

Nanoplastics as a substrate for fungal growth *Lecanicillium coprophilum* (Cordycipitaceae, Hypocreales)

LIMNOLOGY
FRESHWATER
BIOLOGY

Annenkov V.V.¹, Pal'shin V.A.^{1*}, Danilovtseva E.N.¹, Polyakova M.S.^{2,3}, Mincheva E.V.²

¹Limnological Institute Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Ulan-Batorskaya Str., 3, Irkutsk, 664033, Russia

²Baikal Museum Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Akademicheskaya Str., 1, Listvyanka, 664520, Russia

³Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Lermontov Str., 132, Irkutsk, 664033 Russia

ABSTRACT. Anthropogenic pollution of the environment by plastic waste represents one of the most serious environmental problems. Nanoplastics, particles smaller than 1000 nm, pose a particular danger, as their small size and high specific surface area result in high bioavailability and toxicity for a wide range of aquatic organisms. Fungi are promising candidates for cleaning contaminated ecosystems due to their metabolic capabilities for breaking down complex molecules. In this study, for the first time, we experimentally investigated the ability of the micromycete, *Lecanicillium coprophilum*, to use nanoparticles of synthetic polymers—polyvinyl chloride (PVC), polystyrene (PS), and polymethyl methacrylate (PMMA)—as a growth substrate. Fluorescence microscopy and measurements of polymer concentrations in the medium proved that this fungus can not only adsorb nanoplastics on the surface of its hyphae but also metabolize them. Non-parametric analysis of variance (Kruskal-Wallis test) revealed statistically significant differences in mycelial biomass accumulation in media containing different plastics at 10°C. PS was the most favorable substrate for the growth of *L. coprophilum*. The median mycelial biomass values demonstrated a consistent ranking of polymers by favorability: PS > PMMA > PVC, which remained across different cultivation temperatures. This paper also discusses the enzymatic activity of *L. coprophilum* and the potential contribution of enzymes, particularly lipases, to the biodegradation of nanoplastics by this fungal species.

Keywords: nanoplastics, bioremediation, micromycetes, fluorescent dye

For citation: Annenkov V.V., Pal'shin V.A., Danilovtseva E.N., Polyakova M.S., Mincheva E.V. Nanoplastics as a substrate for fungal growth *Lecanicillium coprophilum* (Cordycipitaceae, Hypocreales) // Limnology and Freshwater Biology. 2025. - № 6. - P. 1329-1342. DOI: [10.31951/2658-3518-2025-A-6-1329](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2025-A-6-1329)

1. Introduction

The rapid development of the chemical, medical, and cosmetics industries has significantly improved human life. However, it has had a negative consequence: the release, often unintentional, of numerous chemical substances into ecosystems, sometimes with devastating effects. Anthropogenic pollution of the environment with plastic waste is one of the most serious global environmental problems. Nanoplastics (NPs), particles smaller than 1000 nm, formed from the fragmentation of macro- and microplastics, are of particular concern, as they are now present in all natural environments. Due to their small size and high specific

surface area, NPs exhibit increased bioavailability and toxicity for a wide range of aquatic organisms, including heterotrophic unicellular organisms (Annenkov et al., 2023) and photosynthetic diatoms (Sendra et al., 2019; Palshin et al., 2020; Baudrimont et al., 2020). In this context, the search for effective methods to neutralize NPs is a relevant scientific challenge.

Bioremediation is one of the methods for combating chemical pollution. It involves biologically mediated processes, through which undesirable compounds are transformed, degraded, immobilized, and removed from an ecosystem. Fungi are promising candidates for this purpose, as they possess metabolic capabilities for breaking down complex molecules, including chemi-

*Corresponding author. E-mail address: PVA666@lin.irk.ru (V.A. Pal'shin)

Received: November 21, 2025;

Accepted after revised: December 12, 2025;

Available online: December 25, 2025

© Author(s) 2025. This work is distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



cally stable macromolecules of industrial plastics, pesticides, and pharmaceutical and cosmetic products. Some fungi (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, and *Penicillium* spp.) can degrade polyethylene, polypropylene, polyvinyl chloride, and other synthetic plastics (Sánchez, 2020; Saeed et al., 2022; Khatua et al., 2024; Ibrahim et al., 2024).

The use of fungi and other organisms for bioremediation must be combined with adherence to biosafety standards; the organisms used must not cause adverse effects upon contact with humans. Fungi are of great interest in this regard, as they exist in environments that surround humans, which inherently suggests their harmlessness. Members of the genus *Lecanicillium* are known as biocontrol agents (entomopathogens and mycoparasites) (Goettel et al., 2008; Meng et al., 2022), as well as for their biotechnological activity. Fungi of this genus are considered plant protection agents (bioinsecticides) due to their ability to infect insects, nematodes, and harmful fungi (Goettel et al., 2008; Meng et al., 2022). It has recently been demonstrated that *L. coprophilum* can synthesize zinc oxide nanoparticles, possessing an antimicrobial effect against plant-pathogenic bacteria and fungi (Anuar et al., 2025). This study was initiated by repeated observations of spontaneous mycelial biomass growth in laboratory dispersions of polyvinyl chloride (PVC) nanoparticles. The isolated and identified micromycete belonged to the species *L. coprophilum*. During the preparation of this paper for submission, data on the ability of *L. coprophilum* to degrade polyethylene have been published (Kheswa et al., 2025). However, the ability of this fungal species to utilize other types of plastics, especially in nano-form, as a substrate has not been previously studied.

The aim of this study was to investigate the ability of the fungus *L. coprophilum* to use NPs, such as polyvinyl chloride (PVC), polystyrene (PS), and polymethyl methacrylate (PMMA), as growth substrates.

2. Materials and methods

The synthesis of nanoparticles utilized PVC (Russia, Usolye-Sibirskoye) with a molecular weight of 1600 kDa, PS (Merk, 192 kDa) and PMMA from disposable spectrophotometer cuvettes (BRAND GMBH + CO KG). Sodium dodecyl sulfate (SDS) was used without prior purification. Tetrahydrofuran (THF) was boiled with sodium wires under an argon atmosphere, filtered, and distilled over LiAlH₄ under an argon. Acetone was purified by distillation.

Dispersions of plastic nanoparticles were obtained in accordance with previously developed methods (Palshin et al., 2020; Annenkov et al., 2021). Dibenzylfluorescein (DBF), which exhibits fluorescence in the green region, was used to stain the nanoparticles. A solution of the polymer and the fluorescent dye in tetrahydrofuran (acetone for PMMA) was added dropwise to an intensively stirred aqueous SDS solution, followed by stirring for 1 hour to allow the organic solvent to evaporate. An excess of SDS was removed by centrifuging the dispersions, followed by re-suspending the

nanoparticles in water and filtering through a syringe filter with a pore size of 0.45 µm. Particle sizes were measured by dynamic light scattering using a Photocor Complex instrument. The polymer concentrations in the obtained dispersions were determined using UV spectroscopy for PS (a CM-2203 spectrofluorimeter) and IR spectroscopy for PVC according to (Annenkov et al., 2021). Particle sizes and initial dispersion concentrations are listed in Table 1.

The micromycete monoculture was isolated on potato dextrose agar. Species identification was carried out using the ITS1-2 molecular genetic marker (the universally accepted DNA barcode for fungi). DNA was extracted from the fungal monoculture using a modified Doyle and Dickson protocol (Doyle and Dickson, 1987). The ITS1-2 fragment was amplified using primers ITS1 F: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' and ITS4 R: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' (White et al., 1990). The parameters for 35 amplification cycles were as follows: DNA pre-denaturation at 94°C–4 min, denaturation at 94°C–1 min, primer annealing at 55°C–1 min, and elongation at 72°C–1 min (5 minutes in the final cycle). Sanger sequencing was performed at the “Genomics” shared use center (Novosibirsk).

The maximum likelihood algorithm in the IQ-TREE program (Nguyen et al., 2015; Kalyanamoorthy et al., 2017) was used to find the optimal model of nucleotide substitution and construct a phylogenetic tree.

Based on the minimum value of the Bayesian Information Criterion (BIC), the TIM2 + F + G4 model was selected as the best of nucleotide substitution. Pairwise genetic distances were calculated using MEGA 6.06 (Tamura et al., 2013).

Light and fluorescence microscopy were performed on an inverted MOTIC AE-31T microscope with an HBO 103 W/2 OSRAM mercury lamp. A 470 nm excitation filter (emission from 525 nm) was used to induce green and yellow fluorescence.

The morphology of the fungus was studied using a FEI Quanta 200 scanning electron microscope. For this purpose, the fungal mycelium was divided into the central upper part of the colony, the peripheral hyphae, and the central inner part, which were put into corresponding Eppendorf tubes. The tubes were frozen in liquid nitrogen and freeze-dried. The dried samples were placed on an aluminum holder using double-sided tape. A 20 nm gold layer was sputter-coated onto the sample (Desktop Sputter and Carbon Coater DSCR).

Table 1. Characteristics of nanoplastic dispersions.

Polymer	Concentration, mg/L		Diameter, nm
	Stock solution	Working solution	
PVC	1856	100	94
PMMA	311	100	170
PS	859	100	208

Cultivation of the fungus at different temperatures

To study the influence of NP type and temperature, NP dispersions with an identical polymer concentration of 100 mg/L were prepared. The prepared dispersions were sterilized by autoclaving. Hyphae of *L. coprophilum* were placed into the dispersions and cultivated at 4, 10, and 25 °C. After 76 days of cultivation in the NP dispersions, the mycelium was separated by filtration. The residue on the filter was washed with 10 mL of distilled water and dried together with the pre-weighed filter paper to determine the dry mass. For statistical analysis, the non-parametric Kruskal-Wallis test (for comparing three or more groups) was applied, followed by Dunn's post-hoc analysis with Holm-Bonferroni correction.

Enzymatic Activity

The enzymatic activity of the fungus was assessed at temperatures of 4°C, 10°C, and 25°C on Petri dishes with selective media: amylase activity on a starch-containing medium (Gopinath et al., 2005), cellulase activity on a carboxymethylcellulose medium (Sunitha et al., 2013), laccase activity on an ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylthiazoline-6-sulfonate)) medium (Ramírez et al., 2012), and lipase activity on a Tween-20 medium (Gopinath et al., 2005). Protease activity was determined using a skim milk medium (Ramírez et al., 2012).

3. Results and discussion

During storage of non-sterile dispersions of PVC, PS, and PMMA nanoparticles (without fungicidal or bactericidal additives) at 10-11°C, a mass morphologically similar to fungal mycelium was visually detected in the PVC samples after 1-2 months (Fig. 1). This phenomenon was not observed in dispersions of the other plastics.

The phylogenetic tree based on the ITS1-2 sequences from the studied fungus and sequences of



Fig.1. The appearance of the mycelium-like mass forming in aqueous dispersions of PVC nanoparticles at 10-11°C (PVC concentration is 328 mg/L, diameter of particle is 96 nm).

other *Lecanicillium* species available in the GenBank database demonstrates that the studied fungus reliably belongs to the species *L. coprophilum* (Fig. 2). It is identical to other members of this species isolated from various sources (PP106253 and MH177616). Members of *L. coprophilum* form a shared clade with the species *L. calimantanense* and *L. wallacei*. The pairwise genetic distances between *L. coprophilum* and *L. calimantanense* and *L. wallacei* are 0.053 and 0.011, respectively. Overall, genetic distances between different species of the genus *Lecanicillium* range from 0.004 to 0.146.

The results of scanning electron microscopy are shown in Fig. 3. Optimization of the sample preparation protocol prevented the collapse of spores. We observed smooth-walled mycelium and conidiophores with fusiform conidia (non-motile asexual spores), which corresponds to the morphological description of the species. We also observed swollen hyphae, which are one of the distinctive morphological features distinguishing *L. coprophilum* from *L. calimantanense* and *L. wallacei* (Su et al., 2019).

Upon inoculation of the *L. coprophilum* mycelium

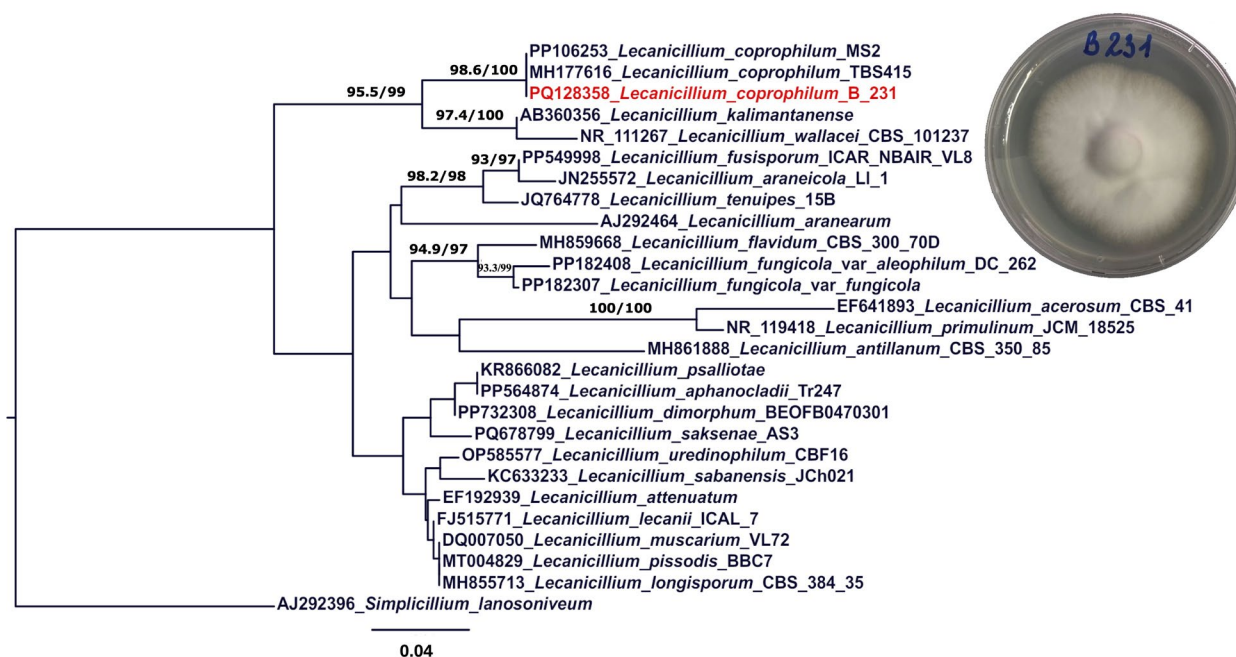


Fig.2. The phylogenetic tree based on the ITS1-2 sequences using the IQTree program and a photograph of the *L. coprophilum* culture. The studied species is highlighted in red in the tree. Statistical support values below 50% are not shown.

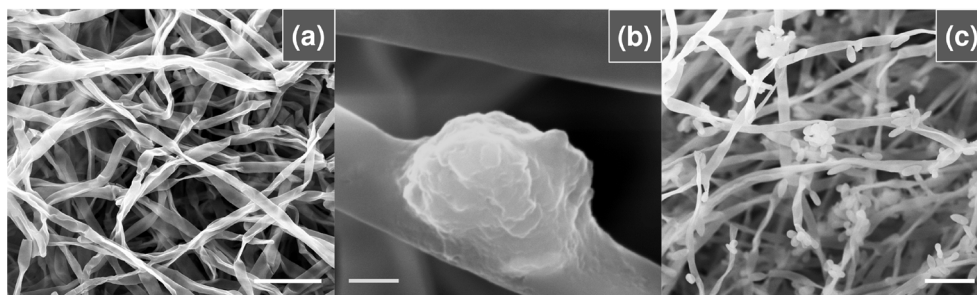


Fig.3. SEM photomicrographs of the smooth-walled mycelium of *L. coprophilum* (a), swollen hyphae, and conidiophores with fusiform conidia (b and c). Scale: (a) and (c)–10 μm , (b)–1 μm .

into freshly prepared and sterilized polymer dispersions (Fig. 4), the formation of visible fungal biomass after 76 days was observed for all studied plastic types—PS, PVC, and PMMA. Analysis of the samples using fluorescence microscopy (Fig. 5) visualized the interaction between plastic nanoparticles and the *L. coprophilum* mycelium. The images clearly indicated the green fluorescence, corresponding to NP, which is uniformly distributed both on the surface and within internal regions (Fig. 5-d). When the fungus grows in non-sterile conditions with high concentrations of PVC nanoparticles, areas of bright fluorescence are also observed on the external surface of the hyphae, which may indicate local adsorption of nanoparticles (Fig. 5-b). Noteworthy is that the fluorescent dye (dibenzylfluorescein) was distributed within the nanoparticle mass in the course of their synthesis, not merely on their surface, and it is not washed out into the aqueous phase (Annenkov et al., 2021). Therefore, such a uniform fluorescence distribution as shown in Fig. 5-d, f requires the nanoparticles to be distributed inside the hyphae and/or to be degraded with the following distribution of the fluorescent hydrophobic marker within the organism. Thus, the observed dye distribution suggests that, in addition to passive adsorption, there is an active process of nanoparticle uptake. This observation serves as morphological evidence of the fungus's ability not only to colonize the surface of nanoplastics but also to metabolize them.

Cultivation of *L. coprophilum* in nanoplastic dispersions was accompanied by acidification of the medium (pH decreases of 0.3–0.5 units) compared to the control measurements (pH of PMMA dispersion–6.82, PVC–7.18, and PS–7.12). PS dispersions at 4°C (pH 6.71) showed the most pronounced change, indicating active fungal metabolism. The observed acidification could result from the excretion of organic acids, which is characteristic of fungi when utilizing complex substrates.

Measurement of the residual plastic concentration in the dispersions revealed a decrease of 10.7%, 17.3%, and 10.4% for PS, PVC, and PMMA, respectively. These data are consistent with the fluorescence microscopy results and indirectly suggest an active biochemical degradation of the polymers by the fungus. At the same time, the control experiment revealed that fungal growth was also observed in an SDS solution, which was used as a dispersion stabilizer. However, the SDS concentration in the dispersions was an order of magnitude lower (~ 30 times lower) than the NP concentration, and it was primarily concentrated on the



Fig.4. Photographs of synthetic polymer dispersions before (top) and after (bottom) inoculation with the *L. coprophilum* fungus and incubation for 76 days at 10–11°C. The initial nanoparticle concentration is 100 mg/L.

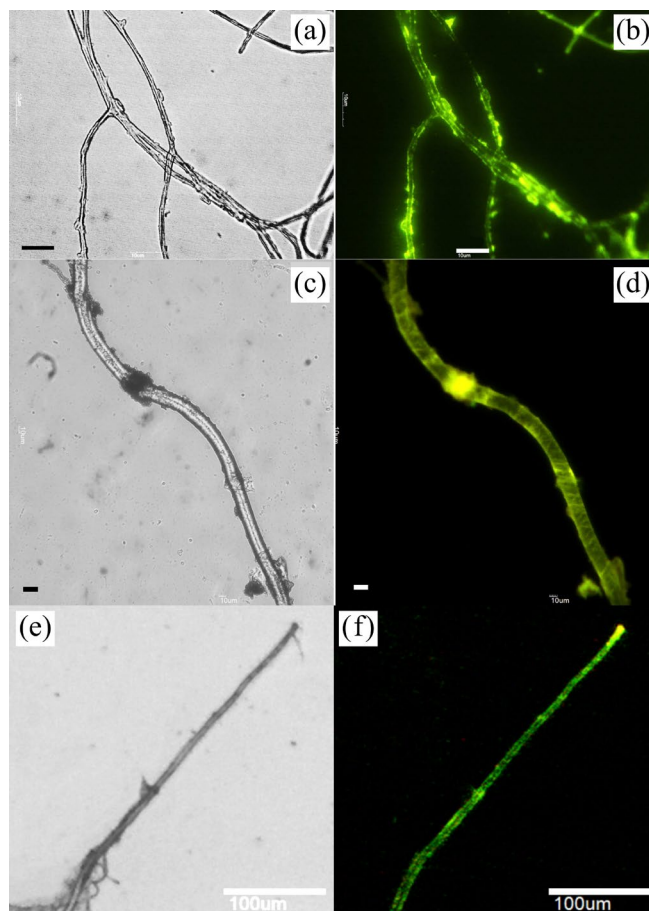


Fig.5. Light and fluorescence micrographs of *L. coprophilum* hyphae after growth in media containing NP stained with a fluorescent dye: (a–b)–non-sterile PVC dispersion, (c–d)–sterile PVC dispersion, and (e–f)–sterile PS dispersion. The green fluorescence comes from NP particles. Scale: (a–b)–10 μm , (c–d) – 20 μm , and (e–f)–100 μm .

particle surfaces to ensure their stability. The fluorescence microscopy data, indicating uniform intracellular localization of fluorescence, suggest that, despite the potential metabolism of the stabilizer, the plastic nanoparticles also serve as a substrate for fungal mycelial growth. Additional studies are required to unambiguously differentiate the contribution of the stabilizer and the polymer particles to the fungus metabolism.

The Kruskal-Wallis test showed that the type of polymer affects the accumulation of the *L. coprophilum* mycelial biomass (Fig. 6). At 10°C, the differences were statistically significant ($H=7.20$ and $p=0.027$). At 4°C and 25°C, there was a pronounced trend toward differences ($p=0.058$ and $p=0.066$, respectively), which is likely due to the limited sample size ($n=3$).

At all temperature regimes, PS promoted the greatest biomass accumulation, followed by PMMA and PVC. The obtained results indicate that PS is the most favorable substrate for the growth of the studied micromycete. This may be explained by differences in the hydrophobicity and/or chemical structure of the polymers that affect mycelial adhesion and subsequent colonization and uptake. A post-hoc analysis using the Holm-Bonferroni correction (Dunn's test) revealed at 10°C a statistically significant difference in biomass accumulation only between PVC and PS ($Z = -2.683$, $p = 0.022$). The differences between the PMMA-PS ($Z = -1.342$, $p = 0.180$) and PMMA-PVC ($Z = 1.342$, $p = 0.180$) pairs did not reach the level of statistical significance that is most likely due to the small sample size.

A study of the enzymatic activity of the *L. coprophilum* fungus (Table 2) revealed hydrolase group enzymes (amylase, lipase, and protease), among which, lipase is of particular importance in the context of this study. The activity of this enzyme, along with protease and amylase, indirectly indicates that the fungus can hydrolyze ester bonds, which is a fundamental mechanism for attacking synthetic polymers structurally similar to the natural substrates of these enzymes. The relatively high extracellular activity of lipase and protease, which was observed at 4°C against a background

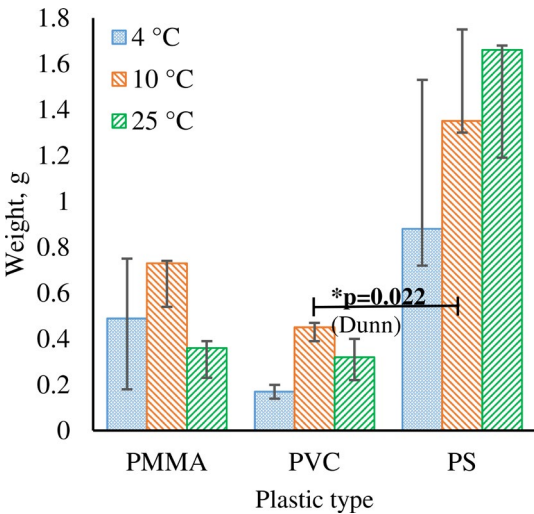


Fig.6. Comparative analysis of mycelial biomass accumulation by *L. coprophilum* in PVC, PMMA, and PS nanoparticle dispersions at 4, 10, and 25°C. Median values are shown. * – at 10°C, the differences are statistically significant (post-hoc analysis using the Holm-Bonferroni correction (Dunn's test), $p=0.022$).

of absent or low biomass increase, suggests an adaptive orientation of the *L. coprophilum* metabolism under these conditions. In this scenario, the colony primarily secretes exoenzymes rather than focusing on growth. Overall, the high extracellular lipase activity suggests that this enzyme may play a key role in the degradation of PMMA, which contains ester groups.

While some other fungi that had been studied using the same methodology showed a positive reaction for laccases (Polyakova et al., 2025), the investigated *L. coprophilum* did not exhibit laccase activity. At the same time, in some studies, laccases and related oxidative enzymes were considered the key initial catalysts for the biodegradation of PVC (Kirbas et al., 1999; Zhang et al., 2022; Temporiti et al., 2022). Perhaps *L. coprophilum* employs a fundamentally different non-oxidative mechanism of plastics degradation.

Table 2. Enzymatic activity of the *L. coprophilum* fungus

Enzyme type	Substrate	Temperature, °C	Diameter, mm	
			Colony	Reaction zone
Amylases	Starch	4	0	0
		10	10.3 ± 0.4	16.7 ± 0.5
		25	30.3 ± 1.4	32.3 ± 1.4
Cellulases	Carboxymethylcellulose	4	0	0
		10	0	0
		25	0	0
Laccases	ABTS	4	0	0
		10	0	0
		25	0	0
Lipases	Tween 20	4	0	30.3 ± 1.5
		10	13.8 ± 0.4	33.7 ± 1.2
		25	26.6 ± 0.5	47.3 ± 0.8
Proteases	Skim milk	4	8.3 ± 0.5	22.7 ± 1.0
		10	14.8 ± 1.0	30.0 ± 0.9
		25	37.3 ± 0.5	54.5 ± 0.6

4. Conclusions

For the first time, we experimentally investigated the ability of the *L. coprophilum* micromycete to use nanoparticles of synthetic polymers, namely, polyvinyl chloride (PVC), polystyrene (PS), and polymethyl methacrylate (PMMA), as a substrate for growth. This study revealed that this fungal species is capable not only of adsorbing NPs on the hyphal surface but also of incorporating them into its metabolism. Fluorescence microscopy data, which demonstrated the intracellular localization of particles, as well as a decrease in polymer concentration in the medium, confirmed this result.

The accumulation of mycelial biomass depended on both the polymer type and the temperature. In particular, there was a significant difference between PS and PVC in biomass quantity at 10°C. Notably, PS supported consistently high fungal growth at all temperatures studied (from 4 to 25°C). For the other two plastics (PVC and PMMA), visual analysis of the data indicated a trend towards maximum biomass accumulation at 10°C. The median mycelial biomass values demonstrate a consistent ranking of polymers in terms of favorability: PS > PMMA > PVC, which remains constant across all cultivation temperatures. However, additional experiments with an increased number of replicates are required to confirm the optimal growth temperature on these substrates.

The relatively high extracellular activity of hydrolytic enzymes, particularly lipases, in *L. coprophilum* indicates a potential ability to break down ester and other chemical bonds in polymers. The absence of activity of laccases in *L. coprophilum*, which are often considered potential agents for the oxidative biodegradation of plastics, suggests a likely alternative non-oxidative degradation mechanism. To date, the mechanism of plastic biodegradation by various organisms remains poorly understood, and our data also indicate that it may proceed via several pathways.

Thus, this study demonstrates that *L. coprophilum*, a widespread and biotechnologically significant fungus, can utilize various types of nanoplastics as a substrate. This opens prospects for considering it a potential agent for the bioremediation of plastic pollution. To confirm the direct biodegradation process, elucidate the biochemical mechanisms, and assess its efficacy under real-world conditions, further research with an increased sample size is necessary. The obtained data contribute to understanding the ecological role of micromycetes in the biogeochemical cycling of plastics and expand the list of candidate organisms for the development of environmental cleanup technologies.

Acknowledgements

This work was supported by Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Project No. 122012600070-9.

The authors thank Marcel Kabilov (Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Genomics Core Facility) for his expert comments and comprehensive discussion of the results, which contrib-

uted to the improvement of this work, as well as to the Shared Research Facilities for Physical and Chemical Ultramicroanalysis LIN SB RAS for providing the equipment.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Annenkov V.V., Danilovtseva E.N., Zelinskiy S.N. et al. 2021. Submicro- and nanoplastics: how much can be expected in water bodies? *Environmental Pollution* 278: 116910. DOI: [10.1016/j.envpol.2021.116910](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116910)
- Annenkov V.V., Pal'shin V.A., Annenkova N.V. et al. 2023. Uptake and effects of nanoplastics on the dinoflagellate *Gymnodinium corollarium*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 42(5):1124–1133. DOI: [10.1002/etc.5604](https://doi.org/10.1002/etc.5604)
- Anuar M.S.K., Khairuddin N.H., Zainal Z.S. et al. 2025. *Lecanicillium coprophilum*-mediated green synthesis of zinc oxide nanoparticles displaying antimicrobial activity against important rice pathogens. *Mycologia* 117(5): 801–817. DOI: [10.1080/00275514.2025.2525718](https://doi.org/10.1080/00275514.2025.2525718)
- Baudrimont M., Arini A., Guégan C. et al. 2020. Ecotoxicity of polyethylene nanoplastics from the North Atlantic oceanic gyre on freshwater and marine organisms (microalgae and filter-feeding bivalves). *Environmental Science and Pollution Research* 27: 3746–3755. DOI: [10.1007/s11356-019-04668-3](https://doi.org/10.1007/s11356-019-04668-3)
- Doyle J.J., Dickson E.E. 1987. Preservation of plant samples for DNA restriction endonuclease analysis. *Taxon* 36: 715–722. DOI: [10.2307/1221122](https://doi.org/10.2307/1221122)
- Goettel M.S., Koike M., Kim J.J. et al. 2008. Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases. *Journal of Invertebrate Pathology* 98(3): 256–261. DOI: [10.1016/j.jip.2008.01.009](https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.01.009)
- Gopinath S.C.B., Hilda A., Anbu P. 2005. Extracellular enzymatic activity profiles in fungi isolated from oil-rich environments. *Mycoscience* 46(2): 119–126. DOI: [10.1007/S10267-004-0221-9](https://doi.org/10.1007/S10267-004-0221-9)
- Ibrahim S.S., Ionescu D., Grossart H.-P. 2024. Tapping into fungal potential: Biodegradation of plastic and rubber by potent Fungi. *Science of The Total Environment* 934: 173188. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2024.173188](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173188)
- Kalyanamoorthy S., Minh B.Q., Wong T.K. et al. 2017. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature methods* 14(6): 587–589. DOI: [10.1038/nmeth.4285](https://doi.org/10.1038/nmeth.4285)
- Khatua S., Simal-Gandara J., Acharya K. 2024. Mycoremediation of plastic pollution: current knowledge and future prospects. *Biodegradation* 35(3): 249–279. DOI: [10.1007/s10532-023-10053-2](https://doi.org/10.1007/s10532-023-10053-2)
- Kheswa N., Gokul A., Dube N. 2025. Identification of novel polyethylene-degrading fungi from South African landfill soils: *Arthrographis kalrae*, *Lecanicillium coprophilum*, and *Didymosphaeria variabile*. *Biodegradation* 36(4): 71. DOI: [10.1007/s10532-025-10170-0](https://doi.org/10.1007/s10532-025-10170-0)
- Kirbas Z., Keskin N., Güner A. 1999. Biodegradation of Polyvinylchloride (PVC) by White Rot Fungi. *Bull. Environ. Contam. Toxicol* 63: 335–342. DOI: [10.1007/s001289900985](https://doi.org/10.1007/s001289900985)
- Meng Y., Wellabada Hewage Don P.I.D., Wang D. 2022. A new strain of *Lecanicillium uredinophilum* isolated from Tibetan Plateau and its insecticidal activity. *Microorganisms* 10(9): 1832. DOI: [10.3390/microorganisms10091832](https://doi.org/10.3390/microorganisms10091832)
- Nguyen L.-T., Schmidt H.A., von Haeseler A. et al. 2015. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular biology and evolution* 32(1): 268–274. DOI: [10.1093/molbev/msu300](https://doi.org/10.1093/molbev/msu300)

- Palshin V.A., Danilovtseva E.N., Strelova M.S. et al. 2020. Fluorescent nanoplastic particles: synthesis and influence on diatoms. *Limnology and Freshwater Biology* 5: 1067–1072. DOI: [10.31951/2658-3518-2020-A-5-1067](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2020-A-5-1067)
- Polyakova M.S., Pudovkina T.A., Bedoshvili E.D. et al. 2025. A new ecological niche of *Paraphaeosphaeria sporulosa*: taxonomy, phylogeny, and enzymatic activity. In: Abstracts of the VIII International Vereshchagin Baikal Conference on September 8–14, 2025. Irkutsk: IGU Publishing House, pp. 469–470. (in Russian)
- Ramírez M.G.C., Rivera-Ríos J.M., Téllez-Jurado A. et al. 2012. Screening for thermotolerant ligninolytic fungi with laccase, lipase, and protease activity isolated in Mexico. *Journal of Environmental Management* 95: S256–S259. DOI: [10.1016/j.jenvman.2010.10.045](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.10.045)
- Saeed S., Iqbal A., Deebea F. 2022. Biodegradation study of Polyethylene and PVC using naturally occurring plastic degrading microbes. *Archives of Microbiology* 204: 497. DOI: [10.1007/s00203-022-03081-8](https://doi.org/10.1007/s00203-022-03081-8)
- Sánchez C. 2020. Fungal potential for the degradation of petroleum-based polymers: An overview of macro- and microplastics biodegradation. *Biotechnology Advances* 40: 107501. DOI: [10.1016/j.biotechadv.2019.107501](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107501)
- Sendra M., Staffieri E., Yeste M.P. et al. 2019. Are the primary characteristics of polystyrene nanoplastics responsible for toxicity and ad/absorption in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*? *Environmental Pollution* 249: 610–619. DOI: [10.1016/j.envpol.2019.03.047](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.047)
- Su L., Zhu H., Guo Y. et al. 2019. *Lecanicillium coprophilum* (Cordycipitaceae, Hypocreales), a new species of fungus from the feces of Marmota monax in China. *Phytotaxa* 387(1): 55–62. DOI: [10.11646/PHYTOTAXA.387.1.4](https://doi.org/10.11646/PHYTOTAXA.387.1.4)
- Sunitha V.H., Devi D.N., Srinivas C. 2013. Extracellular enzymatic activity of endophytic fungal strains isolated from medicinal plants. *World Journal of Agricultural Sciences* 9(1): 01–09. DOI: [10.5829/idosi.wjas.2013.9.1.72148](https://doi.org/10.5829/idosi.wjas.2013.9.1.72148)
- Tamura K., Stecher G., Peterson D. et al. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution* 30(12): 2725–2729. DOI: [10.1093/molbev/mst197](https://doi.org/10.1093/molbev/mst197)
- Temporiti M.E.E., Nicola L., Nielsen E. et al. 2022. Fungal Enzymes Involved in Plastics Biodegradation. *Microorganisms* 10(6): 1180. DOI: [10.3390/microorganisms10061180](https://doi.org/10.3390/microorganisms10061180)
- White T.J., Bruns T., Lee S. et al. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications* 18(1): 315–322.
- Zhang Z., Peng H., Yang D. et al. 2022. Polyvinyl chloride degradation by a bacterium isolated from the gut of insect larvae. *Nature Communications* 13:5360. DOI: [10.1038/s41467-022-32903-y](https://doi.org/10.1038/s41467-022-32903-y)

Нанопластики как субстрат для роста гриба *Lecanicillium coprophilum* (Cordycipitaceae, Hypocreales)

Анненков В.В.¹, Пальшин В.А.^{1*}, Даниловцева Е.Н.¹, Полякова М.С.^{2,3}, Минчева Е.В.²

¹ Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, ул. Улан-Баторская, 3, Иркутск, 664033, Россия

² Байкальский Музей Сибирского отделения Российской академии наук, ул. Академическая, 1, Листвянка, 664520, Россия

³ Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, ул. Лермонтова, 132, Иркутск, 664033, Россия

АННОТАЦИЯ. Антропогенное загрязнение окружающей среды пластиковыми отходами представляет собой одну из наиболее серьезных экологических проблем. Особую опасность представляют нанопластики — частицы размером менее 1000 нм, так как из-за своих малых размеров и высокой удельной поверхности для них характерна высокая биодоступность и токсичность для широкого круга гидробионтов. Многообещающими кандидатами для очистки загрязненных экосистем являются грибы, так как они обладают метаболическими возможностями для расщепления сложных молекул. В данной работе впервые экспериментально изучена способность микромицета *Lecanicillium coprophilum* использовать наночастицы синтетических полимеров — поливинилхлорида (ПВХ), полистирола (ПС) и полиметилметакрилата (ПММА) — в качестве субстрата для роста. С помощью флуоресцентной микроскопии и учета концентрации полимеров в среде доказано, что данный гриб способен не только адсорбировать нанопластики на поверхности своих гиф, но и вовлекать их в свой метаболизм. Непараметрический дисперсионный анализ (критерий Краскела-Уоллиса) выявил статистически значимые различия накопления биомассы мицелия в среде с разными пластиками при 10°C. Наиболее благоприятным субстратом для роста *L. coprophilum* оказался ПС. Медианные значения биомассы мицелия демонстрируют устойчивое ранжирование полимеров по степени благоприятности: ПС > ПММА > ПВХ, сохраняющееся при различных температурах культивирования. Также в работе обсуждается ферментативная активность *L. coprophilum* и возможный вклад ферментов, в частности липаз, в биodeградацию нанопластика данным видом гриба.

Ключевые слова: Нанопластик, биоремедиация, микромицеты, флуоресцентный краситель

Для цитирования: Анненков В.В., Пальшин В.А., Даниловцева Е.Н., Полякова М.С., Минчева Е.В. Нанопластики как субстрат для роста гриба *Lecanicillium coprophilum* (Cordycipitaceae, Hypocreales) // Limnology and Freshwater Biology. 2025. - № 6. - С. 1329-1342. DOI: 10.31951/2658-3518-2025-A-6-1329

1. Введение

Бурное развитие химической, медицинской, косметической промышленности существенно улучшило жизнь людей, но негативным последствием этого стало попадание, зачастую ненамеренное, множества химических веществ в экосистемы, иногда с разрушительными последствиями. Антропогенное загрязнение окружающей среды

пластиковыми отходами представляет собой одну из наиболее серьезных глобальных экологических проблем. Особую опасность представляют нанопластики (НП) — частицы размером менее 1000 нм, образующиеся при фрагментации макро- и микропластиков и присутствующие уже во всех природных средах. Из-за своих малых размеров и высокой удельной поверхности нанопластики демонстрируют повышенную биодоступность и токсичность

*Автор для переписки. Адрес e-mail: PVA666@lin.irk.ru (В.А. Пальшин)

Поступила: 21 ноября 2025;

Принята после доработки: 12 декабря 2025;

Опубликована online: 25 декабря 2025

© Автор(ы) 2025. Эта работа распространяется под международной лицензией Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.



для широкого круга гидробионтов, включая одноклеточных гидробионтов, способных к гетеротрофному питанию (Annenkov et al., 2023) и фотосинтезирующих диатомовых водорослей (Sendra et al., 2019; Palshin et al., 2020; Baudrimont et al., 2020). В этой связи поиск эффективных методов нейтрализации нанопластиков является актуальной научной задачей.

Биоремедиация является одним из способов борьбы с химическими загрязнениями, она включает биологически опосредованные процессы, в ходе которых нежелательные соединения трансформируются, деградируют, связываются и удаляются из экосистемы. Грибы являются многообещающими кандидатами для этих целей, поскольку они обладают метаболическими возможностями для расщепления сложных молекул, включая химически стабильные макромолекулы промышленных пластиков, пестициды, фармацевтические и косметические препараты. Обнаружена способность ряда грибов (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Penicillium* spp.) разлагать полиэтилен, полипропилен, поливинилхлорид, и другие синтетические пластики (Sánchez, 2020; Saeed et al., 2022; Khatua et al., 2024; Ibrahim et al., 2024).

Использование грибов и других организмов в целях биоремедиации должно сочетаться с соблюдением норм биобезопасности, используемые организмы не должны вызывать отрицательных эффектов в случае контакта с человеком. Грибы в этом плане представляют большой интерес, так как существуют в окружающей человека среде, что предопределяет их безвредность. Представители рода *Lecanicillium* известны как агенты биоконтроля (энтомопатогены и микопаразиты) (Goettel et al., 2008; Meng et al., 2022), а также своей биотехнологической активностью. Грибы рода *Lecanicillium* рассматриваются в качестве средств защиты растений (биоинсектицидов), благодаря способности поражать насекомых, нематод и опасных грибов (Goettel et al., 2008; Meng et al., 2022). Недавно показана способность *L. coprophilum* синтезировать наночастицы оксида цинка, обладающие антимикробным эффектом против патогенных для растений бактерий и грибов (Anuar et al., 2025). Данное исследование было инициировано многократными наблюдениями спонтанного роста мицелиальной биомассы в лабораторных дисперсиях наночастиц поливинилхлорида (ПВХ). Выделенный и идентифицированный микромицет принадлежал к виду *Lecanicillium coprophilum*. В период подготовки к публикации данной статьи в литературе появились данные о способности *L. coprophilum* к деградации полиэтилена (Kheswa et al., 2025). Тем не менее способность этого вида грибов к использованию в качестве субстрата других типов пластиков, особенно в наноформе, ранее не изучалась.

Целью данной работы стало исследование способности гриба *L. coprophilum* использовать нанопластики – поливинилхлорид (ПВХ), полистирол (ПС) и полиметилметакрилат (ПММА) в качестве субстрата для роста.

2. Материалы и методы

Для синтеза наночастиц использовали ПВХ (Россия, Усолжье-Сибирское) с молекулярной массой 1600 кДа, ПС (Merk, 192 кДа) и ПММА из одноразовых спектрофотометрических кювет (BRAND GMBH + CO KG). Додецилсульфат натрия (SDS) использовали без предварительной подготовки. Тетрагидрофуран (ТГФ) кипятили с натрием в атмосфере аргона, фильтровали и перегоняли над LiAlH₄ в атмосфере аргона. Ацетон очищали перегонкой.

Дисперсии наночастиц пластиков получали в соответствии с ранее разработанными методиками (Palshin et al., 2020; Annenkov et al., 2021). Для окрашки наночастиц применяли дибензилфлуоресцеин (ДБФ), для которого характерна флуоресценция в зелёной области. Раствор полимера и флуоресцентного красителя в тетрагидрофуране (ацетон для ПММА) добавляли по каплям к интенсивно перемешиваемому водному раствору SDS, после чего оставляли перемешивание на 1 час для испарения органического растворителя. Избыток SDS удаляли центрифугированием дисперсий с последующим повторным суспендированием наночастиц в воде и фильтрованием через шприцевой фильтр с диаметром пор 0,45 мкм. Размеры частиц измеряли методом динамического светорассеяния на приборе Photocor Complex. Концентрацию полимера в полученных дисперсиях определяли с помощью УФ-спектроскопии для ПС (спектрофлуориметр CM-2203), ИК-спектроскопии для ПВХ согласно (Annenkov et al., 2021). Размеры частиц и исходные концентрации дисперсий указаны в Таблице 1.

Выделение чистой культуры микромицета проводили на картофельно-глюкозном агаре. Видовую идентификацию проводили по молекулярно-генетическому маркеру ITS1-2 (общепринятому для грибов ДНК-баркоду). ДНК экстрагировали из чистой культуры гриба по модифицированной методике Дойла и Диксон (Doyle and Dickson, 1987). Фрагмент ITS 1-2 амплифицировали с помощью праймеров ITS1 F: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' и ITS4 R: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' (White et al., 1990). Параметры при 35 циклах амплификации следующие: предденатурация ДНК при 94°C – 4 мин., денатурация при 94°C – 1 мин, отжиг праймеров при 55°C – 1 мин, элонгация при 72 °C – 1 мин (5 минут на последнем цикле). Секвенирование по Сэнгеру выполняли на базе ЦКП «Геномика» (г. Новосибирск).

Таблица 1. Характеристики дисперсий нанопластиков.

Полимер	Концентрации, мг/л		Диаметр, нм
	Стоковый раствор	Рабочий раствор	
ПВХ	1856	100	94
ПММА	311	100	170
ПС	859	100	208

Определение оптимальной модели нуклеотидных замен и построение филогенетического дерева алгоритмом Maximum Likelihood проводили в программе IQ-TREE (Nguyen et al., 2015; Kalyaanamoorthy et al., 2017).

В качестве наилучшей модели нуклеотидных замен на основании минимального значения байесовского информационного критерия (BIC) была выбрана модель TIM2 + F + G4. Попарные генетические дистанции рассчитывали с помощью MEGA 6.06 (Tamura et al., 2013).

Световая и флуоресцентная микроскопия проводилась на инвертированном микроскопе MOTIC AE-31T с ртутной лампой HBO 103 W/2 OSRAM. Для возбуждения зеленой и желтой эмиссии использовали светофильтр 470 нм (испускание от 525 нм).

Морфологию гриба изучали на сканирующем электронном микроскопе FEI Quanta 200. Для этого мицелий гриба отделяли в эппендорфы, отдельно центральную верхнюю часть колонии, периферические гифы и центральную внутреннюю часть. Эппендорфы замораживали в жидком азоте и сушили лиофильно. Высушенные образцы размещали на алюминиевом столике при помощи двухстороннего скотча. Сверху на образец напыляли слой золота 20 нм (Desktop Sputter and Carbon Coater DSCR).

Культивирование гриба при разных температурах

Для изучения влияния типа нанопластика и температуры готовили дисперсии нанопластиков с одинаковой концентрацией полимеров 100 мг/л. Подготовленные дисперсии стерилизовали автоклавированием. В дисперсии помещали гифы *L. coprophilum* и культивировали при 4, 10 и 25 °C. После 76 дней культивирования в дисперсиях нанопластиков мицелий отделяли фильтрованием. Осадок на фильтре промывали 10 мл дистиллированной воды и высушивали вместе с предварительно взвешенной фильтровальной бумагой для определения сухой массы. Для статистического анализа применяли непараметрический критерий Краскела-Уоллиса (для сравнения трёх и более групп) с последующим пост-хок анализом по Данну с поправкой Холма-Бонферрони.

Ферментативная активность

Ферментативную активность гриба оценивали при температуре 4°C, 10°C и 25°C на чашках Петри с селективными средами: активность амилазы на среде с крахмалом (Gopinath et al., 2005), целлюлазы – на среде с карбокси-метилцеллюлозой (Sunitha et al., 2013), активность лакказы определяли на среде с ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylthiazoline-6-sulfonate) (Ramírez et al., 2012), активность липазы на среде с Tween-20 (Gopinath et al., 2005). Для определения активности протеаз использовали среду с обезжиренным молоком (Ramírez et al., 2012).

3. Результаты и обсуждение

При хранении нестерильных дисперсий наночастиц ПВХ, ПС и ПММА (без фунгицидных или бак-

терицидных добавок) при 10-11°C через 1-2 месяца в образцах ПВХ была визуально обнаружена масса, по морфологии сходная с грибным мицелием (Рис. 1). В дисперсиях других пластиков подобное явление не было отмечено.

На филогенетическом древе, построенном на основе последовательностей ITS1-2, полученных от исследованного гриба и последовательностей других видов рода *Lecanicillium*, доступных в базе данных GenBank, видно, что исследуемый гриб достоверно относится к виду *L. coprophilum* (Рис. 2), будучи идентичным другим представителям этого вида, изолированным из различных источников (PP106253, MH177616). Представители *L. coprophilum* образуют совместную кладу с видами *L. calimantanense* и *L. wallacei*. Попарные генетические дистанции между видами *L. coprophilum* и *L. calimantanense* и *L. wallacei* составляют 0,053 и 0,011 соответственно. В целом, генетические дистанции между разными видами рода *Lecanicillium* варьируют в пределах от 0,004 до 0,146.

Результаты сканирующей электронной микроскопии представлены на Рисунке 3. Оптимизация методики пробоподготовки позволила избежать коллапсирования спор. Мы наблюдали гладкостенный мицелий и конидиофоры с веретеновидными конидиями (неподвижными спорами бесполого размножения), что соответствует морфологическому описанию вида. Также мы наблюдали вздутые гифы, которые являются одним из отличительных морфологических видовых признаков *L. coprophilum* от *L. calimantanense* и *L. wallacei* (Su et al., 2019).

При посеве мицелия *L. coprophilum* в свежеприготовленные и стерилизованные дисперсии полимеров (Рис. 4) формирование видимой грибной массы через 76 дней отмечено для всех исследуемых типов пластика – ПС, ПВХ и ПММА. Анализ образцов с помощью флуоресцентной микроскопии (Рис. 5) позволил визуализировать взаимодействие наночастиц пластика с мицелием *L. coprophilum*. На изображениях чётко видно зеленое свечение, соответствующее нанопластику, который равномерно распределён как снаружи, так и во внутренних областях (Рис. 5-г). Когда же гриб формируется в нестерильных условиях с высокой концентрацией наночастиц ПВХ, в добавление на внешней поверхности гиф наблюдаются области яркой флуорес-



Рис.1. Внешний вид мицелий-подобной массы, образующейся в водных дисперсиях наночастиц ПВХ при 10-11°C (Концентрация ПВХ 328 мг/л, диаметр частиц 96 нм).

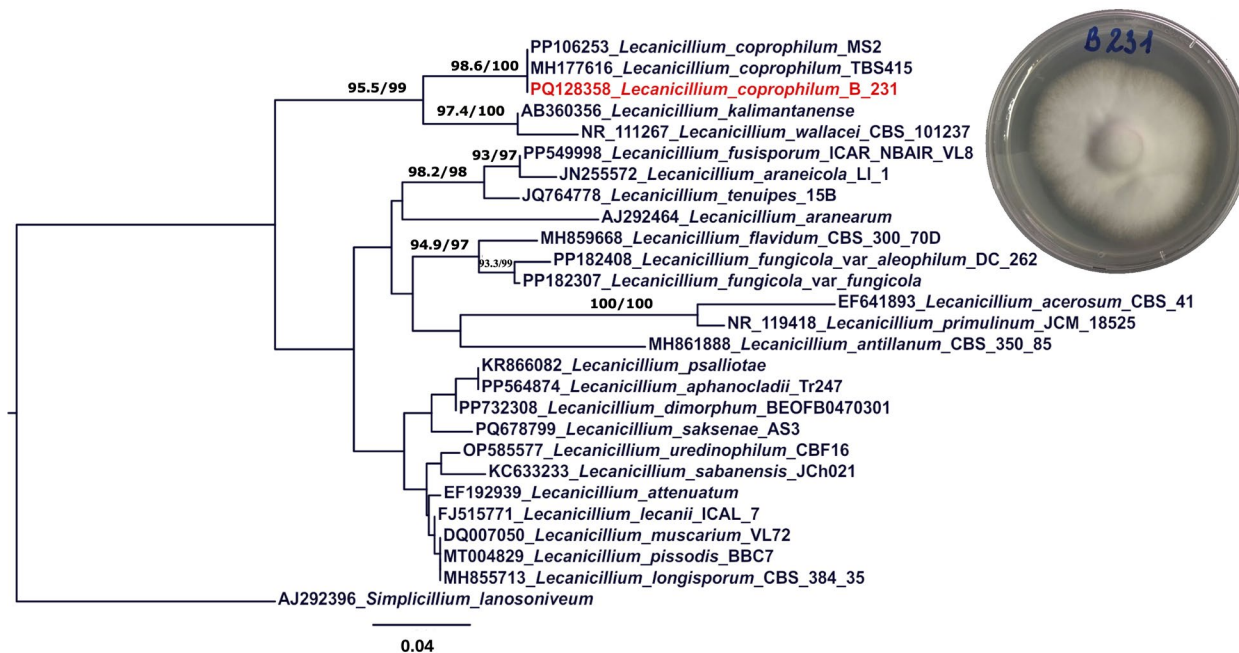


Рис.2. Филогенетическое дерево, построенное на основе последовательностей ITS1-2 в программе IQTree и фотография культуры *L. coprophilum*. Исследуемый вид выделен на древе красным цветом. Значения статистической поддержки < 50% не показаны.

ценции, что может свидетельствовать о локальной адсорбции наночастиц. (Рис. 5-б). Важно отметить, что флуоресцентный краситель (дибензилфлуоресцеин) распределен в массе наночастиц на стадии их получения, а не на их поверхности и не вымывается в водную фазу (Annenkov et al., 2021). Поэтому для такого равномерного распределения свечения, как показано на Рис. 5-г, необходимо распределить наночастицы внутри гиф и/или подвергнуть их разложению с последующим распределением флуоресцентной гидрофобной метки внутри организма. Таким образом, наблюдаемое распределение красителя позволяет предположить, что помимо пассивной адсорбции, имеет место активный процесс поглощения наночастиц. Это наблюдение служит морфологическим свидетельством способности гриба не просто колонизировать поверхность нанопластиков, но и вовлекать их в свой метаболизм.

Культивирование *L. coprophilum* в дисперсиях нанопластиков сопровождалось подкислением среды (снижение pH на 0,3-0,5 единиц) по сравнению с контрольными измерениями (pH дисперсий ПММА - 6,82, ПВХ - 7,18 и ПС - 7,12). Наиболее выраженное изменение проявлялось в случае дисперсий ПС при 4°C (pH 6,71), это указывает на активный метаболизм гриба. Наблюдаемое подкисление

может быть следствием экскреции органических кислот, характерной для грибов при утилизации сложных субстратов.

Определение остаточной концентрации пластика в дисперсиях показало её уменьшение на 10,7, 17,3 и 10,4% для ПС, ПВХ и ПММА соответственно. Эти данные согласуются с результатами флуоресцентной микроскопии и косвенно указывают на активную биохимическую деградацию полимеров грибом. При этом контрольный эксперимент показал, что рост гриба также наблюдался и в растворе SDS, который использовался в качестве стабилизатора дисперсии. Однако концентрация SDS в дисперсиях на порядок ниже (примерно в 30 раз меньше), чем концентрация нанопластика, и он был преимущественно сосредоточен на поверхности частиц для обеспечения их устойчивости. Данные флуоресцентной микроскопии, демонстрирующие внутриклеточную равномерную локализацию флуоресценции, позволяют предположить, что несмотря на возможность метаболизма стабилизатора, наночастицы пластика также служат субстратом для роста грибного мицелия. Для однозначного разграничения вклада стабилизатора и полимерных частиц в метаболизм гриба требуются дополнительные исследования.

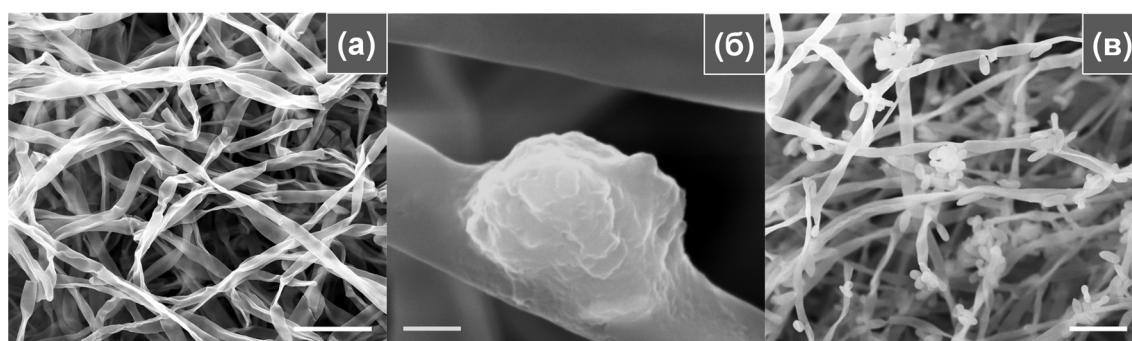


Рис.3. Микрофотографии СЭМ гладкостенного мицелия *L. coprophilum* (а), вздутых гиф и конидиофор с веретеновидными конидиями (б и в). Масштаб: (а) и (в) – 10 мкм, (б) – 1 мкм.

Критерий Краскела-Уоллиса показал, что тип полимера оказывает влияние на накопление биомассы мицелия *L. coprophilum* (Рис. 6). При температуре 10°C различия были статистически значимыми ($H=7,20$, $p=0,027$). При 4°C и 25°C наблюдалась выраженная тенденция к различиям ($p=0,058$ и $p=0,066$ соответственно), что, вероятно, связано с ограниченным объемом выборки ($n=3$). Во всех температурных режимах ПС способствовал наибольшему накоплению биомассы, за ним следовали ПММА и ПВХ. Полученные результаты указывают на то, что ПС является наиболее благоприятным субстратом для роста исследуемого микромицета. Это может объясняться различиями в гидрофобности и/или химической структуре полимеров, что влияет на адгезию и последующую колонизацию и поглощение мицелием. Пост-хок анализ с поправкой Холма-Бонферрони (критерий Данна) выявил, что при 10°C статистически значимое различие в накоплении биомассы наблюдается только между ПВХ и ПС ($Z = -2,683$, $p = 0,022$). Различия между парами ПММА-ПС ($Z = -1,342$, $p = 0,180$) и ПММА-ПВХ ($Z = 1,342$, $p = 0,180$) не достигли уровня статистической значимости, что скорее всего объясняется малым объемом выборки.

Изучение ферментативной активности гриба *L. coprophilum* показало (Таблица 2) наличие активности ферментов из группы гидролаз (амилазы, липазы и протеазы), среди которых особое значение в контексте данного исследования имеет липаза. Активность этого фермента, наряду с протеазой и амилазой, косвенно свидетельствует о способности гриба к гидролизу сложноэфирных связей, что является фундаментальным механизмом для атаки на синтетические полимеры, близкие по структуре к природным субстратам этих ферментов. Достаточно высокая активность внеклеточных липазы и протеазы при 4°C, наблюдаемая на фоне отсутствия или низкого прироста биомассы, свидетельствует об адаптивной направленности метаболизма *L. coprophilum* в данных условиях, так как колония в большей степени секретирует экзоферменты, а не растет. В целом, высокая внеклеточная липазная активность позволяет предположить, что данный фермент может играть ключевую роль в деградации ПММА, содержащего сложноэфирные группы.

Хотя ряд других грибов при использовании той же методики, что и в данной работе, показали положительную реакцию на лакказы (Полякова и др., 2025), исследуемый *L. coprophilum* не показал активности лакказ. В тоже время лакказы и близкие окислительные ферменты в ряде работ рассматриваются в качестве ключевых, исходных катализаторов биodeградации ПВХ (Kirbas et al., 1999; Zhang et al., 2022; Temporiti et al., 2022). Возможно, *L. coprophilum* свойственен принципиально иной, не-оксидативный механизм деструкции пластика.

4. Выводы

В результате проведенного исследования впервые экспериментально изучена способность микромицета *L. coprophilum* использовать наноча-



Рис.4. Фотографии дисперсий синтетических полимеров до (вверху) и после (внизу) посева гриба *L. coprophilum* и выдерживания в течение 76 дней при 10-11°C. Начальная концентрация наночастиц – 100 мг/л.

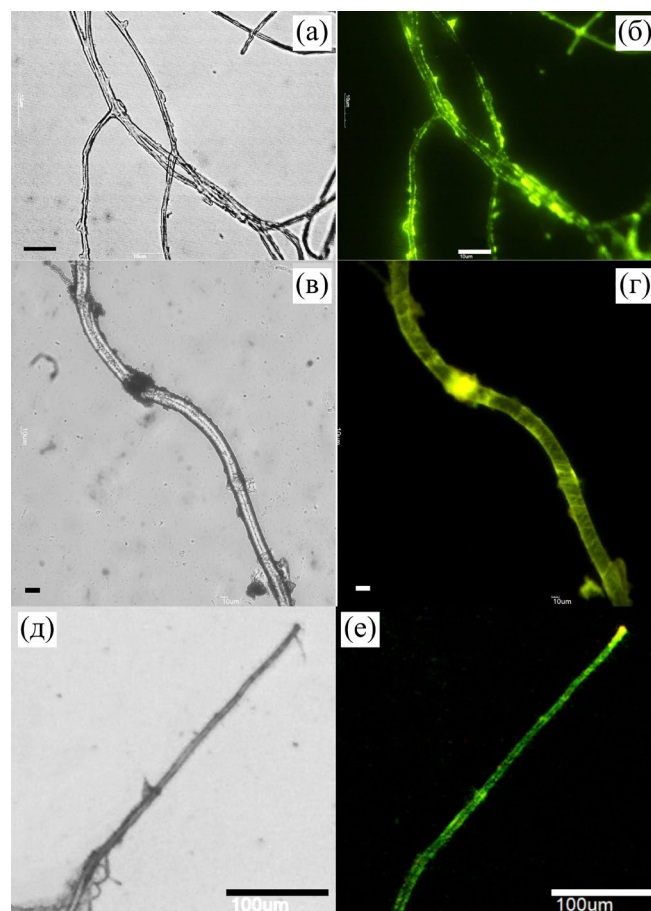


Рис.5. Световые и флуоресцентные микрофотографии гиф *L. coprophilum* после роста в среде с окрашенным флуоресцентным красителем нанопластиком: (а-б) – нестерильная дисперсия ПВХ, (в-г) – стерильная дисперсия ПВХ, (д-е) – стерильная дисперсия ПС. Зелёное свечение – флуоресценция частиц нанопластика. Масштаб: (а-б) – 10 мкм, (в-г) – 20 мкм, (д-е) – 100 мкм.

стицы синтетических полимеров — поливинилхлорида (ПВХ), полистирола (ПС) и полиметилметакрилата (ПММА) — в качестве субстрата для роста. Установлено, что данный вид гриба способен не только адсорбировать нанопластики на поверхности гиф, но и вовлекать их в свой метаболизм, что подтверждается данными флуоресцентной микроскопии, демонстрирующей внутриклеточную локализацию частиц, а также снижением концентрации полимеров в среде.

Показана зависимость накопления биомассы мицелия и от типа полимера, и от температуры. В частности, достоверная разница при 10°C в количестве биомассы наблюдалась между ПС и ПВХ. При этом ПС поддерживал стабильно высокий рост гриба при всех исследованных температурах (от 4 до 25°C). Для двух других пластиков — ПВХ и ПММА визуальный анализ данных показывает тенденцию к максимальному накоплению биомассы при 10°C. Медианные значения биомассы мицелия демонстрируют устойчивое ранжирование полимеров по степени благоприятности: ПС > ПММА > ПВХ, сохраняющееся при всех температурах культивирования. Однако для подтверждения оптимальной температуры роста на этих субстратах требуются дополнительные эксперименты с увеличенным количеством повторностей.

Достаточно высокая внеклеточная активность у *L. coprophilum* ферментов из класса гидролаз, в особенности липаз, свидетельствует о потенциальной способности к расщеплению сложнэфирных и других химических связей в полимерах. Отсутствие активности лакказ, часто рассматриваемых в качестве возможных агентов окислительной биодеструкции пластиков, у *L. coprophilum* указывает на возможность иного, не-оксидативного механизма деструкции. На сегодняшний день, механизм биодеструкции пластиков различными организмами мало изучен и наши данные также указывают, что он может протекать по нескольким траекториям.

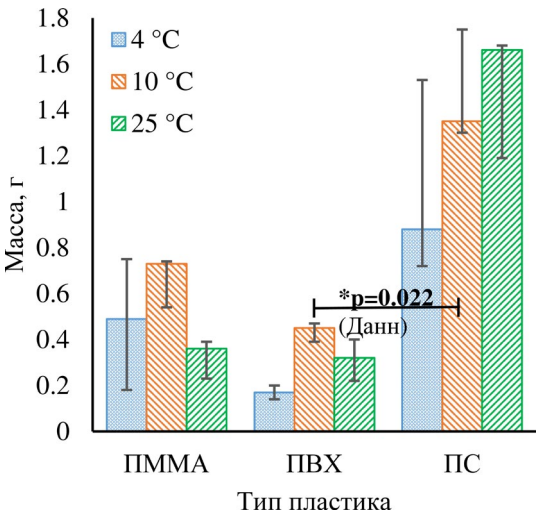


Рис.6. Сравнительный анализ накопления биомассы мицелия *L. coprophilum* в дисперсиях наночастиц ПВХ, ПММА и ПС при 4, 10 и 25°C. Представлены медианные значения. * – при температуре 10°C различия статистически значимы (пост-хок анализ с поправкой Холма-Бонферрони (критерий Данна), $p = 0,022$).

Таким образом, работа демонстрирует, что *L. coprophilum* — широко распространённый и биотехнологически значимый гриб — обладает способностью использовать в качестве субстрата различные типы нанопластиков. Это открывает перспективы для его рассмотрения в качестве потенциального агента для биоремедиации пластиковых загрязнений. Для подтверждения прямого процесса биодеградаци, установления биохимических механизмов и оценки эффективности в реальных условиях необходимы дальнейшие исследования с увеличенным объёмом выборки. Полученные данные вносят вклад в понимание экологической роли микромицетов в биогеохимическом цикле пластиков и расширяют список организмов-кандидатов для разработки технологий экологической очистки.

Таблица 2. Ферментативная активность гриба *L. coprophilum*

Тип фермента	Субстрат	Температура, °C	Диаметр, мм	
			колонии	зоны реакции
Амилазы	Крахмал	4	0	0
		10	10.3 ± 0.4	16.7 ± 0.5
		25	30.3 ± 1.4	32.3 ± 1.4
Целлюлазы	Карбокси-метилцеллюлоза	4	0	0
		10	0	0
		25	0	0
Лакказы	ABTS	4	0	0
		10	0	0
		25	0	0
Липазы	Tween 20	4	0	30.3 ± 1.5
		10	13.8 ± 0.4	33.7 ± 1.2
		25	26.6 ± 0.5	47.3 ± 0.8
Протеазы	Обезжиренное молоко	4	8.3 ± 0.5	22.7 ± 1.0
		10	14.8 ± 1.0	30.0 ± 0.9
		25	37.3 ± 0.5	54.5 ± 0.6

Благодарности

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, проект № 122012600070-9.

Авторы выражают благодарность Марселю Кабилову (ИХБФМ СО РАН, ЦКП «Геномика») за экспертные комментарии и всестороннее обсуждение результатов, которые способствовали улучшению данной работы, а также ЦКП «Ультрамикроанализ» за предоставленное оборудование.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Полякова М.С., Пудовкина Т.А., Бедошвили Е.Д. и др. 2025. Новая экологическая ниша *Paraphaeosphaeria sporulosa*: таксономия, филогения и ферментативная активность. В: Тезисы докладов VIII Международной Вережанинской Байкальской конференции 8-14 сентября 2025. Иркутск: Издательство ИГУ, 469–470.
- Annenkov V.V., Danilovtseva E.N., Zelinskiy S.N. et al. 2021. Submicro- and nanoplastics: how much can be expected in water bodies? *Environmental Pollution* 278: 116910. DOI: [10.1016/j.envpol.2021.116910](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116910)
- Annenkov V.V., Pal'shin V.A., Annenkova N.V. et al. 2023. Uptake and effects of nanoplastics on the dinoflagellate *Gymnodinium corollarium*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 42(5):1124–1133. DOI: [10.1002/etc.5604](https://doi.org/10.1002/etc.5604)
- Anuar M.S.K., Khairuddin N.H., Zainal Z.S. et al. 2025. *Lecanicillium coprophilum*-mediated green synthesis of zinc oxide nanoparticles displaying antimicrobial activity against important rice pathogens. *Mycologia* 117(5): 801–817. DOI: [10.1080/00275514.2025.2525718](https://doi.org/10.1080/00275514.2025.2525718)
- Baudrimont M., Arini A., Guégan C. et al. 2020. Ecotoxicity of polyethylene nanoplastics from the North Atlantic oceanic gyre on freshwater and marine organisms (microalgae and filter-feeding bivalves). *Environmental Science and Pollution Research* 27: 3746–3755. DOI: [10.1007/s11356-019-04668-3](https://doi.org/10.1007/s11356-019-04668-3)
- Doyle J.J., Dickson E.E. 1987. Preservation of plant samples for DNA restriction endonuclease analysis. *Taxon* 36: 715–722. DOI: [10.2307/1221122](https://doi.org/10.2307/1221122)
- Goettel M.S., Koike M., Kim J.J. et al. 2008. Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases. *Journal of Invertebrate Pathology* 98(3): 256–261. DOI: [10.1016/j.jip.2008.01.009](https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.01.009)
- Gopinath S.C.B., Hilda A., Anbu P. 2005. Extracellular enzymatic activity profiles in fungi isolated from oil-rich environments. *Mycoscience* 46(2): 119–126. DOI: [10.1007/S10267-004-0221-9](https://doi.org/10.1007/S10267-004-0221-9)
- Ibrahim S.S., Ionescu D., Grossart H.-P. 2024. Tapping into fungal potential: Biodegradation of plastic and rubber by potent Fungi. *Science of The Total Environment* 934: 173188. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2024.173188](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173188)
- Kalyaanamoorthy S., Minh B.Q., Wong T.K. et al. 2017. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature methods* 14(6): 587–589. DOI: [10.1038/nmeth.4285](https://doi.org/10.1038/nmeth.4285)
- Khatua S., Simal-Gandara J., Acharya K. 2024. Myco-remediation of plastic pollution: current knowledge and future prospects. *Biodegradation* 35(3): 249–279. DOI: [10.1007/s10532-023-10053-2](https://doi.org/10.1007/s10532-023-10053-2)
- Kheswa N., Gokul A., Dube N. 2025. Identification of novel polyethylene-degrading fungi from South African land-fill soils: *Arthrographis kalrae*, *Lecanicillium coprophilum*, and *Didymosphaeria variabile*. *Biodegradation* 36(4): 71. DOI: [10.1007/s10532-025-10170-0](https://doi.org/10.1007/s10532-025-10170-0)
- Kirbas Z., Keskin N., Güner A. 1999. Biodegradation of Polyvinylchloride (PVC) by White Rot Fungi. *Bull. Environ. Contam. Toxicol* 63: 335–342. DOI: [10.1007/s001289900985](https://doi.org/10.1007/s001289900985)
- Meng Y., Wellabada Hewage Don P.I.D., Wang D. 2022. A new strain of *Lecanicillium uredinophilum* isolated from Tibetan Plateau and its insecticidal activity. *Microorganisms* 10(9): 1832. DOI: [10.3390/microorganisms10091832](https://doi.org/10.3390/microorganisms10091832)
- Nguyen L.-T., Schmidt H.A., von Haeseler A. et al. 2015. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular biology and evolution* 32(1): 268–274. DOI: [10.1093/molbev/msu300](https://doi.org/10.1093/molbev/msu300)
- Palshin V.A., Danilovtseva E.N., Strelova M.S. et al. 2020. Fluorescent nanoplastic particles: synthesis and influence on diatoms. *Limnology and Freshwater Biology* 5: 1067–1072. DOI: [10.31951/2658-3518-2020-A-5-1067](https://doi.org/10.31951/2658-3518-2020-A-5-1067)
- Ramírez M.G.C., Rivera-Ríos J.M., Téllez-Jurado A. et al. 2012. Screening for thermotolerant ligninolytic fungi with laccase, lipase, and protease activity isolated in Mexico. *Journal of Environmental Management* 95: S256–S259. DOI: [10.1016/j.jenvman.2010.10.045](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.10.045)
- Saeed S., Iqbal A., Deeba F. 2022. Biodegradation study of Polyethylene and PVC using naturally occurring plastic degrading microbes. *Archives of Microbiology* 204: 497. DOI: [10.1007/s00203-022-03081-8](https://doi.org/10.1007/s00203-022-03081-8)
- Sánchez C. 2020. Fungal potential for the degradation of petroleum-based polymers: An overview of macro- and microplastics biodegradation. *Biotechnology Advances* 40: 107501. DOI: [10.1016/j.biotechadv.2019.107501](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107501)
- Sendra M., Staffieri E., Yeste M.P. et al. 2019. Are the primary characteristics of polystyrene nanoplastics responsible for toxicity and ad/absorption in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*? *Environmental Pollution* 249: 610–619. DOI: [10.1016/j.envpol.2019.03.047](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.047)
- Su L., Zhu H., Guo Y. et al. 2019. *Lecanicillium coprophilum* (Cordycipitaceae, Hypocreales), a new species of fungus from the feces of Marmota monax in China. *Phytotaxa* 387(1): 55–62. DOI: [10.11646/PHYTOTAXA.387.1.4](https://doi.org/10.11646/PHYTOTAXA.387.1.4)
- Sunitha V.H., Devi D.N., Srinivas C. 2013. Extracellular enzymatic activity of endophytic fungal strains isolated from medicinal plants. *World Journal of Agricultural Sciences* 9(1): 01–09. DOI: [10.5829/idosi.wjas.2013.9.1.72148](https://doi.org/10.5829/idosi.wjas.2013.9.1.72148)
- Tamura K., Stecher G., Peterson D. et al. 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution* 30(12): 2725–2729. DOI: [10.1093/molbev/mst197](https://doi.org/10.1093/molbev/mst197)
- Temporiti M.E.E., Nicola L., Nielsen E. et al. 2022. Fungal Enzymes Involved in Plastics Biodegradation. *Microorganisms* 10(6): 1180. DOI: [10.3390/microorganisms10061180](https://doi.org/10.3390/microorganisms10061180)
- White T.J., Bruns T., Lee S. et al. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications 18(1): 315–322.
- Zhang Z., Peng H., Yang D. et al. 2022. Polyvinyl chloride degradation by a bacterium isolated from the gut of insect larvae. *Nature Communications* 13:5360. DOI: [10.1038/s41467-022-32903-y](https://doi.org/10.1038/s41467-022-32903-y)