

УДК 579.6 : 579.222

СОРБЦИЯ И БИОДЕСТРУКЦИЯ МИКРОЦИСТИНА-LR ШТАММОМ *PENICILLIUM VERRUCOSUM* CP4, ВЫДЕЛЕННЫМ ИЗ ДОННЫХ ОСАДКОВ ОЗЕРА СЕСТРОРЕЦКИЙ РАЗЛИВ

© 2023 г. Н. Г. Медведева^{1,*}, И. Л. Кузикова^{1,**}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

“Санкт-Петербургский Федеральный исследовательский центр Российской академии наук” (СПб ФИЦ РАН),
Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности Российской академии наук,
197110 Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: ngmedvedeva@gmail.com

**e-mail: ilkuzikova@ya.ru

Поступила в редакцию 20.04.2023 г.

После доработки 01.05.2023 г.

Принята к публикации 20.05.2023 г.

Штамм микромицета CP4, способный разрушать микроцистин – LR (MC-LR), выделен из донных осадков озера Сестрорецкий Разлив. На основании морфолого-культуральных характеристик и секвенирования ITS региона ДНК штамм CP4 идентифицирован как *Penicillium verrucosum*. Снижение содержания MC-LR в процессе культивирования штамма CP4 с 0.64 мкг/мл до 0.31 мкг/мл происходит, главным образом, за счет биодеструкции и в меньшей степени, вследствие сорбции токсина грибными клетками. Методом биотестирования (*Daphnia magna*) показано снижение токсичности культуральной жидкости в процессе биодеструкции MC-LR штаммом CP4. Полученные результаты позволяют рассматривать *Penicillium verrucosum* CP4 как перспективный штамм для микоремедиации водных объектов, загрязненных микроцистинами.

Ключевые слова: биодеструкция, микромицеты, микроцистин – LR, сорбция, токсичность, цианобактерии

DOI: 10.31857/S0026364823040062, **EDN:** VUXTJG

ВВЕДЕНИЕ

Микроцистины (MC) относятся к циклическим гептапептидным цианотоксинам со структурой цикла(d-Ala-X-d-MeAsp-Z-Adda-d-Glu-Mdha), где d-Ala – d-аланин; d-MeAsp – d-эритро-β-метил-аспарагиновая кислота; Adda – 3-амино-9-метокси-2,6,8-триметил-10-фенилдека-4 (E),6(E)-диеновая кислота; d-Glu – d-глутаминовая кислота; Mdha – N-метилдегидроаланин; X и Z – переменные аминокислоты (Huisman et al., 2018).

Микроцистины являются одними из самых распространенных цианотоксинов в пресных водах водоемов по всему миру. Они продуцируются цианобактериями родов *Anabaena*, *Microcystis*, *Planktothrix* (*Oscillatoria*), *Nostoc* и некоторыми другими (Chorus, Bartram, 1999). В процессе роста цианобактерий MC находятся в основном в клетках и попадают в воду в результате их разрушения. MC являются гепатотоксинами, могут вызывать онкологические и гастроинтестинальные проблемы (Zurawell et al., 2005; Carmichael, Boyer, 2016; Massey, Yang, 2020). Известно более 240 изомеров

микроцистинов, отличающихся разной токсичностью (Meriluoto et al., 2017; Massey, Yang, 2020). Наибольшую токсичность проявляет микроцистин – LR (MC-LR), в структурной формуле которого переменными аминокислотами X и Z являются лейцин и аргинин соответственно (Chorus, Bartram, 1999).

Несмотря на стабильность под действием высоких температур, солнечного света, экстремальных pH, обусловленную циклической структурой, микроцистины могут подвергаться биодеструкции. Именно процесс биодеструкции лежит в основе механизма разрушения микроцистинов в природных условиях (Christoffersen et al., 2002; Medvedeva, Kuzikova, 2021). Способностью деградировать микроцистины обладают как прокариотические, так и эукариотические микроорганизмы. Большинство исследований по микробиологической деструкции MC сосредоточено на бактериальных культурах. Бактерии-деструкторы MC в основном относятся к *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Bacilli* (Massey, Yang, 2020; Medvedeva,

Kuzikova, 2021). Однако по исследованию деструкции МС грибами имеются лишь единичные работы (Zhang, Xie, 2012; Jia et al., 2012a; Balsano et al., 2015; Esterhuizen-Londt et al., 2017). В настоящее время известно только шесть видов грибов, относящихся к базидиомицетам (3), аскомицетам (2), зигомицетам (1), способных удалять МС-LR из растворов за счет сорбции и/или деструкции (Mohamed et al., 2021). В связи с этим поиск новых штаммов грибов-деструкторов микроцистинов является актуальной задачей, решение которой будет способствовать созданию конвергентных биотехнологий детоксикации водных объектов, загрязненных токсичными метаболитами цианобактерий.

Целью настоящего исследования было выделение из донных осадков озера Сестрорецкий Разлив и идентификация нового штамма мицелиальных грибов, способного к удалению МС-LR из растворов; определение способности выделенного штамма сорбировать и деструктировать микроцистин – LR.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выделение и идентификация культур микромицетов. Культуры микромицетов выделяли из образца донных осадков озера Сестрорецкий Разлив, в котором регулярно наблюдается массовое развитие цианобактерий, в том числе токсигенных (Chernova et al., 2016). Выделение культуры проводили традиционным методом посева разведений из суспензии на плотную питательную среду Чапека (2% глюкозы), содержащую стрептомицин (100 мкг/мл). Десорбцию микроорганизмов с частиц донного осадка осуществляли путем обработки водной суспензии ультразвуком (40 кГц) в ультразвуковой ванне ДА-963 (КНР) в течение 10 мин, с последующим встряхиванием на шейкере Certomat BS-1 (180 об./мин) в течение 10 мин. Выделенные культуры микромицетов хранили в рабочей коллекции микроорганизмов СПб ФИЦ РАН. Идентификацию штамма CP4 проводили по морфологическим признакам (Samson, Reenen-Hoekstra, 1988) и по секвенированию ITS1–5.8S–ITS2 региона ДНК, амплификацию которого проводили с использованием пар универсальных праймеров: ITS1 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' и ITS4 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' (White et al., 1990). Выделение, амплификацию и секвенирование геномной ДНК гриба осуществляли согласно ранее описанной процедуре (Kuzikova et al., 2017). Определение нуклеотидной последовательности ПЦР-продуктов проводили на генетическом анализаторе ABI 3500xl (Applied Biosystems, США) в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ВКСМ, г. Санкт-Петербург). Поиск

гомологичных последовательностей и идентификацию проводили с помощью базы данных GenBank (программа BLAST) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Выделение сырца МС-LR. Для получения сырца МС-LR токсигенный штамм *Microcystis aeruginosa* CALU 973 культивировали в течение 14 сут на среде BG11 в условиях, описанных ранее (Zaytseva et al., 2022). Биомассу цианобактерий отделяли центрифугированием (6000 об./мин) и лиофилизировали. Около 2 г биомассы смешивали с 10 мл 80% водного метанола и обрабатывали ультразвуком в течение 1 ч. Затем смесь центрифугировали при 10000 об./мин в течение 10 мин при 4°C. Супернатант концентрировали на роторном испарителе ИР-1МЗ при 40 С для удаления метанола. Полученный экстракт разбавляли дистиллированной водой (10 мл) и хранили при –20°C. Концентрация МС-LR в сырце составляла 74.2 мкг/мл.

Определение МС-LR. Концентрацию МС-LR в р-рах определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе HP 1090 (США) с диодноматричным детектором (длина волны 238 нм, разрешение 1.2 нм) по методике, описанной ранее (Medvedeva et al., 2017). Стандартный раствор МС-LR получен от Alexis Corporation (Lausen, Швейцария). При определении количества МС-LR сорбированного клетками микромицета биомассу отделяли от нативного раствора центрифугированием при 6000 об./мин в течение 15 мин и лиофилизировали. Биомассу (0.4 ± 0.1 г а.с.в.) гомогенизировали на установке TissueLyser LT QIAGEN с пятимиллиметровыми стальными шариками в течение 10 мин. К гомогенизату биомассы добавляли 1.52 мл 80%-го водного метанола, содержащего 0.1% трифторуксусной кислоты. Экстракцию проводили на ультразвуковой установке ДА-963 в течение 45 мин при 4°C. Биомассу отделяли центрифугированием (4000 об./мин, 10 мин), ресуспендировали в 1.5 мл метанола и повторно экстрагировали МС-LR. Процедуру экстракции проводили трижды. Супернатанты объединяли и определяли в них содержание МС-LR методом ВЭЖХ.

Культивирование штамма CP4. Культивирование штамма CP4 проводили в колбах Эрленмейера объемом 250 мл (объем среды Чапека с 2% глюкозы 50 мл) в темновых условиях на роторном шейкере Certomat BS-1 при 230 об./мин, при температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение семи суток. Споровую суспензию (титр $1-2 \times 10^7$ кл./мл) штамма CP4 инкубировали в течение двух суток в указанных выше условиях. Затем посевной материал в соотношении 1 : 9 переносили в колбы объемом 250 мл с 50 мл жидкой среды Чапека с 2% глюкозы. Сырец МС-LR вносили в питательную среду в виде водного р-ра, создавая концентрацию в среде 0.64 мкг/мл. С целью оценки убыли МС-LR в

абиотических условиях дополнительно использовали абиотический контроль без внесения культуры. Прирост биомассы определяли весовым методом. Степень удаления MC-LR из нативного р-ра (R), степень абиотической убыли MC-LR (в контрольном варианте без клеток штамма CP4) ($R_{\text{абиот.}}$), долю сорбированного клетками MC-LR ($R_{\text{сорб.}}$), степень биодеструкции MC-LR ($R_{\text{биодестр.}}$) штаммом CP4 рассчитывали по следующим формулам:

$$R (\%) = 100 \times (C_{\text{исх.}} - C_{\text{оп.}}) / C_{\text{исх.}};$$

$$R_{\text{абиот.}} (\%) = 100 \times (C_{\text{исх.}} - C_{\text{абиот.}}) / C_{\text{исх.}};$$

$$R_{\text{сорб.}} (\%) = 100 \times C_{\text{сорб.}} / C_{\text{исх.}};$$

$$R_{\text{биодестр.}} (\%) = R - R_{\text{сорб.}} - R_{\text{абиот.}};$$

где $C_{\text{исх.}}$ — исходная концентрация MC-LR (мкг/мл) в среде; $C_{\text{оп.}}$ и $C_{\text{абиот.}}$ — соответственно остаточная концентрация MC-LR (мкг/мл) в нативном р-ре и в абиотическом контроле; $C_{\text{сорб.}}$ — концентрация сорбированного клетками MC-LR (мкг/мл).

Определение токсичности MC-LR и продуктов его деструкции. Определение острой летальной токсичности фильтратов культуральной жидкости и абиотического контроля, содержащих MC-LR проводили методом биотестирования по гибели ракообразных *Daphnia magna* Straus (Methodology, 2007). Критерием острой летальной токсичности является средняя летальная кратность разбавления водных растворов (ЛКР_{50–96}), вызывающая 50%-ю гибель дафний за 96 ч биотестирования. Для получения точного значения ЛКР_{50–96} использовали графический метод определения по линейной части кривой.

Статистический анализ и графическое представление результатов проводились с использованием программ Microsoft Excel 2007 и Past 4.0 software. Статистическую значимость различий между вариантами выявляли с помощью one-way ANOVA с последующим использованием U -критерия Манна–Уитни ($p < 0.05$). Данные представляли, как среднее арифметическое стандартное отклонение (SD) трех независимых биологических повторностей.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из образца донных осадков озера Сестрорецкий Разлив выделен штамм микроциста CP4, обладающий способностью к биодеструкции микроцистина — LR.

Штамм на плотной питательной среде Чапека с 2% глюкозы образует ограниченные колонии, которые на 14-е сут роста достигают 25–27 см при температуре 25°C. Колонии плотные, войлочные,

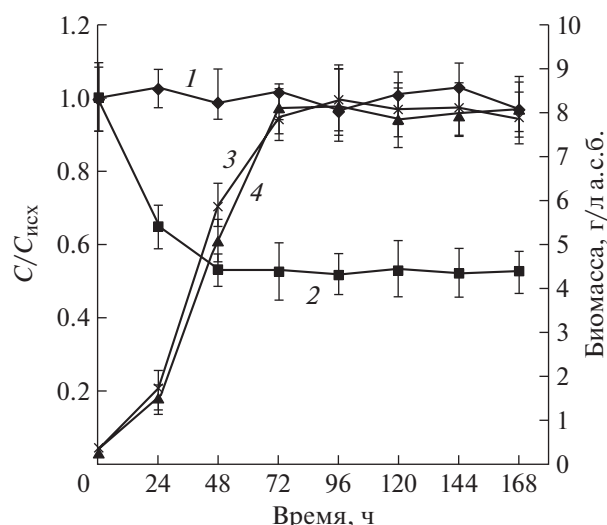


Рис. 1. Удаление MC-LR из нативного р-ра в условиях культивирования штамма *Penicillium verrucosum* CP4: 1 — абиотический контроль; 2 — удаление MC-LR штаммом CP4; 3 — прирост биомассы гриба на среде Чапека; 4 — прирост биомассы гриба на среде Чапека с 0.64 мкг/мл MC-LR.

с неограниченной зоной до широкой нечетко выраженной зоны, с радиально расходящимся складчатым широким белым краем. Зона спороношения сине-зеленых оттенков зернистая. Экссудат незначительный, пигмент не окрашивает питательную среду. Обратная сторона колонии от бесцветной до светло-желтой.

С помощью метода секвенирования фрагмента последовательности гена рДНК (ITS1–5.8S–ITS2 региона) показано, что гомология нуклеотидной последовательности ITS региона рДНК исследуемого штамма с таковой наиболее близких видов (база данных GenBank) рода *Penicillium* — *Penicillium expansum* ATCC 7861 T, *P. verrucosum* FRR 965 T и *P. viridicatum* FRR 963 T составила 100%. По совокупности морфолого-культуральных характеристик и результатов секвенирования фрагментов последовательности гена (ITS1–5.8S–ITS2 региона) рДНК изолят CP4 идентифицирован как *P. verrucosum*.

Исследование процесса удаления MC-LR из водных растворов клетками гриба *P. verrucosum* CP4 проводили при концентрации MC-LR 0.64 мкг/мл. В условиях эксперимента в контрольном варианте (без клеток микроциста) убыли MC-LR не наблюдается, что согласуется с данными других исследователей (Esterhuizen-Londt et al., 2017). В присутствии клеток штамма CP4 концентрация MC-LR в нативном р-ре снижается за 48 ч культивирования на 47% (рис. 1, табл. 1). При увеличе-

Таблица 1. Прирост биомассы, содержание MC-LR в нативных растворах и сорбция MC-LR клетками штамма CP4

Время культивирования, ч	Прирост биомассы гриба, г/л	Содержание MC-LR в нативном р-ре		Количество MC-LR сорбированного клетками гриба		Степень удаления MC-LR из нативного р-ра (R), %	Доля сорбированного MC-LR (R _{сорб}), %	Степень биодеструкции MC-LR (R _{биод}), %
		мкг/мл	% к исходному	мкг/г а.с.б.	10 ⁻³ мкг/мл			
24	1.5 ± 0.1 ^{а*}	0.42 ± 0.03 ^а	65.7	0.3 ± 0.02 ^а	0.45 ± 0.031 ^а	34.3	0.07	34.23
48	5.7 ± 0.6 ^б	0.34 ± 0.02 ^б	53.1	0.033 ± 0.007 ^б	0.19 ± 0.02 ^б	46.9	0.03	46.87
72	8.1 ± 0.7 ^в	0.31 ± 0.03 ^б	52.9	0.024 ± 0.002 ^б	0.19 ± 0.01 ^б	47.1	0.03	47.07

Примечание. * Разные буквы в одном столбце означают достоверные различия при $p < 0.05$.

нии времени культивирования выше 48 ч дальнейшей убыли токсина не наблюдалось ($p > 0.05$). Следует отметить, что в исследуемой концентрации MC-LR не оказывал ингибирующего действия на рост микромицета *P. verrucosum* CP4 (рис. 1).

Удаление MC-LR из нативного р-ра штаммом CP4 происходит как в результате биодеструкции токсина, так и его сорбции клетками микромицета (табл. 1). Следует отметить, что на протяжении всего процесса культивирования количество MC-LR, сорбированного клетками микромицета (0.03–0.07%), было значительно ниже количества микроцистина, подвергнувшегося биодеградаци (34.2–47.1%) (табл. 1). Полученные результаты позволяют заключить, что снижение содержания MC-LR в процессе культивирования штамма *Penicillium verrucosum* CP4 происходит, главным образом, за счет биодеструкции, а не сорбции клетками микромицета. В отличие от исследуемого нами штамма CP4 удаление MC-LR из р-ров клетками *Aureobasidium pullulans* происходит не за счет биодеструкции, а путем сорбции микроцистинов клетками дрожжеподобных грибов (Mohamed et al., 2020).

По способности деструктировать MC-LR штамм CP4 превосходит штамм *Mucor hiemalis* EH5. Так, 37% MC-LR было деструктировано *M. hiemalis* EH5 при значительно более низкой, чем в нашем исследовании исходной концентрации токсина 0.03 мкг/мл (Esterhuizen-Londt et al., 2017). Более высокую способность к удалению MC-LR из растворов по сравнению со штаммом CP4 проявляют штамм аскомицета *Trichoderma citrinoviride* KKuf-0955 и базидиомицета *Schizophyllum commune*. Штамм *Trichoderma citrinoviride* KKuf-0955 способен деградировать через 72 ч 100% MC-LR с исходной концентрацией 2.7 мкг/мл (Mohamed et al., 2014). Базидиомицет *Schizophyllum commune* полностью деградировал 1 и 15 мкг/л микроцистина за 48 и 144 ч соответственно (Zhang, Xie, 2012).

Для сравнительной оценки токсичности MC-LR и продуктов его деструкции штаммом *Penicillium verrucosum* CP4 проводили биотестирование с использованием в качестве тест-объектов ракообразных *Daphnia magna*, широко применяемого биоиндикатора при оценке токсичности пестицидов, красителей, микотоксинов и пр. (Guida et al., 2008). Результаты биотестирования показали, что 79.4%-я концентрация исследуемого фильтрата культуральной жидкости (разведение в 1.3 раза) вызывает 50%-ю гибель тест-объектов за 96 ч, в то время как в абиотическом контроле 50%-я гибель тест-объектов выявлена при 12.6%-й концентрации (разведение в 7.9 раза). Следует отметить, что фильтрат культуральной жидкости штамма CP4,

Таблица 2. Результаты определения острой токсичности фильтратов культуральной жидкости и абиотического контроля

Исследуемая концентрация фильтрата культуральной жидкости и абиотического контроля, %	Количество выживших дафний			Смертность дафний в абиотическом контроле, % к контролю	Смертность дафний в фильтрате культуральной жидкости, % к контролю	Летальная концентрация абиотического контроля ЛКР _{50–96} , %	Летальная концентрация фильтрата культуральной жидкости, ЛКР _{50–96} , %
	Контроль	Абиотический контроль	Фильтрат культуральной жидкости				
5	30	20	30	33	0	12.6	79.4
10	30	16	27	47	10		
25	30	10	21	67	30		
50	30	5	19	83	37		
100	30	1	14	97	53		

не содержащий MC-LR на 72 ч культивирования не обладал токсичностью по отношению к *D. magna* (данные не представлены). Таким образом, после 72 ч культивирования штамма *Penicillium verrucosum* CP4 на среде Чапека, содержащей 0.64 мкг/мл MC-LR, острая токсичность фильтрата культуральной жидкости снижается более чем в 6 раз ($p < 0.05$) по сравнению с абиотическим контролем, что коррелирует с убылью цианотоксина в нативном р-ре (табл. 2, рис. 1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В основе механизма деградации микроцистинов в окружающей среде лежит процесс биодеструкции, в том числе микроорганизмами. В настоящее время известно пять видов грибов, способных деградировать микроцистины, в том числе MC-LR – базидиомицеты *Trichaptum abietinum*, *Schizophyllum commune*, *Phanerochaete chrysosporium*, аскомицет *Trichoderma citrinoviride*, зигомицет *Mucor hiemalis* (Jia et al., 2012a, 2012b; Zhang, Xie, 2012; Mohamed et al., 2014; Balsano et al., 2015; Esterhuizen-Londt et al., 2017; Zeng et al., 2020). Представленная работа является первым сообщением о способности микромицета *Penicillium verrucosum* удалять из водных сред высокотоксичный микроцистин – LR. Снижение содержания MC-LR происходит главным образом за счет его биодegradации, а не сорбции грибными клетками. Продукты биодegradации MC-LR обладают меньшей токсичностью по сравнению с исходным цианотоксином. Полученные результаты позволяют рассматривать *P. verrucosum* CP4 как перспективный штамм для микоремедиации водных объектов, загрязненных микроцистинами.

Авторы выражают благодарность к.б.н., заведующей ведомственной коллекцией полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения ФГБНУ ВНИИСХМ В.И. Сафроновой за идентификацию штамма CP-4.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-24-00140.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Balsano E., Esterhuizen-Londt M., Hoque E. et al. Toxin resistance in aquatic fungi poses environmentally friendly remediation possibilities: a study on the growth responses and biosorption potential of *Mucor hiemalis* EH5 against cyanobacterial toxins. Int. J. Water Wastewater Treat. 2015. V. 1 (1). P. 1–9.
- Carmichael W.W., Boyer G.L. Health impacts from cyanobacteria harmful algae blooms: Implications for the North American Great Lakes. Harmful Algae. 2016.

- V. 54. P. 194–212.
<https://doi.org/10.1016/j.hal.2016.02.002>
- Chernova E.N., Russkikh I.V., Voyakin E. et al. Occurrence of microcystins and anatoxin-a in eutrophic lakes of Saint Petersburg, Northwestern Russia. *Oceanological and Hydrobiological Studies*. 2016. V. 45. P. 466–484.
<https://doi.org/10.1515/ohs-2016-0040>
- Chorus I., Bartram J. *Toxic Cyanobacteria in water: a guide to public health significance, monitoring and management*. World Health Organization. Spon, Chapman and Hall, London 1999.
- Christoffersen K., Lyck S., Winding A. Microbial activity and bacterial community structure during degradation of microcystins. *Aquat. Microb. Ecol.* 2002. V. 27 (2) P. 125–136.
<https://doi.org/10.3354/ame027125>
- Esterhuizen-Londt M., Hertel S., Pflugmacher S. Uptake and biotransformation of pure commercial microcystin-LR versus microcystin-LR from a natural cyanobacterial bloom extract in the aquatic fungus *Mucor hiemalis*. *Biotechnology Lett.* 2017. V. 39 (10) P. 1537–1545.
- Guida M., Inglese M., Meriç S. A multi-battery toxicity investigation on fungicides. 2008. V. 226 (1–3). P. 262–270.
- Huisman J., Codd G.A., Paerl H.W. et al. Cyanobacterial blooms. *Nat. Rev. Microbiol.* 2018. V. 16. P. 471–483.
- Jia Y., Du J., Song F. et al. A fungus capable of degrading microcystin-LR in the algal culture of *Microcystis aeruginosa* PCC7806. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2012a. V. 166 (4). P. 987–996.
- Jia Y., Wang C., Zhao G. et al. The possibility of using cyanobacterial bloom materials as a medium for white rot fungi. *Letters in applied microbiology*. 2012b. V. 54 (2). P. 96–101.
- Kuzikova I., Safronova V., Zaytseva T. et al. Fate and effects of nonylphenol in the filamentous fungus *Penicillium expansum* isolated from the bottom sediments of the Gulf of Finland. *J. Marine Systems*. 2017. V. 171. P. 111–119.
<https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2016.06.003>
- Massey I.Y., Yang F.A. Mini review on microcystins and bacterial degradation. *Toxins*. 2020. V. 12 (4). P. 268.
<https://doi.org/10.3390/toxins12040268>
- Medvedeva N., Zaytseva T., Kuzikova I. Cellular responses and bioremoval of nonylphenol by the bloom-forming cyanobacterium *Planktothrix agardhii* 1113. *J. Marine Systems*. 2017. V. 171. P. 120–128.
<https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2017.01.009>
- Medvedeva N.G., Kuzikova I.L. Microcystin-LR degradation by indigenous bacterial community of Rybinsk Reservoir. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science*. 2021. V. 834 (1). 012066.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/834/1/012066>
- Meriluoto J., Spoof L., Codd G.A. (eds). *Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis*. 2017. John Wiley and Sons, Ltd, Chichester.
- Methodology for determining the toxicity of water and water extracts from soils, sewage sludge, waste by mortality and changes in the fertility of daphnia. FR.1.39.2007.03222. Aquaros, Moscow, 2007 (in Russ.).
- Mohamed Z.A., Alamri S., Hashem M. et al. Growth inhibition of *Microcystis aeruginosa* and adsorption of microcystin toxin by the yeast *Aureobasidium pullulans*, with no effect on microalgae. *Environm. Sci. Pollut. Res.* 2020. V. 27 (30). P. 38038–38046.
- Mohamed Z.A., Hashem M., Alamri S.A. Growth inhibition of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* and degradation of its microcystin toxins by the fungus *Trichoderma citrinoviride*. *Toxicon*. 2014. V. 86. P. 51–58.
- Mohamed Z.A., Hashem M., Alamri S. et al. Fungal biodegradation and removal of cyanobacteria and microcystins: potential applications and research needs. *Environm. Sci. Pollut. Res.* 2021. V. 28. P. 37041–37050.
<https://doi.org/10.1007/s11356-021-14623-w>
- Samson R.A., Reenen-Hoekstra E.S. *Introduction to food-borne fungi*. 3rd ed. CBS, Baarn, 1988.
- White T.J., Bruns T., Lee S. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: M.A. Innis etc. (eds). *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. 1990. Academic Press, N.Y., 315–322.
- Zaytseva T.B., Safronova V.I., Medvedeva N.G. *Streptomyces geldanamycininus* Z374 – a novel strain with biocidal activity against cyanobacteria. *Theor. Appl. Ecology*. 2022. P. 159–166.
<https://doi.org/10.25750/1995-4301-2022-1-159-166>
- Zeng G., Gao P., Wang J. et al. Algicidal molecular mechanism and toxicological degradation of *Microcystis aeruginosa* by white-rot. *Toxins*. 2020. V. 12 (6). P. 406.
- Zhang Y., Xie H.F. Study on the biodegradation of microcystin-LR by white-rot fungus *S. commune*. *Environmental Pollution and Control*. 2012. V. 34. P. 56–60.
- Zurawell R.W., Chen H., Burke J.M. et al. Hepatotoxic cyanobacteria: a review of the biological importance of microcystins in freshwater environments. *J. Toxicol. Environ. Health, Part B: Critical Reviews*. 2005. V. 8. P. 1–37.
<https://doi.org/10.1080/10937400590889412>
- Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний (Methodology). ФР.1.39.2007.03222. Москва: Акварос, 2007.

Sorption and Biodestruction of Microcystin-LR by *Penicillium verrucosum* CP4 Strain Isolated from the Bottom Sediments of Sestroretsky Razliv Lake

N. G. Medvedeva^{a,#} and I. L. Kuzikova^{a,##}

^aSt. Petersburg Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences,
Scientific Research Centre for Ecological Safety of the Russian Academy of Sciences,
197110 St. Petersburg, Russia

[#]e-mail: ngmedvedeva@gmail.com

^{##}e-mail: ilkuzikova@ya.ru

The strain of fungus CP4 capable of degrading microcystin – LR (MC-LR) was isolated from the bottom sediments of Sestroretsky Razliv Lake. Based on DNA ITS sequencing and morphological analysis, the CP4 strain was identified as *Penicillium verrucosum*. The decrease in the content of MC-LR during the cultivation of strain CP4 from 0.64 µg/mL to 0.31 µg/mL occurs mainly due to biodegradation and, to a lesser extent, due to the sorption of the toxin by fungal cells. The method of biotesting (*Daphnia magna*) showed a decrease in the toxicity of the culture liquid in the process of MC-LR biodegradation by the strain CP4. The obtained results allow us to consider *Penicillium verrucosum* CP4 as a promising strain for mycoremediation of water bodies contaminated with microcystins.

Keywords: biodegradation, cyanobacteria, microcystin – LR, microfungi, sorption, toxicity