation method and using high-throughput genome sequencing. Both methods showed an increase in the number of colony-forming units (CFU) of melanin-containing fungi with an increase in the load of HMs in samples of soddy-podzolic soils. However, the traditional inoculation method also revealed a noticeable effect of the content of $C_{\text{орг}}$ on the increase in melanized forms in the formed mycobiota of soils with HMs. Thus, in slightly humus soil ($C_{\text{орг}} = 1.3\%$), the introduction of HMs led to an increase in the number of CFU for melanized forms by 38%,

in highly humus soil ($C_{org.} = 3.9$) only by 18%. The obtained data confirm the proposition that in substrates depleted of carbohydrate nutrition, melanin formation contributes to an increase in resistance to redox stress. In the techno-soil from composted waste, despite the significant content of HMs, in particular, cadmium, the proportion of melanized fungi is small, which is probably due to the immaturity of fungal communities in the waste. A conclusion was made about the greater bioindicative informativeness of the microbiological inoculation method before expensive metagenomic sequencing, and the effectiveness of its use in environmental monitoring of soil pollution.

Keywords: mycoindication, melanin, chemical pollution, soil, technosoil, organic carbon, cultivated micromycetes, metagenomic analysis.

Вклад почвенных микромицетов в формирование микробиомов, устойчивых к неблагоприятным факторам воздействия, как и в био-конверсию органических отходов, хорошо известен [1–4]. Высокую адаптивность к стрессовым условиям грибам обеспечивают пигменты меланинового ряда. Присутствие биомолекул меланина определяет высокую сорбционную способность микромицетов по отношению к тяжёлым металлам (ТМ) [4], обеспечивая их высокую адаптацию к загрязнению. Грибной меланин обладает антиоксидантной активностью, защищает от негативных факторов физической и химической природы [5, 6].

Меланинпродуцирующие грибы нередко доминируют по встречаемости и биомассе в микробиомах с экстремальными условиями [7–10]: при повышенной инсоляции в высокогорных районах и в пустынях, при высоких концентрациях солей, низких температурах и влажности, в условиях техногенного загрязнения. На этом основании их относят к индикаторам неблагополучного состояния объектов окружающей среды (ОС) и разных типов негативных антропогенных воздействий [11, 12], в частности, техногенного химического, например, ТМ и неметаллами [12], или радиоактивного загрязнения [10, 13].

Меланиногенез и стрессоустойчивость грибов зависят от источников углеродного питания грибов. Так, у штаммов *Purpureocillium lilacinum* (Thom) Luangsa-Ard, Hou-Braken, Nywel-Jones & Samson (2011), резистентных к высоким концентрациям меди и другим ТМ, при низкой концентрации глюкозы устойчивость к окислительному стрессу выше [14, 15]. В целом у многих грибов-экстремофилов устойчивость к среде обитания сопряжена с ограниченным потреблением субстратов [16]. В этой связи для экологического мониторинга важно представлять индикаторную значимость меланинсинтезирующих грибов в разных почвенных условиях, а также то, влияет ли обеспеченность питанием на биоиндикационный потенциал этих грибов.

Цель нашей работы заключалась в изучении структуры микобиоты и распределения

меланинсодержащих грибов в субстратах с разным содержанием углерода органического вещества и разным уровнем загрязнения ТМ.

Объекты и методы исследования

Работу проводили на трёх видах субстратов:

– **техногрунт (Т)** – компост из твёрдых коммунальных отходов (предоставленный ООО «Эко-Граунд» с полигона в Ставропольском крае), тестируется в качестве субстрата для городского озеленения. В нашей работе исследованы исходный и 4 варианта образцов техногрунта с внесением полимерных добавок, рекомендованных для иммобилизации токсикантов [17, 18]. Модельные смеси техногрунт-полиэлектролиты содержали по 0,2% следующих полимерных составов: гидролизированный полиакрилонитрил (гипан, Г); лигногумат калия (Л); смесь Г и Л в соотношениях 1 : 1 и 1 : 2;

– **технозём (У)** – почва импактной зоны Среднеуральского медеплавильного завода (СУМЗ, Свердловская область, РФ), отобрана в 2 км от источника загрязнения;

– **агродерново-подзолистая почва (Ч1 и Ч2)**, образцы с двух полей учебно-опытного почвенно-экологического центра МГУ имени М.В. Ломоносова (Московская область, РФ), различающиеся по содержанию органического вещества: сильно (Ч1) и слабо гумусированные (Ч2), а также по степени загрязнённости ТМ. В незагрязнённые образцы агродерново-подзолистой почвы вносили смесь водных растворов трёх солей металлов для достижения концентрации Cu, Zn и Pb, равной 660, 1100 и 650 мг/кг почвы соответственно. Эти концентрации соответствовали пяти ориентировочно-допустимым концентрациям (ОДК) для каждого из этих элементов (СанПиН 1.2.3685-21). Схема внесения соответствовала применённой в работе [19].

Описание исследованных образцов экспериментальных почвенных субстратов, в которых анализировали структуру сообществ микромицетов, приведено в таблице 1.

Таблица 1 / Table 1

Характеристика исследуемых образцов / Characteristics of the studied samples

Шифр образца Sample code	Дополнительная обработка Additional processing	C _{опр.} , % C _{орг.} , %	Содержание тяжёлых металлов (ТМ), мг/кг* Content of heavy metals (HM), mg/kg*			
			Cu	Pb	Zn	Cd
Техногрунт – компостированные отходы с полигона, Ставропольский край Technosoil – composted waste from the landfill, Stavropol Krai						
Т	исходный образец (без обработки) initial sample (without processing)	3,50	3,5	7,1	85,32	0,70
ТГ TG	гипан 0,2% gipan 0.2%	3,50	3,9	7,4	85,32	0,66
ТЛ TL	лигногумат 0,2% lignohumate 0.2%	3,57	3,5	7,4	84,1	0,77
ТГЛ TGL	гипан 0,1%+ лигногумат 0,1% gipan 0.1% + lignohumate 0.1%	3,54	3,6	8,4	85,8	0,43
ТГ/2Л TG/2L	гипан 0,07% + лигногумата 0,13% gipan 0.07% + lignohumate 0.13%	3,55	3,65	6,7	84,9	0,26
Технозём – дерново-подзолистая глееватая почва, импактная зона Среднеуральского медеплавильного завода, Свердловская область / Technozem – soddy-podzolic gleyic soil, impact zone of Sredneuralsky copper smelter, Sverdlovsk Region						
У U	исходный образец (без обработки) initial sample (without processing)	5,79	1399	153,5	355,5	6,25
Почва агродерново-подзолистая, учебно-опытный почвенно-экологический центр «Чашниково», Московская область / Agro-soddy-podzolic soil, educational and experimental soil-ecological center “Chashnikovo”, Moscow Region						
Ч1 Ch1	исходный образец (без обработки) initial sample (without processing)	3,86	2,0	23,7	89,1	0,32
Ч1-ТМ Ch1-HM	добавка Cu, Pb, Zn additives Cu, Pb, Zn	3,96	485	515	1170	0,55
Ч2 Ch2	исходный образец (без обработки) initial sample (without processing)	1,30	9,3	10,1	32,0	0,19
Ч2-ТМ Ch-HM	добавка Cu, Pb, Zn additives Cu, Pb, Zn	1,40	596	712	1191	0,15

Примечание: *Подвижные формы ТМ.
Note: *Bioavailable forms of HMs.

Таким образом, экспериментальные почвенные субстраты отличались друг от друга степенью гумусированности (содержание C_{опр.}) и степенью загрязнённости (содержание ТМ).

Микологический анализ. Оценка структуры комплексов культивируемых видов грибов проведена методом посева почвенной суспензии на агаризованную среду Чапека стандартного состава. Для предотвращения роста бактерий добавляли антибиотик стрептомицин. Культивировали микромицеты в термостате при 23–24 °С.

Определяли число колониеобразующих единиц (КОЕ, тыс. / г почвы) и культурально-морфологических типов (КМТ) колоний на 10-е сутки роста согласно формуле [20]:

КОЕ = (количество колоний в чашке · разведение) / мл суспензии · k,

где k – коэффициент пересчёта на абсолютно-сухую массу почвы.

Для оценки разнообразия рассчитывали индекс Шеннона и Пиелу, а также долю меланинсодержащих (резистентных к ТМ) колоний микромицетов в процентах от всех выросших колоний.

Метод высокопроизводительного секвенирования генома. Анализ структуры и разнообразия микобиоты почв осуществляли также молекулярно-генетическим методом. Работы по метагеномному анализу проводили в сервисной лаборатории «Knomics-biota» (<https://biota.knomics.ru/>). Методом высокопроизводительного секвенирования ITS – последовательностей кластера генов рРНК – исследовали микобиоту четырёх образцов агродерново-подзолистой почвы до и

после загрязнения ТМ. К меланинсодержащим формам относили таксономические единицы грибов на основании описательных характеристик или иллюстративных материалов (www.indexfungorum.org, www.mycobank.org, mycolab.pp.nchu.edu.tw).

Статистическая обработка данных. Массив полученных данных был использован для проведения корреляционно-регрессионного и факторного анализов. Переменными выступали: доля меланизированных видов, уровень S_{opr} , концентрации Cu, Zn, Pb и Cd. Статистический анализ данных и их визуализацию выполняли с помощью программ Excel, XLStat и R-Statistics. Индекс Шеннона и Съёренсена рассчитывали в приложении Synecol.

Результаты и обсуждение

Анализ структуры сообществ культивируемых микромицетов

Общая численность грибов. Численность КОЕ микромицетов оказалась достаточно высокой в образцах натуральных почв, даже несмотря на высокое содержание в некоторых образцах ТМ. Среди этих образцов наименьшее значение 67,8 тыс. КОЕ/г определено в исходном образце слабо гумусированной почвы (Ч2), а наибольшее 106 тыс. КОЕ/г –

в образце сильно гумусированной агродерново-подзолистой почвы (Ч1) (рис. 1). Заметно выделялись по общей численности микромицетов образцы техногрунта: значения варьировали от 12,2 тыс. до 33,2 тыс. КОЕ/г для образцов ТГ/2Л и ТЛ соответственно.

Разнообразие. В образцах агродерново-подзолистых почв без и с ТМ индекс разнообразия, рассчитанный по КМТ, был в пределах 1,04–1,43 (табл. 2). Эти значения заметно выше, чем в других образцах, содержащих отходы. Преобладающими в посевах проб техногрунта были представители рр. *Penicillium*, *Mucor*, *Trichoderma*. На фоне невысокой численности грибов в образцах техногрунта наблюдались низкие показатели как разнообразия (индекс Шеннона), так и доминирования (индекс Пиелу).

Небольшое разнообразие грибных сообществ в субстратах, произведённых из органических отходов, как в самих отходах, связывают с незрелостью компоста [1]. Сообщества микромицетов с редуцированным видовым составом (4–6 видов) и доминированием таких видов, как *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Paecilomyces varioti*, *Penicillium funiculosum*, *P. chrysogenum*, *Scopulariopsis brevicaulus*, могут служить индикаторами непригодности компоста. Высокое видовое разнообразие микромицетов, напротив, свидетельствует о зрелости компоста, как и сни-

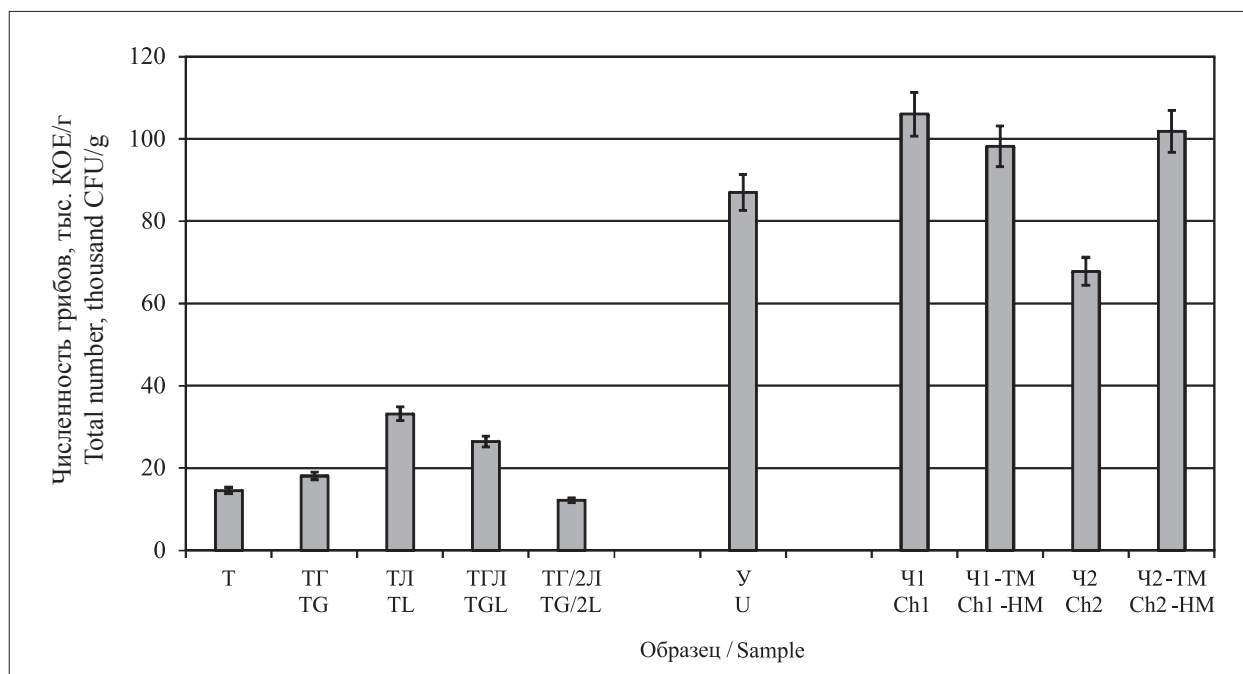


Рис. 1. Общая численность микроскопических грибов в субстратах, тыс. КОЕ/г.

Даны средние значения и планки стандартной погрешности (5%)

Fig. 1. Total number of microscopic fungi in substrates, thousand CFU/g
Average values and standard error bars are given (5%)

Таблица 2 / Table 2

Характеристика разнообразия культивируемых микромицетов в образцах
Characterization of the diversity of cultivated micromycetes in samples

Образцы Samples	Индекс разнообразия по Шеннону Shannon diversity index		Индекс доминирования по Пиелу Pielu dominance index	
	среднее average	стандартное отклонение standard deviation	среднее average	стандартное отклонение standard deviation
T	0,62	0,13	0,18	0,04
TГ / TG	0,83	0,36	0,24	0,10
TЛ / TL	0,42	0,29	0,12	0,08
TГЛ / TGL	0,52	0,17	0,15	0,05
TГ/2Л / TG/2L	0,95	0,75	0,27	0,22
У / U	0,27	–	–	–
Ч1 / Ch1	1,43	–	–	–
Ч1-ТМ / Ch1-HM	1,36	–	–	–
Ч2 / Ch2	1,04	–	–	–
Ч2-ТМ / Ch-HM	1,17	–	–	–

Примечание: / Note: «–» – не определяли / not determined.

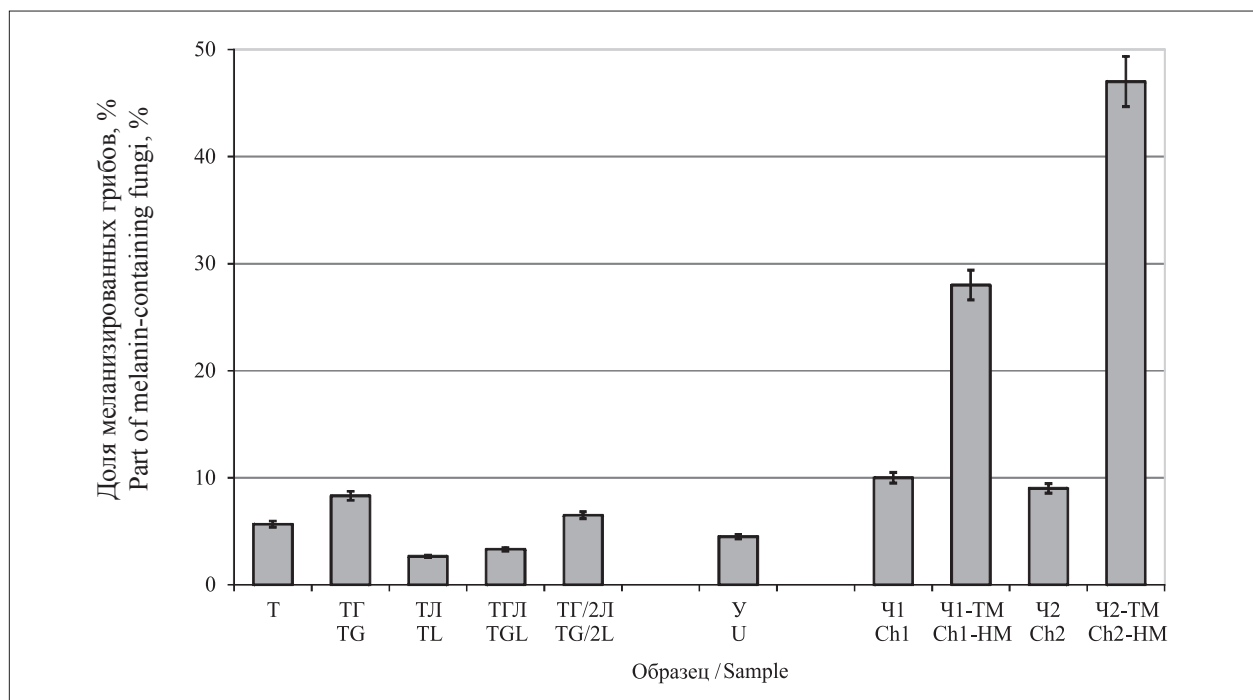


Рис. 2. Доля меланинсодержащих грибов в исследуемых субстратах (КОЕ, %). Даны средние значения и планки стандартной погрешности (5%)
Fig. 2. Share of melanin-containing fungi in the studied substrates (CFU, %). Average values and standard error bars are given (5%)

жение активности продуцентов экзогенных целлюлаз. Перечисленные выше виды имеют большое функциональное значение в деградации отходов на промежуточных этапах компостирования, особенно на стадии термогенеза. Результаты анализа сообществ микромицетов, колонизирующих компосты, могут служить, по мнению некоторых авторов, показателями пригодности компоста [1].

Меланинсодержащие грибы. В образцах произведённого из компостированных отходов техногрунта наблюдалась низкая численность КОЕ меланинсодержащих грибов (от 2,66 до 8,33%) (рис. 2). Это вполне ожидаемо, поскольку уровень загрязнения этих образцов ТМ невысок и преобладали грибы с гиалиновым мицелием, унаследованные, скорее всего, из отходов. Одновременно, в технозёме

(У) из импактной зоны СУМЗ также выявлено низкое обилие меланинсодержащих форм, несмотря на высокое содержание ТМ. Это можно объяснить высоким содержанием $C_{орг.}$ (5,79%). Образцы агродерново-подзолистых почв до внесения ТМ по обилию меланинсодержащих грибов практически не различались – 10 и 9% в Ч1 и Ч2 соответственно. Следует обратить внимание, что в тех же образцах при полиметаллическом загрязнении доля меланинсодержащих форм в Ч1 возросла на 18; в Ч2 – на 38% (рис. 2).

При проведении корреляционно-регрессионного и факторного анализов переменными выступали: доля меланинсодержащих форм (в регрессионном анализе – зависимая переменная), уровень $C_{орг.}$, концентрация Cu, Zn, Pb (в регрессионном анализе – независимые переменные). Для количественной оценки степени согласованности переменных друг с другом были рассчитаны коэффициенты корреляции (с коэффициентами их детерминации) (табл. 3). Значимые коэффициенты корреляции обнаружены между долей меланинсодержащих видов и концентрациями Zn и Pb (табл. 3). Значимость этих коэффициентов подтверждается коэффициентами детерминации выше 0,7 (0,911 и 0,826 для данных по

доле меланинсодержащих видов и концентрациям Zn и Pb соответственно). Коэффициент детерминации для Cd и $C_{орг.}$ менее 0,7.

Регрессионный анализ позволил оценить связь между зависимой и независимыми переменными (табл. 4).

Расчёты F -показателя, отражающего функциональную зависимость доли меланинсодержащих форм от проанализированных факторов, показали, что наибольшая регрессионная зависимость прослеживается между долей меланинсодержащих форм и концентрацией Pb: наибольшее значение F и наименьшая вероятность Pr , что подтверждает результаты корреляционного анализа (табл. 4).

Анализ главных компонент (ГК) позволил обобщить и выявить закономерности в пространственном распределении почвенных образцов в зависимости от обилия меланизированных форм, содержания ТМ и $C_{орг.}$ (рис. 3). Первая главная компонента (ГК 1) отражает преимущественно градиент распределения меланизированных форм и содержание ТМ. Вдоль ГК 1 показана чёткая дифференциация почв с низким уровнем загрязнения ТМ (слева) и с высоким содержанием внесённых ТМ (справа). Распределение образцов вдоль второй главной компоненты (ГК 2) связано

Таблица 3 / Table 3

Коэффициенты корреляции между переменными
Correlation coefficients between variables

Переменные Variables	Доля меланизированных грибов, % Percentage of melanin-containing fungi	$C_{орг.}$, % $C_{орг.}$, %	Cu	Pb	Zn
$C_{орг.}$, % / $C_{орг.}$, %	-0,481				
Cu	0,285	0,457			
Pb	0,955	-0,262	0,494		
Zn	0,909	-0,159	0,501	0,984	
Cd	-0,249	0,709	0,851	-0,026	-0,005

Примечание: значения, выделенные жирным шрифтом, отличаются от 0 с уровнем значимости $\alpha = 0,05$.
Note: values in bold are different from 0 with a significance level of $\alpha = 0,05$.

Таблица 4 / Table 4

Результаты регрессионного анализа зависимости (показатель F) доли меланинсодержащих форм грибов от учтённых переменных
The results of regression analysis of the dependence (indicator F) of the proportion of melanin-containing fungi on the variables taken into account

Независимые переменные Independent variables	Показатель зависимости, F Dependence indicator, F	Вероятность, Pr Probability, Pr
$C_{орг.}$, % / $C_{орг.}$, %	0,006	0,093
Cu	0,061	0,081
Pb	3,759	0,001
Zn	0,679	0,029
Cd	–	–

Примечание: чем ниже вероятность (Pr), тем больше вклад переменной в модель.
Note: the lower the probability (Pr), the greater the contribution of the variable to the model.

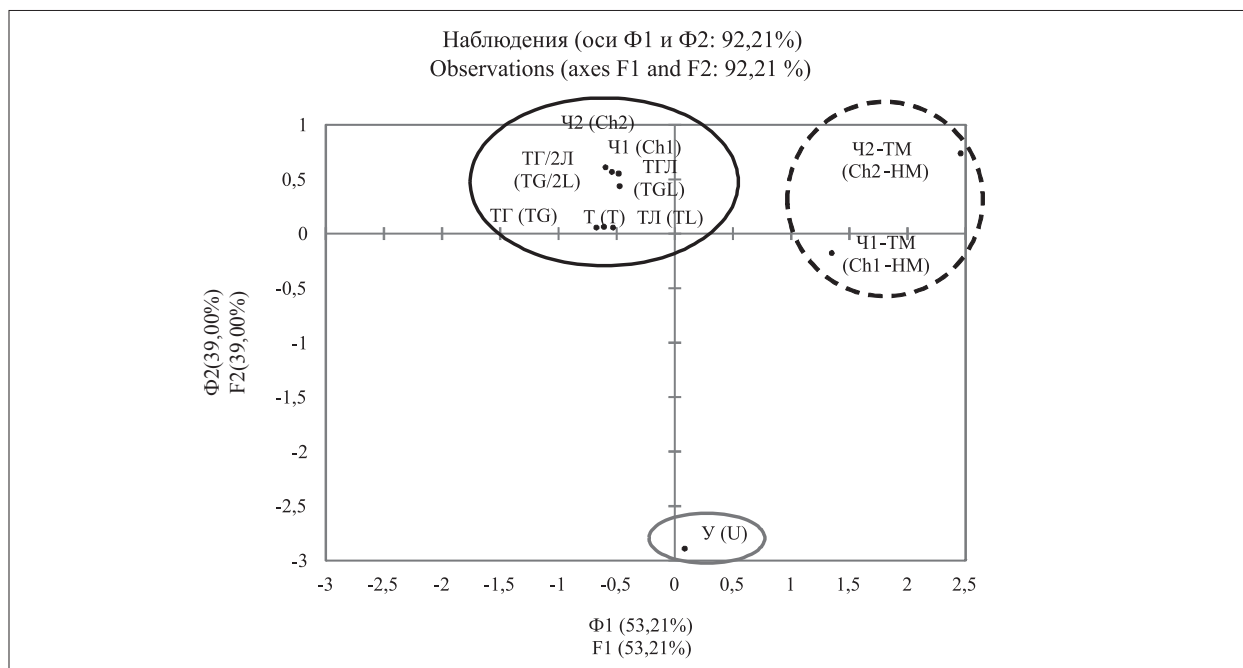


Рис. 3. Пространственное распределение образцов почв на основании факторного анализа
Fig. 3. Spatial distribution of soil samples based on factor analysis

преимущественно с содержанием $C_{орг.}$. Здесь чётко выделяется технозём, в котором наибольшее количество $C_{орг.}$.

Анализ структуры микобиоты методом высокопроизводительного секвенирования генома

В ходе молекулярно-генетического исследования микобиоты агродерново-подзолистых почв с разным содержанием $C_{орг.}$ была выявлена 181 таксономическая единица, 98 из них (54%) удалось определить до уровня вида.

Среди выявленных форм грибов большинство в обеих почвах относилось к отделу Ascomycota – 55 видов из 113 родов (рис. 4). В загрязнённых ТМ образцах доля аскомицетов немного увеличивалась.

Индекс Шеннона по данным генетического анализа был высоким: Ч1 – 4,59; Ч1-ТМ – 4,55; Ч2 – 4,62; Ч2-ТМ – 4,10. В слабо гумусированной почве (Ч2) внесение ТМ способствовало большему снижению разнообразия, чем в почве сильно гумусированной – Ч1.

Индекс Съёренсена при попарном сравнении был следующим: Ч1–Ч2 – 0,36; Ч1–Ч1-ТМ – 0,84; Ч2–Ч2-ТМ – 0,37; Ч1-ТМ–Ч2-ТМ – 0,28. Эти величины свидетельствуют об изначальном различии сообщества грибов в незагрязнённых образцах агродерново-подзолистой почвы. Внесение же ТМ приводило к более заметному изменению структуры

сообщества грибов в образцах почв с меньшим содержанием $C_{орг.}$ (0,37 для пары Ч2 и Ч2-ТМ), по сравнению с сильно гумусированными образцами (0,84 для пары Ч1 и Ч1-ТМ).

Факторный анализ и метод кластеризации показал, что отличие микобиоты Ч1 и Ч1-ТМ от второй пары образцов определяется присутствием рр. *Gibberella*, *Plectosphaerella* и *Acremonium*. Уникальность образца Ч2 определяется наличием представителей семейства Aspergillaceae, рр. *Tetracladium*, *Fusarium*, *Trichoderma* и других. А микобиоту Ч2-ТМ отличали представители семейств Didymellaceae и Clavicipitaceae, а именно р. *Metarrhizium*, включающего энтомопатогенные грибы. Заметную часть аскомицетной микобиоты составляют меланинпродуцирующие виды.

Сопоставление меланизированных форм грибов, выявленных методами посева и секвенирования генома

Увеличение доли меланинсодержащих грибов после внесения ТМ явно выражено по результатам анализа культивируемых форм: в сильно гумусированной почве (Ч1) на 18% и слабо гумусированной (Ч2) на 38%. По данным генетического анализа в Ч1 доля меланинсодержащих грибов после внесения ТМ также увеличилась на 7%, но в почве Ч2 снизилась на 9%, что может быть связано с

развитием более устойчивых видов с гиалиновым мицелием (рис. 5а).

При сравнении индексов разнообразия, полученных при анализе микобиоты двумя методами, видно (рис. 5b), что разнообразие по результатам метагеномного анализа для всех образцов значительно (в 4–6 раз) выше, чем по результатам посева. Такое расхождение в значениях ожидаемо и объясняется тем, что лишь небольшая часть (около 1%) почвенных микроорганизмов могут быть выделены на питательные среды с использованием традиционных микологических методов [21].

Заключение

В ходе анализа распределения меланизированных форм грибов в техногрунте из компостированных отходов и натуральных почвах с разным уровнем загрязнения ТМ и разным содержанием $C_{орг.}$ методом посева на питательную среду установлена значимая зависимость их содержания не только от присутствия ТМ, но и от уровня $C_{орг.}$. Показано, что ТМ в большей степени оказывают влияние на структуру микобиоты в почвах с низким содержанием $C_{орг.}$. Так, в слабогумусированной почве ($C_{орг.} = 1,3\%$) внесение ТМ привело к увеличению численности КОЕ меланизированных форм на 38%, в то время как в сильно гумусированной ($C_{орг.} = 3,9$) лишь на

18%. Полученные данные подтверждают положение о том, что в обеднённых углеродным питанием субстратах меланинообразование способствует повышению резистентности к окислительным стрессам.

В техногрунте из компостированных отходов, несмотря на значительное содержание ТМ, в частности, кадмия, доля меланизированных грибов невелика, что, вероятно, объясняется незрелостью грибных сообществ в отходах.

Метод высокопроизводительного секвенирования генома почвенных грибных сообществ показал изначальные различия сообщества грибов в незагрязнённых образцах агродерново-подзолистой почвы. Внесение ТМ приводило к более заметному изменению структуры сообщества грибов в образцах почв с меньшим содержанием $C_{орг.}$ (индекс Стьерсена 0,37 для пары Ч2 и Ч2-ТМ) по сравнению с сильно гумусированными образцами (0,84 для пары Ч1 и Ч1-ТМ).

Однако этот метод недостаточно информативен для решения задач экологического мониторинга на основе микоиндикации, он не показал заметных преимуществ перед методом посева по выявлению факторов влияния на представленность меланизированных форм в почвенных субстратах с разным содержанием $C_{орг.}$.

В данной работе была использована лишь одна традиционно рекомендуемая для выделе-

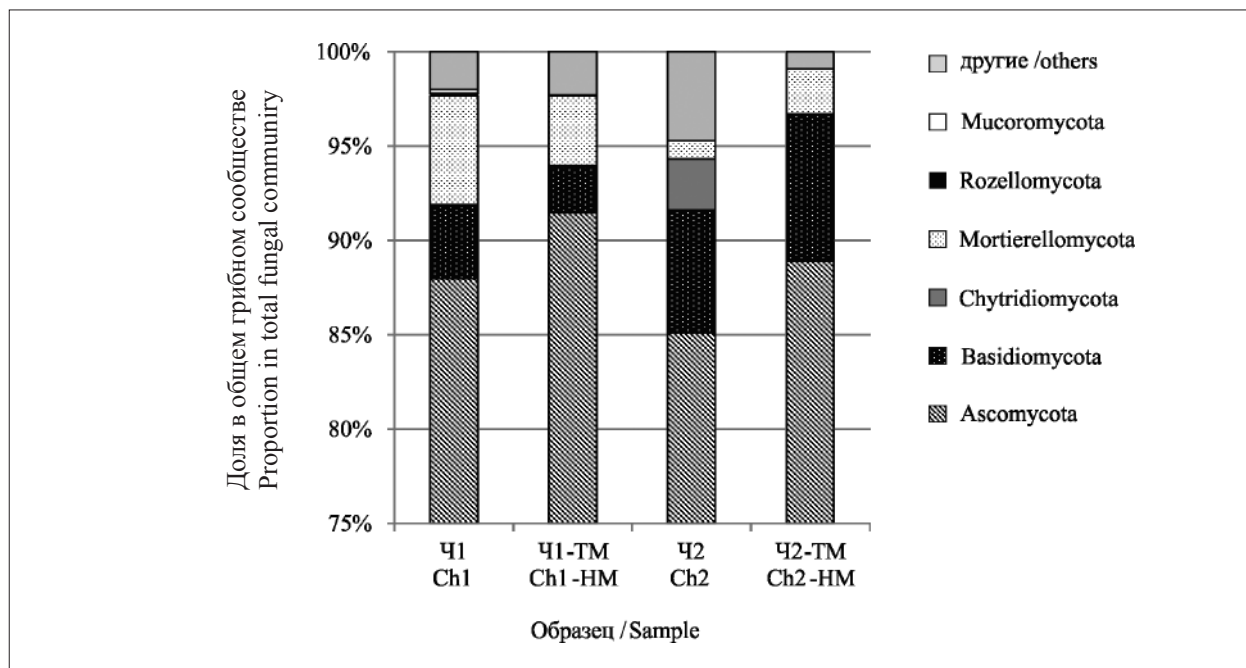


Рис. 4. Представители основных отделов грибов, выявленных в образцах агродерново-подзолистой почвы методом высокопроизводительного секвенирования генома
 Fig. 4. Representatives of the main divisions of fungi identified in samples of agro soddy podzolic soils by high-throughput genome sequencing

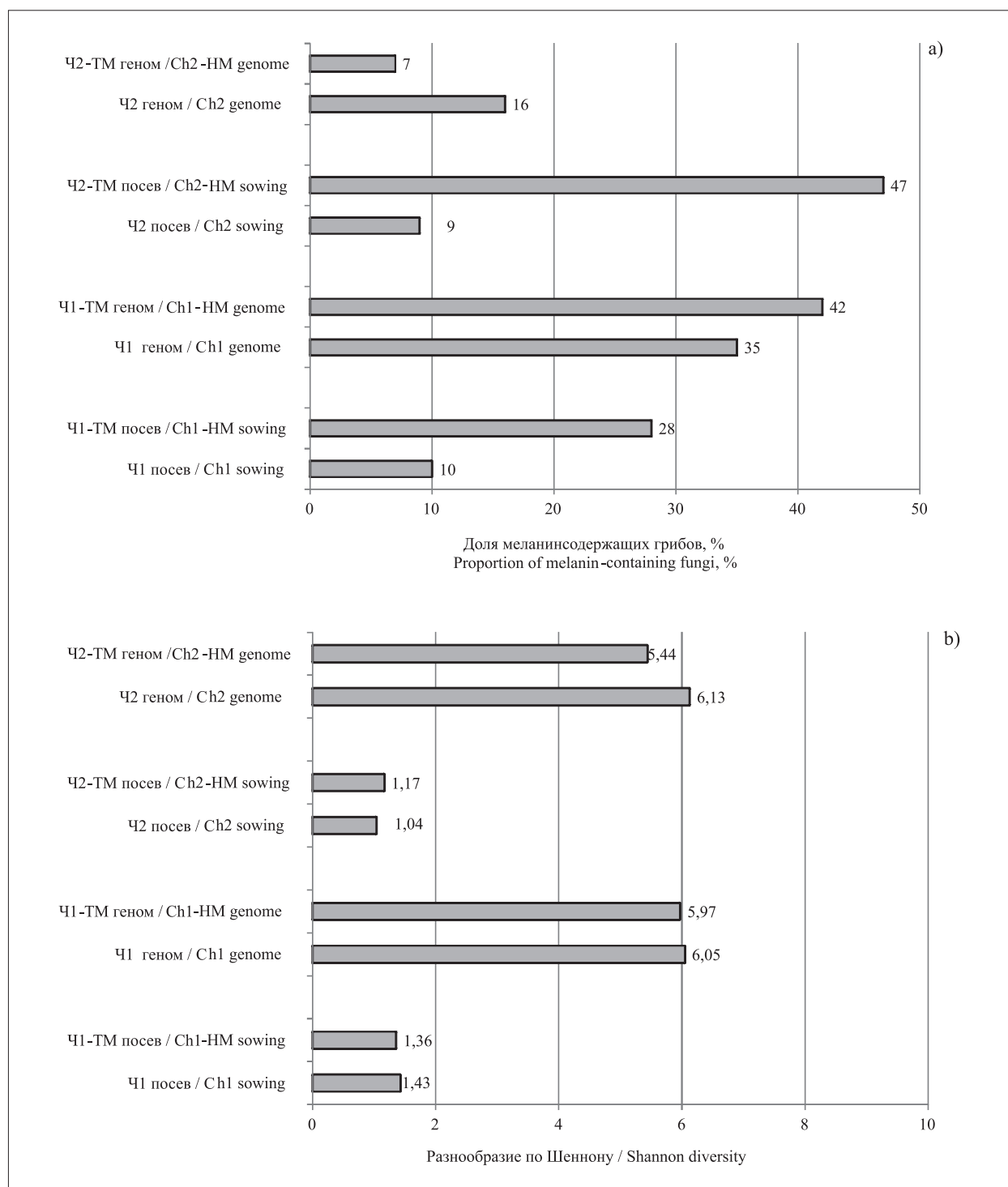


Рис. 5. Сравнение микромицетов сообществ, выявленных методами посева и метагеномного анализа: а) доля меланинсодержащих грибов (%), б) разнообразие по Шеннону
Fig. 5. Comparison of micromycetes of communities identified by inoculum method and metagenomic analysis: a) proportion of melanin-containing fungi (%), b) Shannon diversity

ния почвенного неспецифического сапротрофного комплекса питательная среда Чапека, на которой не выделяются микоризообразующие и паразитирующие грибы. Выявленное в сравнительных испытаниях с метагеномным анализом преимущество метода посева даже

в таком случае даёт основание рекомендовать его для мониторинга химического загрязнения почв. С помощью метода посева быстро и без значительных затрат можно характеризовать динамику меланизированных форм при разной техногенной нагрузке.

Работа финансируется грантом РФФ 22-24-00666 «Меланинсодержащие грибы техногенно нарушенных почв: индикация химического загрязнения и биотехнологический потенциал». Исследование выполнено в рамках Программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова «Будущее планеты и глобальные изменения окружающей среды». Авторы благодарят к. б. н. М. М. Карпухина за химические количественные анализы исследуемых образцов.

References

- Vedeniapina E.G., Lebedeva E.V., Nugaeva N.D. Formation of micromycete communities and their succession during composting of urban waste // *Mikologiya i fitopatologiya*. 2006. V. 40. No. 6. P. 517–527 (in Russian).
- Vedeniapina E.G., Lebedeva E.V., Zachinyaeva A.V., Vorobyev N.I. Mycological characteristics of composts produced by bioconversion of municipal waste // *Mikologiya i fitopatologiya*. 2010. V. 44. No. 3. P. 205–216 (in Russian).
- Karimi S., Mahboobi Soofiani N., Mahboubi A., Taherzadeh M. Use of organic wastes and industrial by-products to produce filamentous fungi with potential as aqua-feed ingredients // *Sustainability*. 2018. V. 10. Article No. 3296. doi: 10.3390/su10093296
- Skugoreva S.G., Kantor G.Ya., Domracheva L.I. Biosorption of heavy metals by micromycetes: process features, mechanisms, kinetics // *Theoretical and Applied Ecology*. 2019. No. 2. P. 14–31 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-2-014-031
- Suwannarach N., Kumla J., Watanabe B., Matsui K., Lumyong S. Characterization of melanin and optimal conditions for pigment production by an endophytic fungus, *Spissiomycetes endophytica* SDBR-CMU319 // *PloS ONE*. 2019. V. 14. No. 9. Article No. e0222187. doi: 10.1371/journal.pone.0222187
- El-Naggar N.E.A., Saber W.E.I.A. Natural melanin: current trends, and future approaches, with especial reference to microbial source // *Polymers*. 2022. V. 14. No. 7. Article No. 1339. doi: 10.3390/polym14071339
- Zhdanova N.N., Zakharchenko V.A., Haselwandter K. The fungal community // *The fungal community – its organization and role in the ecosystem* / Eds. J. Dighton, J.F. White, P. Oudemans, J.W. Bennett, P.A. Lemke. Mycology Series. CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2005. P. 759–768.
- Dighton J., Tugay T., Zhdanova N. Fungi and ionizing radiation from radionuclides // *FEMS Microbiology Letters*. 2008. V. 281. No. 2. P. 109–120. doi: 10.1111/j.1574-6968.2008.01076.x
- Grishkan I. Ecological stress: melanization as a response in fungi to radiation // *Extremophiles handbook* / Ed. K. Horikoshi. Tokyo: Springer Verlag, 2011. P. 1135–1146.
- Gessler N.N., Egorova A.S., Belozerskaya T.A. Melanin pigments of fungi under extreme conditions of existence // *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2014. V. 50. No. 2. P. 125–134 (in Russian).
- Marfenina O.E. Anthropogenic ecology of soil fungi. *Mikologiya segodnya Moskva: Natsionalnaya akademiya mikologii*, 2005. 195 p. (in Russian).
- Terekhova V.A. Micromycetes in ecological assessment of aquatic and terrestrial ecosystems. *Moskva: Nauka*, 2007. 215 p. (in Russian).
- Zhdanova N.N., Zakharchenko V.A., Vasilevskaya A.I., Shkolny A.T., Kuchma N.D., Artyshkova L.V., Sadovnikov Yu.S., Vember V.V., Nakonechnaya L.T., Kupchenko I.N., Sokolova E.V., Orlov A.A., Redchits T.I., Zheltonozhsky V.A., Sadovnikov L.V., Lashko T.N., Zheltonozhskaya M.V., Grodzinskaya A.A., Syrchin S.A., Vasser S.P., Karpenko Yu.V., Pavlichenko A.K., Olishevskaya S.V., Tugai T.I. Mycobiota of Ukrainian Polesye: consequences of the chernobyl catastrophe. *Kyiv: Naukova Dumka*, 2013. 383 p. (in Russian).
- Aslanidi K.B., Ivanova A.E., Gessler N.N., Egorova A.S., Belozerskaya T.A. Comparative study of adaptation to oxidative stress factors in strain of mycelial fungus *Paecilomyces lilacinus* from Chernobyl Exclusion Zone and strains of the same species inhabiting areas with background level of radioactive contamination // *Radiats Biol Radioecol*. 2009. V. 49. No. 4. P. 425–431. doi: 10.1134/S0869803109040067
- Belozerskaya T.A., Gessler N.N. Mechanisms of adaptation of fungi of Chernobyl Zone to stressors // *Mikologiya segodnya. Natsionalnaya akademiya mikologii*. 2016. V. 3. P. 12–31 (in Russian).
- Gostincar C., Muggia L., Grube M. Polyextremotolerant black fungi: oligotrophism, adaptive potential, and a link to lichen symbioses // *Front Microbiol*. 2012. V. 3. Article No. 390. doi: 10.3389/fmicb.2012.00390
- Sikder A., Pearce A.K., Parkinson S.J., Napier R., O'Reilly R.K. Recent trends in advanced polymer materials in agriculture related applications // *ACS Applied Polymer Materials*. 2021. V. 3. No. 3. P. 1203–1217. doi: 10.1021/acsapm.0c00982
- Yakimenko O., Ziganshina A., Terekhova V., Panova I., Gladkova M., Timofeev M., Yaroslavov A. Ecotoxicity of polyelectrolyte formulations in water and soil matrices // *Environmental Science and Pollution Research*. 2022. P. 1–11. doi: 10.1007/s11356-022-20449-x
- Terekhova V.A., Prudnikova E.V., Kulachkova S.A., Gorlenko M.V., Uchanov P.V., Sushko S.V., Ananyeva N.D. Microbiological indicators of heavy metals and carbon-containing preparations applied to agrosoddy-podzolic soils differing in humus content // *Eurasian Soil Science*. 2021. V. 54. No. 3. P. 448–458. doi: 10.1134/S1064229321030157
- Zvyagintsev D.G. *Methods of soil microbiology and biochemistry*. Moskva: Izdatelstvo Moskovskogo gosudarstvennogo universiteta, 1991. 304 p. (in Russian).
- Torsvik V., Daae F.L., Sandaa R.A., Ovreas L. Novel techniques for analysing microbial diversity in natural and perturbed environments // *Journal of Biotechnology*. 1998. V. 64. No. 1. P. 53–62.
- Terekhova V.A. Fungal communities in monitoring of soil // *Functioning of soils in changing environmental conditions* / Eds. V.A. Terekhova, S.A. Shoba. Moskva: GEOS, 2015. P. 50–54 (in Russian).