

УДК 502.521:631.461

О. М. Коріновська, В. М. Гришко

Криворізький ботанічний сад НАН України

ЧУТЛИВІСТЬ МІКРОМІЦЕТІВ ДО ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Визначено чутливість 33 видів мікроміцетів до азотнокислих сполук купруму, плюмбуму, цинку, нікелю та кадмію. Найчутливішими до мінімального вмісту (0,75 ГДК) важких металів у середовищі виявились *Absidia butleri* Lendn, *Mortierella vanesae* Dixon-Stewart, *Cunninghamella echinulata* Thaxte, *Curvularia tuberculata* Jain, *Cladosporium cladosporioides* (Fresen) G. A. de Vries і *Fusarium solani* (C. Mart.) Appel et Wollenw, тоді як у *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl і *Penicillium sp. 4* спостерігався помірний ріст за максимальної концентрації (50 ГДК). За мінімального вмісту іонів важких металів на початковому етапі дії (до 48 год) прискорюється ріст лише *Fusarium oxysporum* E. F. Sm. et Swingle, тоді як у інших видів збільшення вмісту важких металів у середовищі уповільнює ріст.

О. Н. Кориновская, В. Н. Гришко

Криворожский ботанический сад НАН Украины

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МИКРОМИЦЕТОВ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ

Определена чувствительность 33 видов микромицетов к азотнокислым соединениям купрума, плюмбума, цинка, никеля и кадмия. Чувствительными к минимальному содержанию (0,75 ПДК) тяжелых металлов в среде оказались *Absidia butleri* Lendn, *Mortierella vanesae* Dixon-Stewart, *Cunninghamella echinulata* Thaxte, *Curvularia tuberculata* Jain, *Cladosporium cladosporioides* (Fresen) G. A. de Vries и *Fusarium solani* (C. Mart.) Appel et Wollenw, тогда как у *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl и *Penicillium sp. 4* наблюдался умеренный рост при максимальной концентрации (50 ПДК). При минимальном содержании ионов тяжелых металлов на начальном этапе действия (до 48 ч) ускоряется рост лишь *Fusarium oxysporum* E. F. Sm. et Swingle, тогда как у других видов увеличение содержания тяжелых металлов в среде замедляет их рост.

О. N. Korinovskaya, V. N. Gryshko

Kryvyi Rih Botanical Garden NAS of Ukraine

MICROMYCETES SENSITIVENESS TO HEAVY METALS

The sensitivity of 33 micromycete species to nitric compounds of copper, lead, zinc, nickel and cadmium has been determined. *Absidia butleri* Lendn, *Mortierella vanesae* Dixon-Stewart, *Cunninghamella echinulata* Thaxte, *Curvularia tuberculata* Jain, *Cladosporium cladosporioides* (Fresen) G. A. de Vries and *Fusarium solani* (C. Mart.) Appel et Wollenw are sensitive to minimal content of the heavy metals (0.75 of maximum permissible concentration (MPC)) in the growth medium. At the same time *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl and *Penicillium sp. 4* demonstrated moderate growth under maximal concentration (50 MPC). It is determined that minimal content of the heavy metals in the initial stage of influence (up to 48 h) promotes growth of only *Fusarium oxysporum* E. F. Sm. et Swingle, while retards growth of the other species.

Вступ

У результаті антропогенного навантаження до навколишнього середовища потрапляють різноманітні поллютанти, серед яких найнебезпечніші – сполуки важких металів [4]. У м. Кривий Ріг вагомих внесок (понад 80 %) у забруднення довкілля вносять підприємства металургійної та гірничозбагачувальної промисловості [1]. Забруднення ґрунтів викидами підприємств призводить до перебудови структурно-функціональної організації мікробіоценозів. При цьому змінюється видовий і кількісний склад мікроорганізмів, зокрема ґрунтових мікроскопічних грибів, які беруть активну участь у підтриманні гомеостазу ґрунту. У багатьох мікроміцетів, зокрема представників родини *Dematiaceae*, відмічається доволі висока стійкість до цього типу забруднення [14; 19].

Для оцінки та прогнозування наслідків різного типу забруднення іонами важких металів використовують визначення структури та функціонування комплексу мікроміцетів [20]. Резистентність ґрунтових мікроскопічних грибів до важких металів проявляється у здатності рости при значно вищих, ніж граничні, концентраціях елементів. На сьогодні відомо декілька типів взаємодії мікроміцетів із важкими металами, які зумовлюють резистентність: обмеження поглинання елементів, відкладання елементів у середині клітини у нешкідливій формі, виключення з метаболізму клітини ланки, чутливої до певного металу [21; 22]. Останніми роками активно обговорюється можливість використання мікроміцетів як біологічних індикаторів рівня забруднення ґрунтів [5; 8; 9]. Тобто вивчення впливу останніх на ґрунтові мікроскопічні гриби, зокрема, їх реакції на підвищений рівень токсичних сполук може мати як наукове, так і практичне значення. Тому мета цієї роботи – оцінити чутливість мікроміцетів до комплексної дії сполук важких металів.

Матеріал і методи досліджень

Матеріал для дослідження – 33 види мікроміцетів, виділені із техноземів промислових підприємств (м. Кривий Ріг) та чорнозему звичайного (с. м. т. Петрове Кіровоградської області). Ідентифікацію мікроміцетів здійснювали за визначниками зарубіжних і вітчизняних авторів [1; 3; 10; 11; 16; 17]. Культивували їх на агаризованому середовищі Чапека із додаванням суміші азотнокислих солей $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$, $Ni(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, $Pb(NO_3)_2$ із розрахунку гранично допустимих концентрацій (ГДК) для кожного елемента (Cu – 3,0, Cd – 3,0, Ni – 4,0, Pb – 20,0 і Zn – 23,0 мг/л живильного середовища) у концентраціях 0,75, 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20 і 50 ГДК. Ріст колоній на середовищі Чапека без важких металів був контролем. Для визначення радіальної швидкості росту вимірювали діаметр колоній (протягом 8 діб у двох взаємно перпендикулярних напрямках) і розраховували радіальну швидкість росту [7; 13].

Результати та їх обговорення

Мікроміцети мають різну чутливість до підвищеного вмісту важких металів (табл.). Одним з основних механізмів стійкості мікроскопічних грибів є утворення хелатів металів за рахунок продукування позаклітинних метаболітів, які утворюють нерозчинні комплекси з іонами важких металів [15; 18]. Наші експерименти показали, що 18 % видів мікроміцетів – найчутливіші до підвищення рівня важких металів. Вони припиняли ріст вже під впливом мінімальної концентрації поллютантів (*Absidia butleri* Lendn, *Mortierella vanesae* Dixon-Stewart, *Cunninghamella echinulata* Thaxte, *Curvularia tuberculata* Jain, *Cladosporium cladosporioides* (Fresen) G. A. de Vries і *Fusarium solani* (C. Mart.) Appel et Wollenw.). Із підвищенням вмісту важких металів до 5 ГДК відсутність росту виявили 27 % досліджених видів, у тому числі *Mucor corticola*

Hagem, *Botrytis cinerea* Persoon ex Fries, *Aspergillus wentii* Thom et Church. Подальше зростання концентрації сполук до 7 і 10 ГДК не зменшувало частку резистентних видів порівняно з попереднім варіантом дослідю. За концентрації 15 ГДК росли 45 % видів, з яких добрий ріст мали 27 %, а слабкий – 15 % культур.

Таблиця

Ріст мікроміцетів на середовищі Чапека з різним умістом важких металів

Вид	Кон- троль	0,75 ГДК	1 ГДК	3 ГДК	5 ГДК	7 ГДК	10 ГДК	15 ГДК	20 ГДК	50 ГДК
<i>Absidia butleri</i> Lendn	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
<i>Aspergillus nidulans</i> (Eidam) Wint	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-
<i>A. ustus</i> (Bainier) Thom et Church	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-
<i>A. ochraceus</i> G. Wilh	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-
<i>A. niger</i> Tegn	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-
<i>A. versicolor</i> Tiraboschi. Thom et Church	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-	-	-
<i>A. wentii</i> Thom et Church	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
<i>Athobotrus longispora</i> Preuss	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-	-	-
<i>Cunninghamella echinulata</i> Thaxte	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Curvularia tuberculata</i> Jain	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen) G. A. de Vries	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Botrytis cinerea</i> Persoon ex Fries	+++	++	++	+	-	-	-	-	-	-
<i>Mucor corticola</i> Hagem	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
<i>Fusarium oxysporum</i> E. F. Sm. et Swingle	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-
<i>F. javanicum</i> Koorders	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-
<i>F. solani</i> (C. Mart.) Appel et Wollenw.	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>F. avenaceum</i> (Corda: Fr.) Sacc	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
<i>Penicillium sp. 1</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-
<i>P. sp. 2</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
<i>P. sp. 3</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
<i>P. sp. 4</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
<i>P. sp. 5</i>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-
<i>P. sp. 6</i>	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
<i>Mortierella jenkini</i> Naumov	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	-	-
<i>M. isabelina</i> Oudem	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-
<i>M. vanesae</i> Dixon-Stewart	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Rhizopus oligosporus</i> Saito	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
<i>Trichoderma viride</i> Pers	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-
<i>T. koningii</i> Oudemans	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
<i>T. lignorum</i> (Tode) Harz	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-	-	-
<i>T. longibrachiatum</i> Rifai	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
<i>Verticillium album</i> (Preus) Pidopliczko	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-

Примітки: «+++» – дуже добрий ріст, «++» – добрий ріст, «+» – помірний ріст, «-» – відсутність росту.

На середовищі з умістом важких металів 20 ГДК не припиняли рости 30 % мікроміцетів (*Penicillium sp. 1*, *Aspergillus nidulans* (Eidam) Wint, *A. ustus* (Bainier) Thom et Church, *Mortierella isabelina* Oudem, *Fusarium oxysporum* E. F. Sm. et Swingle та *F. javanicum* Koorders), тоді як чутливими до зазначеного вмісту важких металів виявилися *Penicillium sp. 5*, *Mortierella jenkini* Naumov, *Aspergillus niger* Tegn, *A. ochraceus*

G. Wilh, *Trichoderma viride* Pers. Високу резистентність до досліджених сполук проявляли лише *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl і *Penicillium sp. 4*, які мали слабкий ріст навіть за їх максимальної концентрації.

Радіальна швидкість росту – один із інтегральних показників розвитку мікроміцетів, який відображає їх реакцію на вплив різних екологічних чинників [6; 12]. Аналіз отриманих даних свідчить про залежність інтенсивності росту мікроскопічних грибів від вмісту сполук важких металів у живильному середовищі. Наші експерименти показали, що лише для *F. oxysporum* на початковому етапі (до 48 год.) дії зазначених сполук у мінімальній концентрації спостерігається прискорення росту, на що вказує збільшення діаметра колоній на 30 % (рис. 1а).

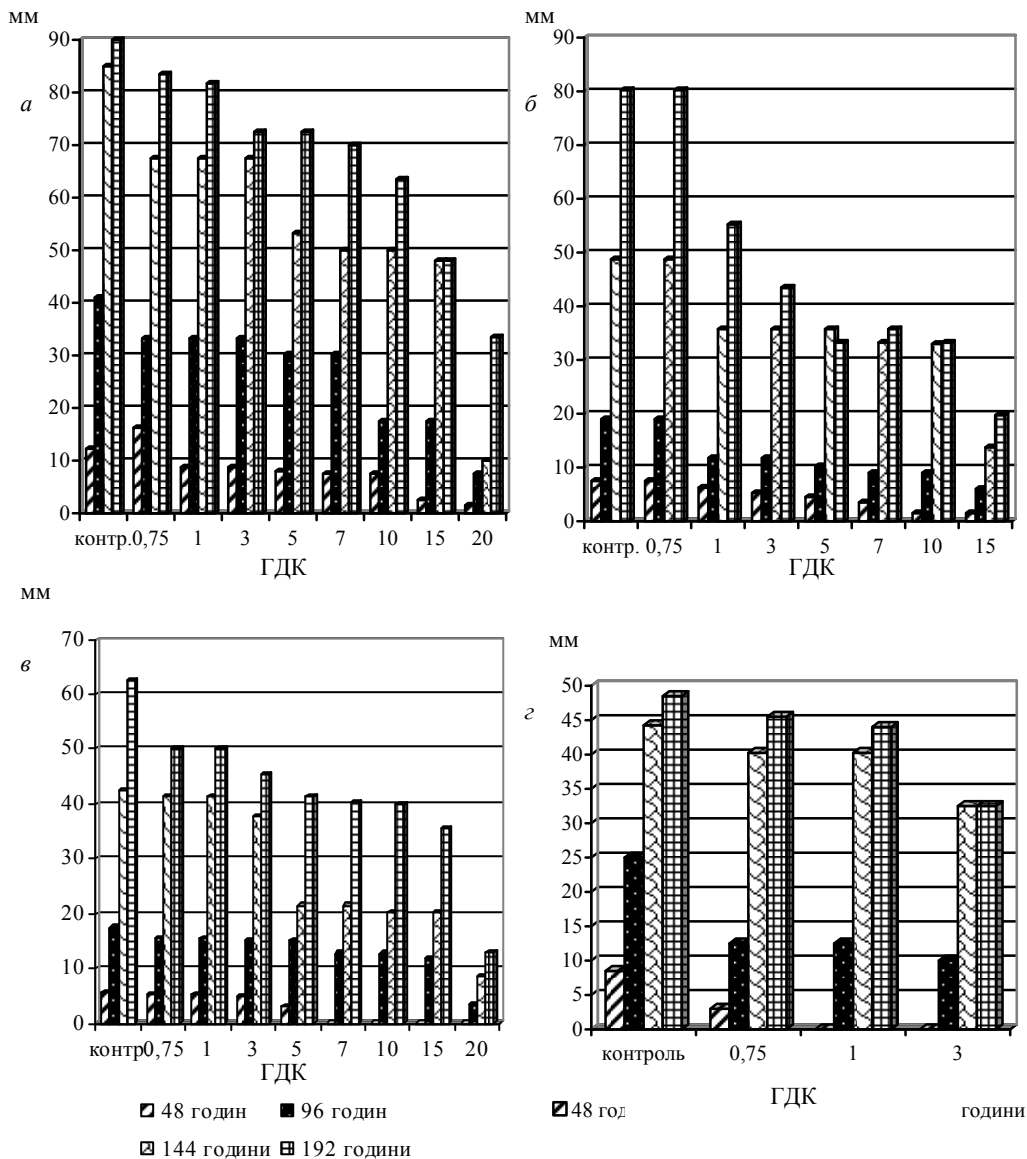


Рис. 1. Діаметр колоній *Fusarium oxysporum* (а), *Aspergillus ochraceus* (б), *Penicillium sp. 1* (в), *Mucor corticola* (з) на середовищі Чапека із різним вмістом сполук важких металів

У 9 % мікроміцетів (*A. ochraceus*, *A. versicolor* і *Penicillium sp. 5*) за мінімальної концентрації сполук важких металів протягом усього експерименту діаметр колоній статистично достовірно не відрізнявся від контролю (рис. 1б), а у 18 % видів був однаковим за дії важких металів у концентраціях 0,75 і 1 ГДК (рис. 1в). У 79 % вивчених видів упродовж усього терміну культивування швидкість росту зменшувалась на 20–40 % (рис. 1з). Тобто для більшості мікроміцетів спільна ознака – зменшення діаметра колоній за підвищеного рівня важких металів.

Проте досліджені мікроміцети розрізнялись за радіальною швидкістю росту і в умовах контролю (рис. 2). Так, 23 % видів мали досить високу швидкість росту (0,3–0,5 мм/год.), тоді як у 70 % швидкість росту була нижчою (0,11–0,29 мм/год.) і лише у *Penicillium sp. 6*, *B. cinerea* та *A. longispora* була низькою (0,03–0,09 мм/год.).

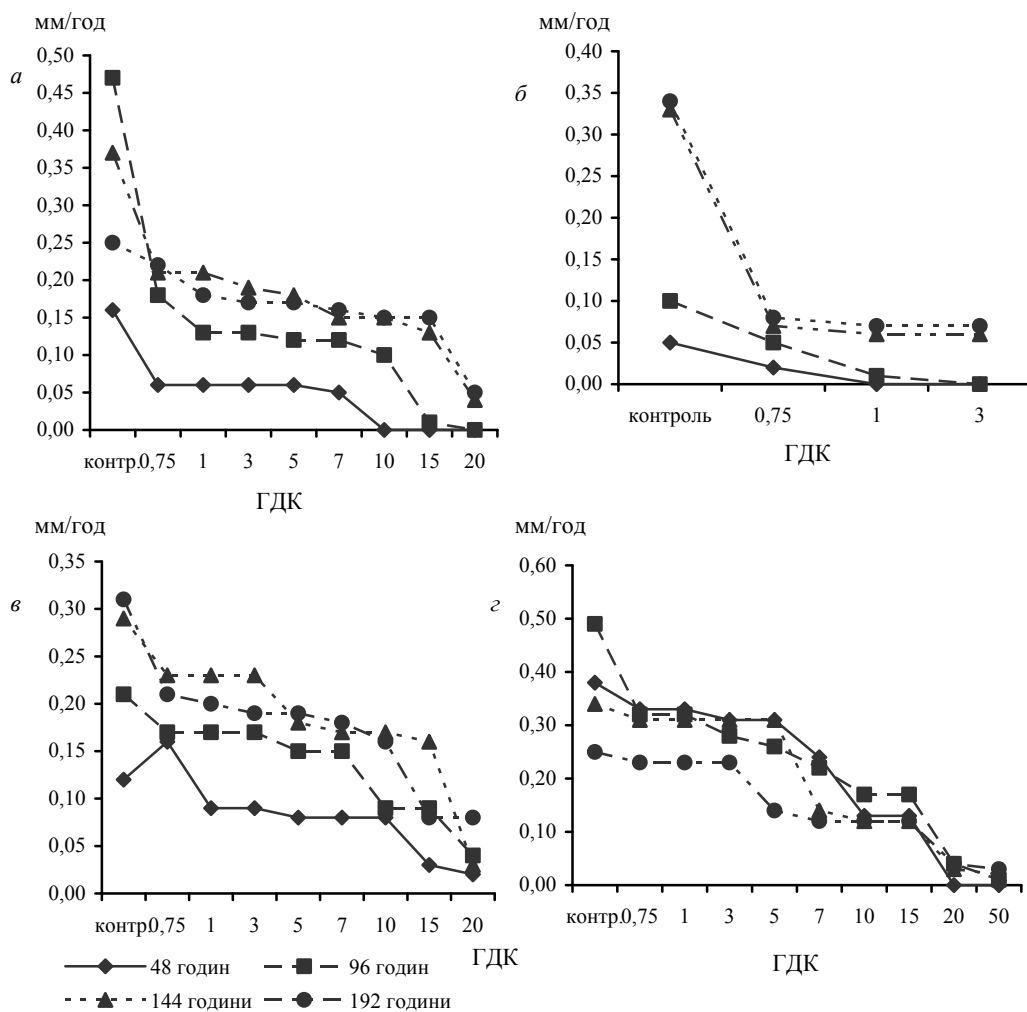


Рис. 2. Радіальна швидкість росту колоній *Aspergillus nidulans* (а), *A. wentii* (б), *Fusarium oxysporum* (в), *Trichoderma longibrachiatum* (з) на середовищі Чапека із різним вмістом сполук важких металів

Аналіз даних щодо впливу важких металів свідчить, що при їх концентрації до 3 ГДК у 15 % видів швидкість росту зменшувалась більше ніж удвічі порівняно з кон-

тролем (рис. 2а, б), тоді як для інших мікроміцетів вплив при зазначеному діапазоні концентрацій був меншим (рис. 2в). За дії високих концентрацій сполук важких металів (15–50 ГДК) значне зменшення радіальної швидкості росту спостерігалось у *A. alternata*, *A. nidulans*, *T. longibrachiatum* (в 6, 8 і 16 разів відповідно). У більшості інших видів зменшення радіальної швидкості росту у зазначених вище варіантах дослідів становило від 1,7 до 3 разів (рис. 2). Виконані дослідження дозволяють стверджувати доцільність використання різних показників росту мікроміцетів для біоіндикації рівня важких металів у навколишньому середовищі.

Висновки

Найчутливіші до мінімального вмісту (0,75 ГДК) азотнокислих сполук купруму, плумбуму, цинку, нікелю та кадмію у середовищі Чапека виявились *Absidia butleri* Lendn, *Mortierella vanesae* Dixon-Stewart, *Cunninghamella echinulata* Thaxte, *Curvularia tuberculata* Jain, *Cladosporium cladosporioides* (Fresen) G. A. de Vries і *Fusarium solani* (C. Mart.) Appel et Wollenw, тоді як у *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl і *Penicillium sp. 4* спостерігався помірний ріст за максимальної концентрації (50 ГДК). За мінімального вмісту іонів важких металів на початковому етапі дії (до 48 год.) діаметр колонії збільшується лише у *Fusarium oxysporum* E. F. Sm. et Swingle, тоді як у інших видів підвищення вмісту важких металів у середовищі уповільнює їх ріст. За дії сполук важких металів у високих концентраціях (15–50 ГДК) у *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *Aspergillus nidulans* (Eidam) Wint, *Trichoderma longibrachiatum* Rifai спостерігалось значне зменшення радіальної швидкості росту (у 6, 8 і 16 разів відповідно). У більшості інших видів зменшення радіальної швидкості росту у зазначених варіантах дослідів становило від 1,7 до 3 разів.

Бібліографічні посилання

1. **Багрій І. Д.** Досвід комплексної оцінки та картографування факторів техногенного впливу на природне середовище міст Кривого Рогу та Дніпродзержинська / І. Д. Багрій, А. М. Білоус, Ю. Г. Вилкул. – К. : Фенікс, 2000. – 108 с.
2. **Билай В. И.** Фузарии. – К. : Наукова думка, 1977. – 442 с.
3. **Билай В. И.** Аспергиллы / В. И. Билай, Э. З. Коваль. – К. : Наукова думка, 1988. – 204 с.
4. **Добровольский В. В.** Тяжелые металлы: загрязнение окружающей среды и глобальная геохимия // Тяжелые металлы в окружающей среде. – М. : Изд-во МГУ, 1980. – С. 3–12.
5. **Евдокимова Г. А.** Влияние выбросов предприятий цветной металлургии на почву в условиях модельного опыта / Г. А. Евдокимова, Н. П. Мозгова // Почвоведение. – 2000. – № 5. – С. 630–638.
6. **Кочкина Г. А.** Радиальная скорость роста колоний грибов в связи с их экологией / Г. А. Кочкина, Т. Г. Мирчинк, Д. Г. Звягинцев // Микробиология. – 1978. – Т. 47. – № 5. – С. 964–965.
7. **Кураков А. В.** Методы выделения и характеристики комплекса микроскопических грибов наземных экосистем. – М. : Макс Прес, 2001. – 85 с.
8. **Лебедева Е. В.** Микромицеты почв, подверженных влиянию горно-металлургического комбината / Е. В. Лебедева, Т. В. Канивец // Микология и фитопатология. – 1991. – Т. 25, вып. 2. – С. 111–116.
9. **Марфенина О. Е.** Антропогенная экология почвенных грибов. – М. : Медицина для всех, 2005. – С. 45–47.
10. **Мельник В. А.** Определитель грибов России. Класс Zygomycetes, сем. Dematiaceae. – СПб. : Наука, 2000. – 358 с.
11. **Милько А. А.** Определитель мукоральных грибов. – К. : Наукова думка, 1974. – 114 с.

12. **Олішевська С. В.** Швидкість росту як кількісний критерій дослідження резистентності мікроскопічних грибів до іонів міді // Український ботанічний журнал. – 2006. – Т. 2. – С. 210–219.
13. **Паников Н. С.** Кинетика роста микроорганизмов. – М. : Наука, 1991. – 309 с.
14. **Babich H.** Effect of cadmium on fungi and on interactions between fungi and bacteria in soil: Influence of clay minerals and pH / H. Babich, G. Stotzky // Appl. Environ. Microbiol. – 1977. – Vol. 33. – P. 1059–1066.
15. **Cervantes C.** Copper resistance mechanism in bacteria and fungi / C. Cervantes, F. Gutierrez-Corona // FEMS Microbiol Rev. – 1994. – Vol. 14, N 2. – P. 121–137.
16. **Dighton J.** Fungi in Processes. – New York, Basel : Marcel Dekker Inc., 2003. – 434 p.
17. **Domsh K. H.** Compendium of soil fungi / K. H. Domsh, W. Gams, T. H. Andersen. – London : Acad. Press, 1993. – Vol. 1. – 859 p.
18. **Gadd G. M.** Fungal production of citric and oxalic acid: Importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes // Advances in Microbial Physiology. – 1999. – N 41. – P. 48–92.
19. **Fomina M.** Metal sorption by biomass of melaninproducing fungi grown in claycontaining medium / M. Fomina, G. M. Gadd // J. Chem. Technol. – 2002. – Vol. 78. – P. 23–34.
20. **Nies D. H.** Microbial heavy metal resistance // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1999. – Vol. 51. – P. 730–750.
21. **Ross I. S.** Membrane transport processes and response to exposure to heavy metals // Stress Tolerance of Fungi / Ed. D. H. Jennings. – Liverpool : University of Liverpool, 1995. – P. 97–125.
22. **Singleton I.** Fungal interaction with metals and radionuclides for environmental bioremediation / I. Singleton, J. M. Tobin // Fungi and Environmental Change / Eds. J. C. Frankland, N. Magan, G. M. Gadd. – Cambridge : Cambridge Univ. Press, 1996. – P. 282–298.

Надійшла до редколегії 14.07.2011