

УДК 579.26, 579.22

## МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФАКТОРЫ ВИРУЛЕНТНОСТИ ГРИБОВ В СВЯЗИ С ЗАГРЯЗНЕНИЕМ ПОЧВ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ (ОБЗОР)

© 2023 г. Е. В. Федосеева<sup>1</sup> \*, О. С. Лучкина<sup>1</sup>, В. А. Терехова<sup>2</sup><sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, 119071 Россия<sup>2</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, 119991 Россия

\*e-mail: elenfedoseeva@gmail.com

Поступила в редакцию 17.07.2023 г.

После доработки 02.10.2023 г.

Принята к публикации 09.10.2023 г.

Загрязнение тяжелыми металлами (ТМ) стало одной из важных угроз для протекающих в почве биологических процессов и почвенной микробиоты. Данная угроза распространяется и на активный компонент микробного населения почвы — грибы. В загрязненных ТМ почвах грибные сообщества претерпевают значительные структурные перестройки, приводящие, в частности, к увеличению доли и разнообразия резистентных к действию ТМ грибов, среди которых обнаруживаются условные патогены человека и факультативные патогены растений. Штаммы условно-патогенных для человека грибов, выделенные из загрязненных почв, обладают патогенными свойствами в большей степени, чем штаммы, выделенные из чистой почвы. Реализация патогенных свойств определяется рядом молекулярных факторов (факторов вирулентности), среди которых можно выделить активность определенных групп ферментов, действие механизмов антиоксидантной защиты и белков-эффекторов, синтез меланина и токсинов, модификацию липидного и углеводного состава клетки. Тяжелые металлы и загрязнение ими почв могут оказывать влияние на проявление патогенных свойств грибов и грибоподобных организмов, токсичных для человека, животных и растений. В обзоре приведены литературные данные, посвященные молекулярным факторам вирулентности и их модификациям под действием ТМ. Учитывая, что на данный момент не сформировано ясного представления о направленности действия ТМ на проявление патогенных свойств грибами, проанализированные литературные данные все же могут способствовать пониманию последствий загрязнения почв ТМ для развития условных патогенов человека и факультативных патогенов растений.

**Ключевые слова:** грибы, фитопатогены, патогены человека и животных, тяжелые металлы, загрязнение почвы, липиды, осмолиты, меланины, гидролитические ферменты, антиоксидантная защита

**DOI:** 10.56304/S0234275823040038

### 1. ВВЕДЕНИЕ

Загрязнение тяжелыми металлами (ТМ) стало одной из важных угроз для протекающих в почве биологических процессов и почвенной микробиоты [1, 2]. Активным компонентом микробного населения почв и участником биологических процессов являются сообщества грибов, в которых по способу питания выделяют три основные группы: сапротрофы, мутуалисты и патогены [3]. Ухудшение качества почв, в том числе в результате химического загрязнения, может способствовать переходу условных патогенов человека и факультативных патогенов растений от сапротроф-

ного типа питания к питанию и развитию на живых организмах. В загрязненных ТМ почвах грибные сообщества претерпевают значительные структурные перестройки. В частности, в почвенных биомах увеличиваются доля и разнообразие группы резистентных к действию ТМ грибов, среди которых обнаруживаются условные патогены человека (оппортунистические виды) и факультативные патогены растений [2, 4–6]. Штаммы условно-патогенных грибов, выделенные из загрязненной почвы, характеризовались большей вирулентностью, чем штаммы, выделенные из чистой почвы [5].

Среди молекулярных факторов вирулентности выделяют активность определенных групп ферментов, действие компонентов антиоксидантной защиты и белков-эффекторов, синтез меланина и токсинов, модифицированный липидный и углеводный состав клетки [7–11]. Факторы вирулентности входят в сложный комплекс взаимодействий.

*Список сокращений:* АФА — активные формы азота, АФК — активные формы кислорода, МЛ — мембранные липиды, МТН — металлотгонеины, МТ — микотоксины, СОД — супероксиддисмутаза, ТМ — тяжелые металлы, ФТ — фитотоксины, ФХ — фосфатидилхолины, ФЭ — фосфатидилэтанолламины, ФЛ — фосфолипиды.

Металлы играют важную роль в развитии микозов человека и животных и грибных болезней растений, об этом свидетельствует разнообразие систем регуляции поступления катионов металлов в клетки и их детоксикации [12]. Загрязнение почвы ТМ может оказывать влияние на проявление патогенных свойств грибов по отношению к человеку, животным и растениям [9, 12, 13].

Целью обзора являлся анализ литературных данных, посвященных молекулярным факторам вирулентности и их модификациям под действием ТМ. Во второй главе приводятся сведения об изменении структуры сообществ почвенных грибов в загрязненных ТМ почвах, что позволило получить представление об обилии и разнообразии оппортунистических видов и факультативных фитопатогенов. В третьей главе обзора представлена общая информация о сложном комплексе молекулярных факторов вирулентности, посредством которых осуществляется реализация патогенных свойств грибов. В итоговой четвертой главе обсуждаются данные по влиянию ТМ на молекулярные факторы вирулентности грибов, которые могут способствовать пониманию последствий загрязнения почв ТМ для развития патогенных грибов. В обзоре акцент сделан на обсуждение фитопатогенных грибов из отдела Ascomycota. В дополнение приведены сведения о грибах-возбудителях микозов человека и животных, а также фитопатогенных грибоподобных организмах – оомицетах.

## 2. ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ ПОЧВЕННЫХ ГРИБНЫХ СООБЩЕСТВ И РАСПРОСТРАНЕННОСТИ УСЛОВНЫХ ПАТОГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА И ФАКУЛЬТАТИВНЫХ ПАТОГЕНОВ РАСТЕНИЙ В ЗАГРЯЗНЕННЫХ ПОЧВАХ

Микробные сообщества, состав и активность которых в значительной степени определяют биогеохимические циклы, процесс круговорота органического вещества и в итоге плодородия почвы, являются чувствительными индикаторами ее качества [14]. Активным компонентом почвенных микробных сообществ являются грибы, среди которых доминируют три группы: сапротрофы, мутуалисты и грибы-патогены или паразиты [3]. Наиболее распространенной группой почвенных грибов являются виды из отдела Ascomycota, обилие которых достигает 80% всей микобиоты [15–17]. В почвах экосистем, естественных и близких к естественным, широко распространены сапротрофные грибы, где они выполняют важные экологические функции, тогда как в агроценозах и урбаноценозах обилие сапротрофов снижается [3]. Уменьшение множества сапротрофов при ухудшении качества почвы может быть связано со способностью факультативных фитопатогенов существовать как в паразитической, так и в сапротрофной

фазах в зависимости от условий среды, в частности, меняющихся условий питания [11]. Факультативные патогены имеют ряд особенностей, включая наличие в жизненном цикле несколько синантрофов, что повышает их шанс на сохранение и распространение, синтез меланинов, внеклеточную секрецию гидролаз [11]. В загрязненных почвах показано увеличение обилия и разнообразия оппортунистических видов, которые в основном были представлены родами *Penicillium*, *Aspergillus*, *Oidiodendron* и *Trichoderma* [4]. Условно-патогенные грибы характеризуются рядом особенностей, среди которых можно выделить развитие при температуре выше 37°C, мицелиально-дрожжевой диморфизм, клеточный меланизм, способность к адгезии и внеклеточной секреции гидролаз [5, 18, 19].

При загрязнении почв ТМ сообщества грибов реализуют одну или несколько стратегий адаптации, включая внеклеточную секвестрацию и седиментацию металлов, усиление оттока и подавление их поступления, связывание металлов с клеточными стенками, продукцию внутриклеточных и внеклеточных ферментов, внутриклеточную секвестрацию и комплексообразование [20–22]. В условиях умеренного загрязнения ТМ Ascomycota сохраняют свое доминирование, которое сопровождается тем не менее преобразованием структуры сообществ [15]. Эти изменения вызваны ростом числа устойчивых к ТМ видов и снижением частоты встречаемости чувствительных видов [23].

Представители родов *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* и *Trichoderma* чаще всего упоминаются как металл-устойчивые (“metal tolerant genera”). Из почвенных образцов, загрязненных Ni, Pb, Cr, Cd, выделены устойчивые виды *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Talaromyces verruculosus* (ранее *Penicillium verruculosum*), *Penicillium*, которые характеризовались наличием металлотионеинов (МТН) и медь-содержащих оксидаз [2]. Из почв с высоким содержанием Cu и Pb выделены устойчивые, обладающие микоремедиационным потенциалом *Fusarium fujikuroi*, *F. solani*, *Trichoderma citrinoviride* и *Trichoderma reesei* [6]. В загрязненных ТМ донных отложениях реки идентифицированы *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium simplicissimum* и *Trichoderma asperellum* [24]. В почвах из района добычи Pb и Zn встречались *Acremonium persicinum*, *Penicillium simplicissimum*, *Seimatosporium pistaciae*, *Trichoderma harzianum* и *Alternaria chlamydosporigena* [25]. Помимо наиболее распространенных родов при загрязнении почв комплексом ТМ обнаружены представители родов *Rhizopus* и *Botrytis* [17]. К наиболее распространенным видам грибов при химическом загрязнении ТМ почв были отнесены *Penicillium simplicissimum*, *Talaromyces funiculosus* (ранее *Penicillium funiculosum*), *Talaromyces pinophilus* (ранее *Penicillium pinophilum*), *Talaromyces minioluteus* (ранее *Penicillium minioluteum*), а также *Purpureocillium lilacinum* [26].

Появление и развитие некоторых видов мицелиальных грибов могут служить индикаторами неблагоприятия почв. Согласно предыдущим исследованиям, проведенным рядом исследователей [27–30], некоторые эвритопные виды грибов можно рассматривать как показатели антропогенного воздействия на почвы. Индикаторами загрязнения свинцом можно считать *Mucor hiemalis*, *Talaromyces funiculosus* *Aspergillus niger*, *Purpureocillium lilacinum* [27]; кадмием – *Mucor circinelloides* и *Trichoderma asperellum* [30]; ванадием – *Aspergillus terreus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Clonostachys rosea*, *Purpureocillium lilacinum* (*Paecilomyces lilacinus*), *Penicillium citrinum* и *Rhizopus arrhizus* [28]. *Penicillium spinulosum* доминировал на контаминированных участках почвы в зоне воздействия выбросов Кандалакшского алюминиевого завода [31]. Индикаторами общего урбанистического контаминирования могут являться *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *F. oxysporum*, *F. verticilloides*, *Paecilomyces variotii* и *Penicillium vulpinum* [27].

Ряд видов из числа металл-устойчивых грибов способны проявлять фитопатогенные свойства [32–34]. Штаммы условно-патогенных грибов, выделенные из загрязненных почв, характеризовались большей вирулентностью, чем штаммы, выделенные из условно чистой почвы [5]. Виды *Ampelomyces resinae*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium herbarum*, *Lecanicillium lecanii*, *Mucor hiemalis*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium miczynskii*, *Phoma glomerata*, *Trichoderma viride*, выделенные из контаминированной почвы, либо проявляли, либо усиливали один из признаков, характеризующих потенциальную опасность грибов для человека [5]. Микобиота почвы с низким содержанием органического углерода, содержащей смесь Cu, Pb и Zn, отличалась наличием представителей семейств Didymellaceae и Clavicipitaceae, а именно рода *Metarrhizium*, включающего энтомопатогенные грибы [35]. Заметную часть аскомицетной микобиоты составляли меланин-продуцирующие виды [35].

Среди устойчивых к ТМ грибов интересны представители рода *Trichoderma*, распространенные в почвах разных агроклиматических зон. Представители этого рода устойчивы к ряду агрохимикатов, ТМ и органическим соединениям, в то же время эти грибы широко используют в сельском хозяйстве в качестве стимуляторов роста растений и для биологической борьбы с фитопатогенами [36, 37].

### 3. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ФАКТОРЫ ВИРУЛЕНТНОСТИ

Активность определенных групп ферментов, действие механизмов антиоксидантной защиты и белков-эффекторов, синтез меланина и токсинов, модификацию липидного и углеводного

состава клетки чаще определяют как молекулярные факторы вирулентности грибов. Этот список, безусловно, не является исчерпывающим, а дает общую информацию о сложном комплексе молекулярных факторов вирулентности грибов, находящихся во взаимодействии.

#### 3.1. Ферменты. Гидролазы и оксидоредуктазы

Гидролитические ферменты, участвующие в деградации клеточных стенок, и некоторые другие соединения при определенных условиях могут выполнять роль молекулярных факторов вирулентности у фитопатогенных грибов [11]. Среди гидролитических ферментов, секретируемых микроорганизмами, важную роль играют пептидазы. Микроорганизмы вырабатывают широкий спектр внутри- и внеклеточных протеолитических ферментов (эндо- и экзопептидаз). Активность гидролитических ферментов, секретируемых в окружающую среду для расщепления молекул субстрата, связана с адаптацией паразита к меняющимся условиям питания, которая может проявляться как смена формы существования, от сапротрофной к паразитической [11].

Протеомный анализ белков, секретируемых фитопатогенным аскомицетом *Macrophomina phaseolina* в среде с добавлением настоя листьев сои, выявил преобладание пула гидролитических ферментов. Были обнаружены ферменты, разрушающие клеточную стенку растений вместе с пептидазами, и, вероятно, участвующие в инфекционном процессе [38]. Возможным маркером патогенности является высокая активность трипсин-подобных пептидаз [39]. Наиболее активные трипсин-подобные пептидазы обуславливают повышенную патогенность фитопатогенного аскомицета *Alternaria tomatophila* [40]. Прослежена связь между агрессивностью и образованием трипсин-подобных пептидаз у *Alternaria linariae* [11].

Кроме гидролитических ферментов в механизмах вирулентности грибов могут быть задействованы ферменты класса оксидоредуктаз – оксидазы, а именно лакказа [13, 41]. Обнаружено, что активность этого фермента связана с проявлением фитопатогенных свойств оомицета *Phytophthora capsici*, вызывающего фитофтороз растений перца [13]. Известно, что лакказа задействована в процессах синтеза меланина – пигмента, придающего резистентность к неблагоприятным воздействиям [41].

#### 3.2. Меланины

Меланины представляют собой вторичные метаболиты, состоящие из сложных гетерогенных полимеров фенольных и/или индольных мономеров [8]. Эти пигменты локализируются в клеточной стенке или могут быть тесно связаны с плазма-

тической мембраной на внутренней стороне клеточной стенки, как у апрессория *Magnaporthe grisea* [42, 43]. По диапазону распространения выделяют внутри- и внеклеточные меланины. Пигменты секретируются в специализированных везикулах, иногда называемых “мешками вирулентности” (“virulence bags”) [44]. Меланины, такие как 1,8-DHN- и L-3,4-дигидроксифенилаланин (L-DOPA)-оны, в основном встречаются, соответственно, у аскомицетов и базидиомицетов. Грибы, в том числе представители этих двух таксономических групп, могут синтезировать пигменты и другой химической природы [8].

Меланины грибов могут играть более чем одну биологическую роль [8]. По мнению ряда авторов [44, 45], эти соединения являются факторами вирулентности. У большинства наиболее агрессивных фитопатогенных штаммов *Alternaria tomatophila* было зафиксировано образование внеклеточных меланинов [40]. При исследовании связи секреции протеолитических ферментов с образованием меланинов у *Alternaria linariae* обнаружена положительная корреляция между этими процессами [11]. Род аскомицетов *Colletotrichum* включает целый ряд форм, вызывающих антракноз [46]. У представителей этого рода обычно развиваются специфические инфекционные структуры – апрессории, пигментированные меланином. Известно, что меланизация апрессорий необходима для проникновения в клетки хозяина [47].

### 3.3. Антиоксидантная защита

Растения производят активные формы кислорода (АФК) и активные формы азота (АФА), чтобы ограничить инвазию патогенов. Для успешного заражения патогены должны преодолеть окислительный “взрыв”, производимый растениями-хозяевами. В ответ на окислительный и нитрозитивный стресс патогенные грибы способны реагировать разными способами, включая транскрипционный, посттрансляционный и ферментативный, которые, в общем, обеспечивают устойчивость к токсичности АФК/АФА и облегчают процесс инвазии [48]. Это дает основание полагать, что существует связь между патогенностью и устойчивостью к окислительному стрессу [9, 48, 49].

Одним из ключевых способов детоксикации АФК являются ферментативные механизмы, которые обеспечиваются работой нескольких регуляторных молекул: пероксидаз, супероксиддисмутаз (СОД), каталазы, тиоредуктазы, глутатиона [48–50]. Пероксидазы, опосредующие перенос электронов от  $H_2O_2$  и органического пероксида к различным акцепторам электронов, являются необходимыми для системы антиоксидантной защиты грибов и играют решающую роль в вирулентности грибных фитопатогенов [51–53]. У фитопатогенного аскомицета *Botrytis cinerea*, возбудителя

серой гнили растений, были идентифицированы несколько пероксидаз, способных расщеплять  $H_2O_2$  и участвующих в путях, способствующих специфической патогенности этого гриба [49]. Штаммы *Alternaria alternata* с нарушенной системой детоксикации АФК значительно снижают вирулентность для восприимчивых сортов цитрусовых [50]. Активация антиоксидантной защиты, в том числе СОД и каталазы, для которой требуется поступление железа с помощью сидерофоров, происходит в ходе клеточного ответа *Alternaria alternata* [50]. Похожие механизмы функциональны для патогенов животных и человека. Так аскомицет *Aspergillus fumigatus*, продуцирующий опасные МТ, кодирует 4 типа СОД: Cu/ZnСОД1 и MnСОД2-4 [54].

В защите грибных клеток от действия АФК принимают участие меланины [55]. Биосинтез меланина посредством путей L-DOPA или DHN способствует устойчивости грибов к окислительному и нитрозитивному стрессу [56].

### 3.4. Пластичность генома. Эффекторы

Растения-хозяева содержат различные семейства генов, отвечающих за защиту, и семейство генов устойчивости (R) [10]. Фитопатогенные грибы обычно имеют большое количество генов, кодирующих секретируемые белки, называемые “эффекторами”, ингибирующие иммунные реакции растений-хозяев [57]. Основным критерием для отнесения белка к “эффекторам” является наличие сигнального пептида – небольшого участка из 18–30 аминокислот, в основном присутствующего на N-конце секреторных белков [10, 58]. В качестве основного критерия для идентификации “эффекторов” *in silico* могут использоваться иные параметры: 1) отсутствие трансмембранного домена (за исключением области сигнального пептида); 2) малый размер (менее 300 аминокислот); 3) высокое содержание цистеина в зрелом белке; 4) видоспецифичность или семейная специфичность и другие [10, 58].

“Эффекторы” экспрессируются в различных структурах: в основном в гаусториях, как у фитопатогенных грибов рода *Puccinia*; в инфицирующих гифах, как у *Ustilago maydis*, или во внеклеточном пространстве, как у биотрофного патогена *Cladosporium fulvum* [10, 58–60]. В зависимости от места действия “эффекторы” разделяют на два основных класса: цитоплазматические и апоплазматические. “Эффекторы” апопласта, как у биотрофного патогена *Cladosporium fulvum*, обычно защищают от хитиназа и других гидролитических ферментов хозяина и секвстрируют хитин. Большинство возбудителей ржавчины имеют цитоплазматические эффекторы [10, 58–60]. Недавно были открыты небелковые “эффекторы”, такие как малые РНК и вторичные метаболиты [10].

Фитопатогенные грибы обладают таким свойством, как пластичность генома, определяемая как “способность к изменениям на геномном и хромосомном уровнях, которые не влияют на жизнеспособность, но являются материалом для отбора наиболее приспособленных особей к новым условиям среды обитания” [61]. В случае фитопатогенных грибов эти изменения способствуют повышению вирулентности и агрессивности штаммов, преодолению устойчивости растений-хозяев и освоению новых экологических ниш. По заключению [61], “существует связь между событиями транспозиции элементов ДНК, потерей/приобретением дополнительных хромосом и признаками вирулентности/патогенности фитопатогенных грибов”.

### 3.5. Состав липидов и осмолитов

В адаптации к условиям окружающей среды, даже экстремальным, и появлении патогенных свойств принимают участие липиды, а также углеводы и полиолы (УиП) грибной клетки.

Липиды разделяют на запасные и мембранные (МЛ), основными представителями последних являются фосфолипиды (ФЛ), гликолипиды и стеринны. Опубликованные данные свидетельствуют о важности МЛ во взаимодействии симбиотических и патогенных микроорганизмов с клетками-хозяевами [62, 63]. Фосфатидилхолины (ФХ) и фосфатидилэтаноламины (ФЭ), как правило, являющиеся основными ФЛ грибов большинства классов, имеют значение для вегетативного роста и развития бесполой структуры, а также являются важными строительными компонентами мембран, играя роль в поддержании их функций [64, 65]. Путь биосинтеза ФЛ *de novo*, от которого в значительной степени зависит биосинтез ФХ и ФЭ, необходим для реализации наибольшей вирулентности фитопатогенов, что было показано на примере фитопатогенного аскомицета *F. graminearum* [63]. Из числа гликолипидов некоторые глико-сфинголипиды, такие как глюкозилцерамид, участвуют в регуляции вирулентности фитопатогенных грибов [66, 67]. Липиды также участвуют в других механизмах вирулентности, например, образовании биопленок и высвобождении внеклеточных везикул. Кроме того, липиды влияют на механические свойства плазматической мембраны за счет образования упакованных микродоменов, состоящих в основном из сфинголипидов и стериннов. Изменения в составе липидных микродоменов нарушают локализацию факторов вирулентности и влияют на патогенность грибов [62].

Низкомолекулярные органические соединения — осмолиты, включающие как углеводы, так и полиолы клетки, склонны накапливаться в цитозоле в ответ на неблагоприятные воздействия и могут считаться цитопротекторами [68, 69]. Во всем царстве грибов широко распространен по-

лиол маннит [70]. Его функции разнообразны: углеводный резерв, средство защиты от осмотического и окислительного стрессов, роль в спорообразовании и регуляции коферментов и другие [7, 70]. Более того, предполагается, что этот полиол играет важную роль в патогенности грибов [7]. Помимо маннита в биомассе грибов обнаруживают низкомолекулярные полиолы (эритрит, арабит, глицерин). Доминирующим сахаром в составе УиП часто является трегалоза, защищающая клеточную целостность грибной клетки при воздействии различных стрессовых факторов, включая тепловой шок [71, 72]. Трегалоза, по-видимому, в основном связана со специфической защитой от окислительного стресса — механизмом, как было сказано выше, ассоциированным с вирулентностью и необходимым для противодействия эндогенным АФК, продуцируемыми фагоцитирующими клетками в ходе колонизации тканей грибами [71, 73].

### 3.6. Синтез токсинов

Грибы способны к образованию соединений, токсичных для других организмов: для бактерий — антибиотики, растений — фитотоксины (ФТ), животных и человека — микотоксины (МТ), разных групп организмов — токсины комплексного действия [74]. Многие ФТ действуют и на животных и/или микроорганизмы [75, 76]. Токсины играют ключевую роль в патогенезе болезней, вызванных грибами [50, 63]. Синтез неспецифических ФТ не является обязательным для успешной колонизации растения-хозяина, при этом усиливает проявление симптомов заражения. Хозяин-специфические ФТ, как правило, являются факторами патогенности, и их синтез необходим для колонизации [76]. В патогенезе ФТ играют различную роль: патотоксины используются некротрофами для инфицирования растений, а вивотоксины, синтезируемые в уже зараженных тканях, вызывают развитие симптомов болезни при достижении определенной концентрации [75].

Химическая природа и механизмы действия токсинов многообразны: они ингибируют синтез клеточной стенки, ферментативные процессы и синтез белков, процессы клеточного деления, обладают мембранотропным эффектом и влияют на мембранный транспорт [74, 75]. Многие ФТ относятся к терпеноидам: трихотецены обнаружены, в частности, у представителей родов *Fusarium*, *Myrothecium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, производные аристоклохена — у *Aspergillus oryzae*, *Penicillium roqueforti*, *Bipolaris cynodontis*, *Phoma exigua*. К поликетидам относят ФТ и многие сильные МТ, обладающие одновременно фитотоксическими свойствами: патулин и цитринин у *Penicillium* spp., альтернариол и ACRL-токсины у *Alternaria* spp., зеараленон у *Fusarium* spp., афлатоксины у *Aspergillus fumigatus* и *Aspergillus flavus* и другие. Извест-

ны ФТ, относящиеся к производным фенолов и хинонов; пептидные ФТ, часто имеющие циклическое строение с амино- или гидроксикислотами в составе; ФТ белковой природы [75, 76].

Синтез токсинов также взаимосвязан с другими молекулярными факторами вирулентности. Мутантные штаммы *F. graminearum* с делецией генов, ответственных за путь синтеза ФЭ и ФХ de novo, продуцировали меньше МТ – дезоксиниваленола, что ослабляло симптомы заражения у восприимчивых растений [63]. Фитопатогенный гриб *Stemphylium botryosum* продуцирует токсины стемфилоксины, а  $\beta$ -кетогальдегидная группа в их составе имеет решающее значение как для токсичности гриба, так и хелатирования железа [77].

#### 4. ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ПРОЯВЛЕНИЕ И СТЕПЕНЬ ПАТОГЕННОСТИ ГРИБОВ

Металлы играют ключевую роль в инфекционных процессах, поскольку они служат кофакторами множества ферментов, прямо или косвенно задействованных в механизмах вирулентности грибов, а именно металлозависимых СОД, металлопротеаз или продуцирующей меланин лакказы [41]. Необходимую окислительно-восстановительную и каталитическую активность для многих важных биологических процессов обеспечивают переходные металлы первого ряда – марганец, железо, кобальт, никель и медь [41]. Патогенные грибы развили сложную систему обнаружения и поступления необходимых ТМ, а, в случае их избытка, снижения потребления и высвобождения связанных металлов [41]. Так в случае превышения содержания металлов инициируется секвестрация их избыточных количеств в специальные белки, такие как МТН, или в вакуоли, служащие “аварийным” резервуаром [78, 79]. В исследованиях приводятся сообщения о специфических транспортерах, позволяющих перемещать заряженные ионы металлов через плазматическую или вакуолярную мембраны [80, 81].

Тяжелые металлы и загрязнение ими почвы могут оказывать влияние на развитие и проявление патогенных свойств грибов и грибоподобных организмов, токсичных для человека, животных и растений [9, 12, 13, 82]. При этом неясно, какое именно действие оказывают ТМ на проявление патогенных свойств. Опубликованные данные свидетельствуют как об ослаблении, так и усилении вирулентности грибных патогенов под действием ТМ, что хорошо описано в обзоре [12].

К изменению вирулентности грибов могут приводить модификации активности ферментов под действием ТМ. После обработки медью и цинком гриба *Botrytis cinerea* в его секретоме были отмечены высокие уровни двух Zn-металлопротеаз,

принадлежащих к группе внеклеточных пептидаз семейства М35 дейтеролизина и пенициллолизина. Известно, что эти пептидазы являются основными факторами вирулентности у патогенной бактерии *Aeromonas salmonicida* [82].

Обработка ТМ может оказывать действие на экспрессию генов, кодирующих синтез ферментов и других белков, задействованных в механизмах грибной вирулентности. Обработка Cu, Сг и Hg при низком и нейтральном уровнях pH ограничивала вирулентность оомицета *Phytophthora capsici*, проявляемую при заражении листьев перца. Это было вызвано снижением экспрессии двух генов, связанных с вирулентностью: лакказы PcLAC2 и индуцирующего некроз белка PcNLP14 [13]. У другого оомицета-фитопатогена *Phytophthora infestans* обработка Cd в концентрации 5 мг/л усиливала вирулентность, что проявлялось ускорением симптомов болезни у зараженного картофеля [12]. За толерантность к ТМ у грибов ответственны несколько генов, и воздействие ТМ может привести к эволюции новых белков через мутации [12, 83].

Существует связь между вирулентностью и толерантностью к окислительному стрессу. АТФаза Р-типа VcCcc2 у *Botrytis cinerea* – ортолог АТФазы Р-типа Ccc2, транспортирующей медь, у *Saccharomyces cerevisiae* – необходима для вирулентности грибов-некротрофов [84]. Мутантный штамм *Botrytis cinerea* с делецией гена VcCcc2 имел выраженные морфологические дефекты и не смог инфицировать листья томата и лепестки гвоздики. Отсутствие АТФазы Р-типа, участвующей в доставке Cu в секреторный компартмент для последующей модификации белков, привело к дефициту Cu у белков-мишеней VcCcc2 и дальнейшему нарушению клеточных процессов [84]. Делеция гена VcCcc2 также может приводить к дефекту функции VcSod1, препятствуя поддержанию соотношения  $O_2^-/H_2O_2$  во время развития *in planta* [85]. У патогенов человека и животных выявлены схожие эффекты. Например, пониженную вирулентность проявляли *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* и *Aspergillus fumigatus*, дефицитные по СОД [48], а также *A. fumigatus*, дефицитный по катионной АТФазе Р1В-типа (PcaA), отвечающей за перенос металлов и устранение супероксидных радикалов [9].

На вирулентность ТМ могут влиять через механизмы их детоксикации грибами. Известно, что растение-хозяин может мобилизовать ионы Cu в качестве противопатогенной защиты, на которую патоген отвечает активацией специфических механизмов противодействия избыточному накоплению металлов. К таким специфическим механизмам относят клеточные механизмы с участием МТН. Делеция гена *Mmt1*, кодирующего МТН-подобный белок, привела к снижению вирулентности гембиотрофа *Magnaporthe* по отноше-

нию к рису [78]. Локализация в инфицирующих структурах, таких как клеточные стенки апрессория и кончики зародышевых трубок до развития апрессория, белка Mmt1 указывает на его роль в ремоделировании клеточной стенки и адаптации к гиперосмотическому стрессу. Кроме того, Mmt1 обладает способностью действовать как антиоксидант с очень низким окислительно-восстановительным потенциалом [78].

С проявлением патогенных свойств могут быть связаны особенности липидного состава грибных мембран, такие как содержание и соотношение стерина, ФХ и ФЭ. Мутанты фитопатогенов, дефектные в биосинтезе ФХ, проявляли гиперчувствительность к стрессовым условиям, в том числе действию ТМ и фунгицидов [63, 64]. Обработка медью приводила к увеличению доли ФХ и соотношения ФХ/ФЭ в составе МЛ мицелиального гриба *Marquandomyces marquandii* (ранее *Paecilomyces marquandii*) (на фоне значительного повреждения мембран) [86]. Под действием меди увеличивалась доля ФХ в составе МЛ факультативного фитопатогена *Alternaria alternata* [26]. Повышение уровня ФХ, стабилизирующих липидный бислой, можно считать универсальной реакцией, усиливающей устойчивость микромицетов к ТМ и другим загрязняющим веществам [87].

Авторы [88], изучая стерин меланизированных грибов из засоленных мест обитания, обнаружили в образцах преобладание эргостерола (24-метилхлеста-5,7,22-триен-3бета-ол). Это свидетельствует об определенной связи между накоплением эргостерола и меланина, последний, как отмечено выше, может выступать в качестве фактора вирулентности.

В механизмах патогенности грибов принимают участие основные осмолиты цитозоля грибной клетки – маннит и трегалоза [7, 71, 73]. На примере лишайников было показано, что концентрации полиолов (маннита, арабита, эритрита) можно использовать в качестве индикаторов стресса ТМ [89, 90]. Однако взаимосвязь между концентрациями ТМ и содержанием полиолов сложна и зависит от разнообразия металлов и полиолов [90]. При действии меди в мицелии *Alternaria alternata* абсолютное содержание осмолитов не изменялось относительно контроля. При этом в составе осмолитов наблюдалось увеличение доли маннита на фоне снижения доли трегалозы [26].

ТМ-индуцированный биосинтез МТ может повысить инфицирующие способности микроорганизмов [12]. Смесь ТМ – Cu, Zn и Fe – в относительно низкой концентрации (5 мг/л) стимулировала рост мицелия, а также синтез МТ афлатоксина и его предшественника О-метил-стеригматоцистина у *Aspergillus flavus* [91]. Ионы металлов заметно влияли на рост и продукцию МТ у *Aspergillus flavus* и *F. graminearum*: отдельно Zn<sup>+2</sup> и Cu<sup>+2</sup> стимулировали накопление афлатоксина у *Aspergillus flavus*, а

Cu<sup>+2</sup> и Fe<sup>+2</sup> – зеараленона у *F. graminearum* [92]. Фитотоксичность стемфилоксина у *Stemphylium botryosum* не полностью зависела от присутствия железа, хотя этот металл увеличивал токсичность стемфилоксина I для растений [77].

В то же время, опубликованы данные, свидетельствующие об ослаблении синтеза токсинов под действием ТМ [93, 94]. Антимикотоксиновые свойства соединений металлов более отчетливо проявлялись при увеличении их концентраций. Наночастицы ZnO ингибировали рост мицелия и продукцию МТ – фузариновой кислоты у *F. oxysporum* и патулина у *Penicillium expansum*; максимальное ингибирование достигалось при самой высокой экспериментальной концентрации (12 мг/л) [94]. Соединения цинка – перхлорат Zn(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> и сульфат (ZnSO<sub>4</sub>) – угнетали рост мицелия и продукцию МТ дезоксиниваленола, афлатоксинов и цитринина у *F. graminearum*, *Aspergillus flavus* и *Penicillium citrinum* соответственно [93].

В табл. 1 приведены обобщенные сведения об экспериментально зафиксированных случаях влияния ТМ на проявление и степень патогенности грибов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассмотрены некоторые механизмы вирулентности грибов, такие как активность определенных групп ферментов, работа механизмов антиоксидантной защиты и белков-эффекторов, синтез меланина и токсинов, модификация состава липидов и осмолитов грибной клетки. Выделены примеры взаимодействия факторов вирулентности: положительная корреляция между секрецией трипсин-подобных пептидаз и образованием меланинов, участие меланинов и трегалозы в защите от окислительного стресса. Согласно литературным данным, ТМ могут оказывать влияние на проявление патогенных свойств грибов и грибоподобных организмов, патогенных для растений, человека и животных, посредством воздействия на механизмы вирулентности, а именно на активность ферментов (металлозависимых СОД, металлопротеаз, лакказы) и экспрессию соответствующих генов, систему антиоксидантной защиты (активность СОД и АТФаз), липидный (содержание стерина, ФХ и ФЭ) и осмолитный (содержание маннита) составы грибной клетки. Тяжелые металлы также могут влиять на вирулентность через механизмы детоксикации металлов грибами. При этом есть свидетельства, как об ослаблении, так и усилении вирулентности грибных патогенов под действием ТМ. Учитывая, что на данный момент не сформировано ясного представления о направленности действия ТМ на проявление патогенных свойств грибами, проанализированные результаты экспериментов способствуют продвижению в по-

**Таблица 1.** Примеры воздействия на молекулярные факторы вирулентности грибов посредством прямой обработки тяжелыми металлами и влияния на поддержание гомеостаза металлов  
**Table 1.** The examples of influencing molecular virulence factors of fungi through direct treatment with heavy metals and influencing the maintenance of metal homeostasis

Группа молекулярных факторов вирулентности	Гриб	Металл/Способ воздействия	Отклик, свидетельствующий о воздействии на факторы вирулентности	Изменение степени патогенности	Ссылка
Воздействие на факторы вирулентности прямой обработкой тяжелыми металлами					
Активность ферментов, связанных с вирулентностью	Фитопатогенный аскомицет <i>Botrytis cinerea</i>	Обработка Cu и Zn	Повышение уровня Zn-металлопротеаз из группы внеклеточных пептидаз	Усиление вирулентности	[82]
Активность ферментов, связанных с вирулентностью	Фитопатогенный оомицет <i>Phytophthora capsici</i>	Обработка Cu, Cr и Hg	Снижение экспрессии двух генов, связанных с вирулентностью, в частности, кодирующего лакказы PcLAC2	Ограничение вирулентности	[13]
Состав липидов	Почвенный аскомицет <i>Raeciomycetes marquandii</i>	Обработка Cu	Увеличение доли ФХ и соотношения ФХ/ФЭ в составе мембранных липидов	—	[86]
Состав липидов	Фитопатогенный аскомицет <i>Alternaria alternata</i>	Обработка Cu	Увеличение доли ФХ в составе мембранных липидов	Потенциальное усиление вирулентности	[22]
Состав углеводов и полиолов	Фитопатогенный аскомицет <i>Alternaria alternata</i>	Обработка Cu	Увеличение доли маннита в составе углеводов и полиолов цитозоля	Потенциальное усиление вирулентности	[22]
Синтез токсинов	<i>Aspergillus flavus</i>	Обработка смесью Cu, Zn и Fe	Стимуляция синтеза афлатоксина и его предшественника	Усиление вирулентности	[91]
Синтез токсинов	<i>Aspergillus flavus</i>	Обработка Zn и Cu	Стимуляция накопления афлатоксина	Усиление вирулентности	[92]
Синтез токсинов	<i>Fusarium graminearum</i>	Обработка Cu и Fe	Стимуляция накопления зеараленона	Усиление вирулентности	[92]

Таблица 1. Окончание

Группа молекулярных факторов вирулентности	Гриб	Металл/Способ воздействия	Отклик, свидетельствующий о воздействии на факторы вирулентности	Изменение степени патогенности	Ссылка
Синтез токсинов	<i>F. oxysporum</i> , <i>Penicillium expansum</i>	Наночастицы ZnO	Ингибирование роста мицелия и продукции микотоксинов	Ограничение вирулентности	[94]
Синтез токсинов	<i>F. graminearum</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Penicillium citrinum</i>	Zn(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> , (ZnSO <sub>4</sub> )	Ингибирование роста мицелия и продукции микотоксинов	Ограничение вирулентности	[93]
Не определена	Фитопатогенный оомицет <i>Phytophthora infestans</i>	Обработка Cd	Ускорение симптомов болезни у зараженного картофеля	Усиление вирулентности	[12]
Воздействие на факторы вирулентности посредством влияния на поддержание гомеостаза металлов					
Система антиоксидантной защиты	Фитопатогенный аскомицет <i>Votyis cinerea</i>	Делеция гена <i>VcScc2</i> , кодирующего АТФазу Р-типа <i>VcScc2</i>	Появление дефицита меди у белков-мишеней <i>VcScc2</i> . Нарушение соотношения O <sub>2</sub> <sup>-</sup> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> во время развития <i>in planta</i>	Ограничение вирулентности	[84, 85]
Система антиоксидантной защиты	Патогенный для человека аскомицет <i>Aspergillus fumigatus</i>	Дефицит катионной АТФазы Р1В-типа	Нарушение переноса металлов и устраниения супероксидных радикалов	Ограничение вирулентности	[9]
Система антиоксидантной защиты	Патогенные для человека аскомицеты <i>Candida albicans</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> и <i>Aspergillus fumigatus</i>	Дефицит СОД	Неэффективность работы системы антиоксидантной защиты	Ограничение вирулентности	[48]
Механизмы детоксикации металлов	Фитопатогенный аскомицет <i>Magnaporthe oryzae</i>	Делеция гена МТН1 (Mmt1), кодирующего МТН подобный белок,	Снижение симптомов болезни у зараженного риса	Ограничение вирулентности	[78]

нимании последствий загрязнения почв ТМ для развития факультативных фитопатогенов и условий патогенов человека.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-00799, <https://rscf.ru/project/22-24-00799/>.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Singh A., Maitreyi M., Tripathi P., Shweta S. Resistance of heavy metals on some pathogenic bacterial species. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 2015, 9, 1162–1164. <https://doi.org/10.5897/AJMR2014.7344>
2. 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. *Environ. Technol. Innov.*, 2020, 17, 100606. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100606>
3. Clocchiatti A., Hannula S.E., van den Berg M., Korthals G., de Boer W. The hidden potential of saprotrophic fungi in arable soil: Patterns of short-term stimulation by organic amendments. *Appl. Soil Ecol.*, 2020, 147, 103434. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103434>
4. Корнейкова М.В., Евдокимова Г.А., Лебедева Е.В. Комплексы потенциально патогенных микроскопических грибов в антропогенно загрязненных почвах Кольского Севера. *Микология и фитопатология*, 2012, 46(5), 322–328.
5. Korneykova M.V., Lebedeva E.V. Opportunistic fungi in the polluted soils of Kola Peninsula. *Geogr. Environ. Sustain.*, 2018, 11(2), 125–137. <https://doi.org/10.24057/2071-9388-2018-11-2-125-137>
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. *Environ. Technol. Innov.*, 2020, 21, 101237. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101237>
7. Patel T.K., Williamson J.D. Mannitol in plants, fungi, and plant–fungal interactions. *Trends Plant Sci.*, 2016, 21(6), 486–497. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01>
8. Toledo A.V., Ernesto Franco M.E., Yanil Lopez S.M., Troncozo MariIné, Nazareno Saparrat M.C., Balatti P.A. Melanins in fungi: Types, localization and putative biological roles. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 2017, <https://doi.org/10.1016/j.pmp.2017.04.004>
9. Bakti F., Sasse C., Heinekamp T., Pócsi I., Braus G.H. Heavy metal-induced expression of PcaA provides cadmium tolerance to *Aspergillus fumigatus* and supports its virulence in the *Galleria mellonella* Model. *Front Microbiol.*, 2018, 9, 744. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00744>
10. Jaswal R., Kiran K., Rajarammohan S., Dubey H., Singh P.K., Sharma Y., Deshmukh R., Sonah H., Gupta N., Sharma T.R. Effector biology of biotrophic plant fungal pathogens: current advances and future prospects. *Microbiol. Res.*, 2020, 241, 126567. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126567>
11. Шамрайчук И.Л. Внеклеточная активность пептидаз сапротрофных и фитопатогенных мицелиальных микромицетов. Диссертация на соискание степени кандидата биологических наук. Москва, 2022, 126 с.
12. Gajewska J., Floryszak-Wieczorek J., Sobieszczuk-Nowicka E., Mattoo A., Arasimowicz-Jelonek M. Fungal and oomycete pathogens and heavy metals: an inglorious couple in the environment. *IMA Fungus*, 2022, 13 : 6. <https://doi.org/10.1186/s43008-022-00092-4>
13. Liu P., Wei M., Zhang J., Wang R., Li B., Chen Q., Weng Q. Changes in mycelia growth, sporulation, and virulence of *Phytophthora capsici* when challenged by heavy metals (Cu<sup>2+</sup>, Cr<sup>2+</sup> and Hg<sup>2+</sup>) under acid pH stress. *Environ. Pollut.*, 2018, 235, 372–380. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.100>
14. Tajik S., Ayoubi S., Lorenz N. Soil microbial communities affected by vegetation, topography and soil properties in a forest ecosystem. *Appl. Soil Ecol.*, 2020, 149, 103514. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103514>
15. Lin Y., Yea Y., Hua Y., Shia H. The variation in microbial community structure under different heavy metal contamination levels in paddy soils. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2019, 180, 557–564. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.05.057>
16. Torres-Cruz T.J., Hesse C., Kuske C.R., Porras-Alfaro A. Presence and distribution of heavy metal tolerant fungi in surface soils of a temperate pine forest. *Appl. Soil Ecol.*, 2018, 131, 66–74. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.08.001>
17. Alsabhan A.H., Perveen K., Alwadi A.S. Heavy metal content and microbial population in the soil of Riyadh Region, Saudi Arabia. *J. King Saud Univ. Sci.*, 2022, 34(4), 101671. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101671>
18. Fotedar R., Ai-Hedaithy S. Comparison of phospholipase and proteinase activity in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. *Mycoses*, 2005, 48, 62–67. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2004.01057.x>
19. Богомолова Е.В., Великова Т.Д., Горяева А.Г., Иванова А.М., Кирицели И.Ю., Лебедева Е.В., Мамалева Н.Ю., Панина Л.К., Попихина Е.А., Смоляническая О.Л., Трепова Е.С. Микроскопические грибы в воздухе Санкт-Петербурга. Санкт-Петербург, 2012, 215 с.
20. Vadkertiova R., Slavikova E. Metal tolerance of yeasts isolated from water, soil and plant environments. *J. Basic Microbiol.*, 2006, 46, 145–152. <https://doi.org/10.1002/jobm.200510609>
21. Gadd G.M. Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation. *Mycol Res.*, 2007, 111, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.12.001>
22. Vala A.K., Sutariya V. Trivalent arsenic tolerance and accumulation in two facultative marine fungi. *Jundishapur. J. Microbiol.*, 2012, 5(4), 542–545. <https://doi.org/10.5812/jjm.3383>

23. Singh S., Kang S.H., Mulchandani A., Chen W. Bioremediation: environmental clean-up through pathway engineering. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2008, 19, 437–444. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.07.012>
24. 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. *J. Environ. Sci.*, 2011, 23(5) 824–830. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(10\)60475-5](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(10)60475-5)
25. Mohammadian E., Babai A.A., Arzanlou M., Oustan S., Hossein K.S. Tolerance to heavy metals in filamentous fungi isolated from contaminated mining soils in the Zanjan Province, Iran. *Chemosphere*, 2017, 185, 290–296. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.022>
26. Федосеева Е.В., Данилова О.А., Януцевич Е.А., Терешина В.М., Терехова В.А. Влияние солей тяжелых металлов на рост, спорогенез, липидный и осмолитный профили меланизированного гриба *Alternaria alternata*. Материалы II Всероссийской научной конференции с международным участием “Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания”. 2022 г.
27. Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов. Москва, 2005, 194 с.
28. Ceci A., Maggi O., Pinzari F., Persiani A.M. Growth responses to and accumulation of vanadium in agricultural soil fungi. *Appl. Soil Ecol.*, 2012, 58, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.02.022>
29. Frossard A., Donhauser J., Mestrot A., Gyax S., Bååth E., Frey B. Long- and short-term effects of mercury pollution on the soil microbiome. *Soil Biol. Biochem.*, 2018, 120, 191–199. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.028>
30. Zhang X., Li X., Yang H., Cui Z. Biochemical mechanism of phytoremediation process of lead and cadmium pollution with *Mucor circinelloides* and *Trichoderma asperellum*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2018, 157, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.03.047>
31. Корнейкова М.В., Никитин Д.А. Качественные и количественные характеристики почвенного микробиома в зоне воздействия выбросов Кандалакшского алюминиевого завода. *Почвоведение*, 2021, 6, 725–734. <https://doi.org/10.31857/S0032180X21060083>
32. Идиятов И.И., Галямова С.Р., Бирюля В.В., Валиуллин Л.Р., Папуниди К.Х. Поиск эффективных средств биологической защиты растений и кормов против микромицета *Aspergillus flavus*. *Ветеринарный врач*, 2017, 5, 24–30.
33. Carvalho C.T., Costa F.M., Rosa L.H., de Oliveira A.M., de Oliveira J'unior E.N. *Penicillium citrinum* and *Penicillium mallochii*: new phytopathogens of orange fruit and their control using chitosan. *Carbohydr. Polym.*, 2020, 234, 115918. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.115918>
34. Stošić S., Ristić D., Gašić K., Starović M., Grbić M.L., Vukojević J., Živković S. *Talaromyces minioluteus*: New postharvest fungal pathogen in Serbia. *Plant Dis.*, 2020, 104(3), 656–667. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-19-1806-RE>
35. Терехова В.А., Федосеева Е.В., Волкова В.Д., Иванова А.Е., Якименко О.С. Меланинсодержащие микромицеты в почвах и органических отходах. *Теоретическая и прикладная экология*. 2022, 4, 114–124. <https://doi.org/10.25750/1995-4301-2022-4-204-213>
36. Gorai P.S., Barman S., Gond S.K., Manda N.C. *Trichoderma*. *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*. 2020. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00028-9>
37. 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. *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, 2020, 29, 101783. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101783>
38. Pineda-Fretez A., Orrego A., Masaru Iehisa J.C., Flores-Giubi M.E., Barúa J.E., Sánchez-Lucas R., Jorrín-Novo J., Romero-Rodríguez M.C. Secretome analysis of the phytopathogen *Macrophomina phaseolina* cultivated in liquid medium supplemented with and without soybean leaf infusion. *Fungal Biol.*, 2023, 127(5), 1043–1052. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2023.04.001>
39. Dubovenko A.G., Dunaevsky Y.E., Belozersky M.A., Oerpert B., Lord J.C., Elpidina E.N. Trypsin-like proteins of the fungi as possible markers of pathogenicity. *Fungal Biol.*, 114 (2–3), 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2009.11.004>
40. Шамрайчук И.Л., Кураков А.В., Белозерская М.А., Белякова Г.А., Дунаевский Я.Е. Протеолитическая активность и образование меланина фитопатогенным грибом *Alternaria tomatophila*. *Микология и фитопатология*, 2017, 51(6), 390–393.
41. Gerwien F., Volha S., Lydia K., Bernhard H., Sascha B. Metals in fungal virulence. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2018, 42, 1–21. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux050>
42. Mandal P., Roy T.S., Das T.K., Banerjee U., Xess I., Nosanchuk J.D. Differences in the cell wall architecture of melanin lacking and melanin producing *Cryptococcus neoformans* clinical isolates from India: an electron microscopic study. *Braz. J. Microbiol.*, 2007, 38, 662–666. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000400015>
43. Walker C.A., Gómez B.L., Mora-Montes H.M., Mackenzie K.S., Munro C.A., Brown A.J.P., Gow N.A.R., Kibbler C.C., Odds F.C. Melanin externalization in *Candida albicans* depends on cell wall chitin structures. *Eukaryotic Cell*, 2010, 9, 1329–1342. <https://doi.org/10.1128/EC.00051-10>
44. Rodrigues M.L., Nakayas E.S., Almeida I.C., Nimrichter L. The impact of proteomics on the understanding of functions and biogenesis of fungal extracellular vesicle. *J. Proteomics*, 2014, 97, 177–186. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.04.001>
45. Almeida-Paes R., Frases S., de Araujo G. S., de Oliveira M.M., Gerfen G.J., Nosanchuk J.D., Zancopé-Oliveira R.M. Biosynthesis and functions of a melanoid pigment produced by species of the *Sporothrix complex* in the presence of L-tyrosine. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012, 78, 8623–8630. <https://doi.org/10.1128/AEM.02414-12>

46. Takano Y., Inoue Y., Zhang R., Singkaravanit-Ogawa S., Matsuo H., Ogawa T., Jin C. Nonhost resistance and effectors in interactions between *Colletotrichum* species and plants. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 2023, 125, 101982. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.101982>
47. Kubo Y., Furusawa I. Melanin biosynthesis: prerequisite for successful invasion of the plant host by appressoria of *Colletotrichum* and *Pyricularia*. In: *The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals*. 1991, 205–218. [https://doi.org/10.1007/978-1-4899-2635-7\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4899-2635-7_9)
48. Warris A., Ballou E.R. Oxidative responses and fungal infection biology. *Semin. Cell. Dev. Biol.*, 2019, 89, 34–46. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2018.03.004>
49. Yang Q., Yang J., Wang Y., Du J., Zhang J., Luisi B.F., Liang W. Broad-spectrum chemicals block ROS detoxification to prevent plant fungal invasion. *Curr. Biol.*, 2022, 32(18), 3886–3897.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.07.022>
50. Chung K.-R. Stress response and pathogenicity of the necrotrophic fungal pathogen *Alternaria alternata*. *Scientica*, 2012, 635431. <https://doi.org/10.6064/2012/635431>
51. Huang K., Czymmek K.J., Caplan J.L., Sweigard J.A., Donofrio N.M. HYR1-mediated detoxification of reactive oxygen species is required for full virulence in the rice blast fungus. *PLoS Pathog.* 2011, 7, e1001335. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001335>
52. Mir A.A., Park S.Y., Abu S.M., Kim S., Choi J., Jeon J., Lee Y.H. Systematic characterization of the peroxidase gene family provides new insights into fungal pathogenicity in *Magnaporthe oryzae*. *Sci. Rep.*, 2015, 5, 11831. <https://doi.org/10.1038/srep11831>
53. Yang S.L., Yu P.L., Chung K.R. The glutathione peroxidase mediated reactive oxygen species resistance, fungicide sensitivity and cell wall construction in the citrus fungal pathogen *Alternaria alternata*. *Environ. Microbiol.*, 2016, 18, 923–935. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13125>
54. Lambou K., Lamarre C., Beau R., Dufour N., Latgé J.-P. Functional analysis of the superoxide dismutase family in *Aspergillus fumigatus*. *Mol. Microbiol.*, 2010, 75(4), 910–923. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2009.07024.x>
55. Chai L.Y., Netea M.G., Sugui J., Vonk A.G., van de Sande W.W., Warris A., Kwon-Chung K.J., Kullberg B.J. *Aspergillus fumigatus* conidial melanin modulates host cytokine response. *Immunobiology*, 2010, 215(11), 915–920. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2009.10.002>
56. Jacobson E.S., Tinnell S.B. Antioxidant function of fungal melanin. *J. Bacteriol.*, 1993, 175(21), 7102–7104.
57. Dou D., Kale S.D., Wang X., Jiang R.H.Y., Bruce N.A., Arredondo F.D., Zhang X., Tyler B.M. RXLR-mediated entry of *Phytophthora sojae* effector Avr1b into soybean cells does not require pathogen-encoded machinery. *Plant Cell*, 2008, 20, 1930–1947. <https://doi.org/10.1105/tpc.107.056093>
58. Xu Q., Tang C., Wang L., Zhao C., Kang Z., Wang X. Haustoria – arsenals during the interaction between wheat and *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Mol. Plant Pathol.*, 2020, 21, 83–94. <https://doi.org/10.1111/mpp.12882>
59. Doehlemann G., Van Der Linde K., Aßmann D., Schwambach D., Hof A., Mohanty A., Jackson D., Kahmann R. Pep1, a secreted effector protein of *Ustilago maydis*, is required for successful invasion of plant cells. *PLoS Pathog.*, 2009, 5(2), e1000290. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000290>
60. Doehlemann G., Hemetsberger C. Apoplastic immunity and its suppression by filamentous plant pathogens. *New Phytologist*, 2013, 198, 1001–1016. <https://doi.org/10.1111/nph.12277>
61. Мироненко Н.В. Пластичность генома фитопатогенных грибов. *Микология и фитопатология*, 2019, 53(3), 133–139.
62. Rella A., Farnoud A.M., Del Poeta M. Plasma membrane lipids and their role in fungal virulence. *Prog. Lipid Res.*, 2016, 61, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2015.11.003>
63. Wang J., Wang H., Zhang Ch., Wu T., Ma Z., Chen Y. Phospholipid homeostasis plays an important role in fungal development, fungicide resistance and virulence in *Fusarium graminearum*. *Phytopathol. Res.*, 2019, 1, 16. <https://doi.org/10.1186/s42483-019-0023-9>
64. Akhberdi O., Zhang Q., Wang H., Li Y., Chen L., Wang D., Ya X., Wei D., Zhu X. Roles of phospholipid methyltransferases in pycnidia development, stress tolerance and secondary metabolism in the taxol-producing fungus *Pestalotiopsis microspore*. *Microbiol. Res.*, 2018, 210, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.03.001>
65. Wołczańska A., William W.C., Fuchs B., Galuska C.E., Kowalczyk B., Palusińska-Szyszk M. Fatty acid composition and lipid profiles as chemotaxonomic markers of phytopathogenic fungi *Puccinia malvacearum* and *P. glechomatis*. *Fungal Biol.*, 2021, 125(11), 869–878. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.05.008>
66. Thevissen K., Warnecke D.C., Francois I.E., Leipelt M., Heinz E., Ott C., Zähringer U., Thomma B.P.H.J., Ferket K.K.A., Cammue B.P.A. Defensins from insects and plants interact with fungal glucosylceramides. *J. Biol. Chem.*, 2004, 279, 3900–3905. <https://doi.org/10.1074/jbc.M311165200>
67. Ramamoorthy V., Cahoon E.B., Li J., Thokala M., Minto R.E., Shah D.M. Glucosylceramide synthase is essential for alfalfa defensin-mediated growth inhibition but not for pathogenicity of *Fusarium graminearum*. *Mol. Microbiol.*, 2007, 66, 771–786. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05955.x>
68. Yancey P.H. Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. *J. Exp. Biol.*, 2005, 208(15), 2819–2830. <https://doi.org/10.1242/jeb.01730>
69. Yancey P.H., Siebenaller J.F. Co-evolution of proteins and solutions: protein adaptation versus cytoprotective micromolecules and their roles in marine organisms. *J. Exp. Biol.*, 2015, 218(12), 1880–1896. <https://doi.org/10.1242/jeb.114355>
70. Solomon P.S., Ormonde D.C.W., Richard P.O. Decoding the mannitol enigma in filamentous fungi. *Trends Mi-*

- crobiol.*, 2007, 15(6), 257–262.  
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.04.002>
71. Argüelles J.-C., Guirao-Abad J.P., Sánchez-Fresneda R. Trehalose: a crucial molecule in the physiology of fungi. *Reference Module in Life Sciences*. 2017, 486–494.  
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809633-8.12084-9>
  72. Ianutsevich E.A., Danilova O.A., Antropova A.B., Tereshina V.M. Acquired thermotolerance, membrane lipids and osmolytes profiles of xerohalophilic fungus *Aspergillus penicillioides* under heat shock. *Fungal Biol.*, 2023, 127(3), 909–917.  
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2023.01.002>
  73. Martínez-Esparza M., Martínez-Vicente E., González-Párraga P., Ros J.M., García-Peñarribia P., Argüelles J.-C. Role of trehalose-6 Pphosphatase (TPS2) in stress tolerance and resistance to macrophage killing in *Candida albicans*. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2009, 299, 453–464.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2008.12.001>
  74. Дьяков Ю.Т. Ботаника: курс альгологии и микологии: Учебник. – М.: Изд-во МГУ, 2007. – 559 с.
  75. Берестецкий А.О. Фитотоксины грибов: от фундаментальных исследований - к практическому использованию (обзор). *Прикладная биохимия и микробиология*, 2008, 44 (5), 501–514.
  76. Далинова А.А., Салимова Д.Р., Берестецкий А.О. Грибы рода *Alternaria* как продуценты биологически активных соединений и биогербицидов (обзор). *Прикладная биохимия и микробиология*, 2020, 56 (3), 223–241.  
<https://doi.org/10.31857/S0555109920030022>
  77. Barash I. How way leads on to way. *Annual Rev. Phytopathol.* 2014, 52, 1–17. doi: 10.1146/annurev-phyto-102313-045953
  78. Tucker S.L., Thornton C.R., Tasker K., Jacob C., Giles G., Egan M., Talbota N.J. A fungal metallothionein is required for pathogenicity of *Magnaporthe grisea*. *Plant Cell*, 2004, 16, 1575–1588.  
<https://doi.org/10.1105/tpc.021279>
  79. Скугорева С.Г., Кантор Г.Я., Домрачева Л.И. Биосорбция тяжелых металлов микромицетами: специфика процесса, механизмы, кинетика. *Теоретическая и прикладная экология*, 2019, 2, 14–31. doi:
  80. Viau C.M., Cardone J.M., Guecheva T.N., Yoneama M.-L., Dias J.F., Pungartnik C., Brendel M., Saffi J., João A.P. Henriques aEnhanced resistance of yeast mutants deficient in low-affinity iron and zinc transporters to stationary-induced toxicity. *Chemosphere*, 2012, 86, 477–84.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.10.007>
  81. Caetano S.M., Menezes R., Amaral C., Rodrigues-Pousada C., Pimentel C. Repression of the low affinity iron transporter gene FET4: A novel mechanism against cadmium toxicity orchestrated by YAP1 via ROX1. *J. Biol. Chem.*, 2015, 290, 18584–18595.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M114.600742>
  82. Cherrad S., Girard V., Dieryckx C., Goncalves Isabelle R Dupu., J.-W., Bonneau M., Rasclé C., Job C., Job D., S Vacherb S., Poussereau N. Proteomic analysis of proteins secreted by *Botrytis cinerea* in response to heavy metal toxicity. *Metallomics*, 2012, 4, 835. doi: 0041d  
<https://doi.org/10.1039/c2mt2>
  83. Richards T.A., Dacks J.B., Jenkinson J.M., Thornton C.R., Talbot N.J. Evolution of filamentous plant pathogens: gene exchange across eukaryotic kingdoms. *Curr. Biol.*, 2006, 16, 1857–1864.  
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.07.052>
  84. Saitoh Y., Izumitsu K., Morita A., Tanaka C. A copper-transporting ATPase BcCCC2 is necessary for pathogenicity of *Botrytis cinerea*. *Mol. Genet. Genomics*, 2010, 284, 33–43.  
<https://doi.org/10.1007/s00438-010-0545-4>
  85. Antsoategi-Uskola M., Markina-Iñarrairaegui A., Ugalde U. New insights into copper homeostasis in filamentous fungi. *Int. Microbiol.*, 2020, 23, 65–73.  
<https://doi.org/10.1007/s10123-019-00081-5>
  86. Słaba M., Szewczyk R., Piątek M.A., Długoński J. Alachlor oxidation by the filamentous fungus *Paecilomyces marquandii*. *J. Hazard Mater.*, 2013, 261, 443–450.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.06.064>
  87. Федосеева Е.В., Данилова О.А., Януцевич Е.А., Терехова В.А., Терешина В.М. Липиды микромицетов и стресс. *Микробиология*, 2021, 90(1), 43–63.  
<https://doi.org/10.31857/S0026365621010043>
  88. Méjanelle L., López J.F., Gunde-Cimerman N., Grimalt J.O. Ergosterol biosynthesis in novel melanized fungi from hypersaline environments. *J. Lipid Res.*, 2001, 42(3), 352–358.  
[https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)31658-8](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)31658-8)
  89. Roser D.J., Melick D.R., Seppelt R.D. Reductions in the polyhydric alcohol content of lichens as an indicator of environmental pollution. *Antarct. Sci.*, 1992, 4, 185–189.  
<https://doi.org/10.1017/S0954102092000282>
  90. Osyczka P., Latkowska E., Rola K. Metabolic processes involved with sugar alcohol and secondary metabolite production in the hyperaccumulator lichen *Diploschistes muscorum* reveal its complex adaptation strategy against heavy-metal stress. *Fungal Biol.*, 2021, 125(12), 999–1008.  
<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.08.002>
  91. Cuero R., Ouellet T., Yu J., Mogongwa N. Metal ion enhancement of fungal growth, gene expression and aflatoxin synthesis in *Aspergillus flavus*: RT-PCR characterization. *J. Appl. Microbiol.*, 2003, 94, 953–961.  
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01870.x>
  92. Cuero R., Ouellet T. Metal ions modulate gene expression and accumulation of the mycotoxins aflatoxin and zearalenone. *J. Appl. Microbiol.*, 2005, 98, 598–605.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02492.x>
  93. Savi G.D., Bortoluzzi A.J., Scussel V.M. Antifungal properties of zinc-compounds against toxigenic fungi and mycotoxin. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2013, 48, 1834–1840.  
<https://doi.org/10.1111/ijfs.12158>
  94. Yehia R., Ahmed O. In vitro study of the antifungal efficacy of zinc oxide nanoparticles against *Fusarium oxysporum* and *Penicillium expansum*. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 2013, 7, 1917–1923.  
<https://doi.org/10.5897/AJMR2013.5668>

## Molecular Factors of Fungi Virulence in Relation to Heavy Metal Contamination of Soils

E. V. Fedoseeva<sup>a, #</sup>, O. S. Luchkina<sup>a</sup>, and V. A. Terekhova<sup>b</sup>

<sup>a</sup>*Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia*

<sup>b</sup>*Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: elenfedoseeva@gmail.com*

**Abstract**—Heavy metal (HM) pollution has become one of the important threats to biological processes occurring in soil and to soil microbiota. This threat also extends to the active component of the soil microbial biota—fungi. In soils polluted with HMs, fungal communities undergo significant structural changes, leading, in particular, to an increase in the proportion and diversity of HM-resistant fungi, among which opportunistic human pathogens and facultative plant pathogens are found. The strains of opportunistic for humans fungi isolated from polluted soils have pathogenic properties to a greater extent than the strains isolated from clean soil. The implementation of pathogenic properties is determined by a number of molecular factors (virulence factors), among which are the activity of certain groups of enzymes, the action of antioxidant defense mechanisms and effector proteins, the synthesis of melanin and toxins, modification of the lipid and carbohydrate composition of the cell. Heavy metals and soil pollution with them can influence the implementation of the pathogenic properties of fungi and fungus-like organisms that are toxic for humans, animals and plants. The review provides literature data on molecular virulence factors and their modifications under the influence of HMs. Considering that at the moment there is no clear understanding of the direction of the action of HMs on the implementation of pathogenic properties by fungi, the analyzed literature data can still contribute to understanding the consequences of soil pollution with HMs for the development of opportunistic human pathogens and facultative phytopathogens.

**Keywords:** fungi, phytopathogens, human and animal pathogens, heavy metals, soil pollution, lipids, osmolytes, melanins, hydrolytic enzymes, antioxidant protection