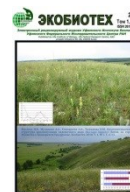




ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



ВИДОВОЙ СОСТАВ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ, ОБРАЗУЮЩИХ ВИДИМЫЕ КОЛОНИИ В ПЕЩЕРЕ КИНДЕРЛИНСКАЯ (ЮЖНЫЙ УРАЛ)

Галимзянова Н.Ф., Рябова А.С.,
Кузьмина Л.Ю.

Уфимский Институт биологии Уфимского
федерального исследовательского центра РАН, Уфа,
E-mail: galnailya@yandex.ru

Изучен видовой состав видимых колоний микроскопических грибов, развивающихся на грунтах и скальных поверхностях в пещере Киндерлинская. Массовое развитие колоний приурочено к участкам, испытывающим высокую рекреационную нагрузку, которая обуславливает их загрязненность органическими веществами. Микроскопические грибы в видимых колониях представлены 50 видами, принадлежащими к 26 родам, стерильными формами, а также дрожжевыми грибами. Установлено, что колонии представляют собой комплексы микромицетов, включающие как виды, типичные для почв Башкортостана, так приуроченные к подземным местообитаниям. Доминирующими видами оказались *Aspergillus versicolor* и *Penicilium aurantiogriseum*. В составе колоний выявлены микромицеты, представляющие потенциальную опасность для здоровья человека. Высокое сходство комплексов микромицетов колоний различных участков пещеры свидетельствует о занесении большинства видов, формирующих видимые колонии, посетителями пещеры, а также об их распространении по ходу движения людей.

Ключевые слова: пещера, микроскопические грибы, рекреационная нагрузка

SPECIES COMPOSITION OF MICROSCOPIC FUNGI FORMS A VISIBLE COLONIES IN KINDERLINSKAYA CAVE (SOUTHERN Ural)

Galimzyanova N.F., Ryabova A.S.,
Kuzmina L.Y.

Ufa Institute of biology of the Ufa Federal Research
Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, e-mail:
galnailya@yandex.ru

The species composition of visible colonies of microscopic fungi developing on soils and rock surfaces in the Kinderlinskaya cave has been studied. Mass development of colonies is confined to areas experiencing high recreational load due to contamination with organic substances. Microscopic fungi in visible colonies are represented by 50 species belonging to 26 genera, sterile forms, and yeast fungi. It has been established that the colonies are complexes of micromycetes, including both species typical for Bashkortostan soils, and confined to underground habitats. The dominant species were *Aspergillus versicolor* and *Penicilium aurantiogriseum*. The micromycetes that pose a potential risk to human health were identified in the composition of the colonies. The high similarity of the micromycetes complexes from the colonies located in various parts of the cave suggests introduction of most species that form visible colonies by cave visitors as well as their distribution along the pathway of people's movement.

Keywords: cave, microscopic fungi, recreational load

Поступила в редакцию: 12.03.2018

DOI: 10.31163/2618-964X-2018-1-1-25-32

ВВЕДЕНИЕ

Пещеры представляют собой экстремальные экосистемы, для которых характерен относительно низкий уровень содержания источников углерода, доступных для гетеротрофной микробиоты [Абдуллин, 2014]. Однако, вследствие высокой рекреационной нагрузки в полость может попадать значительное количество субстратов, которые используются микроорганизмами. Кроме того, с людьми в пещеры проникают грибы и бактерии с дневной поверхности. Известно, что на одежде, в среднем, каждый человек вносит в пещеру 1 мкг/сек^{-1} различных аэрозолей, в том числе и биологических [Michie,

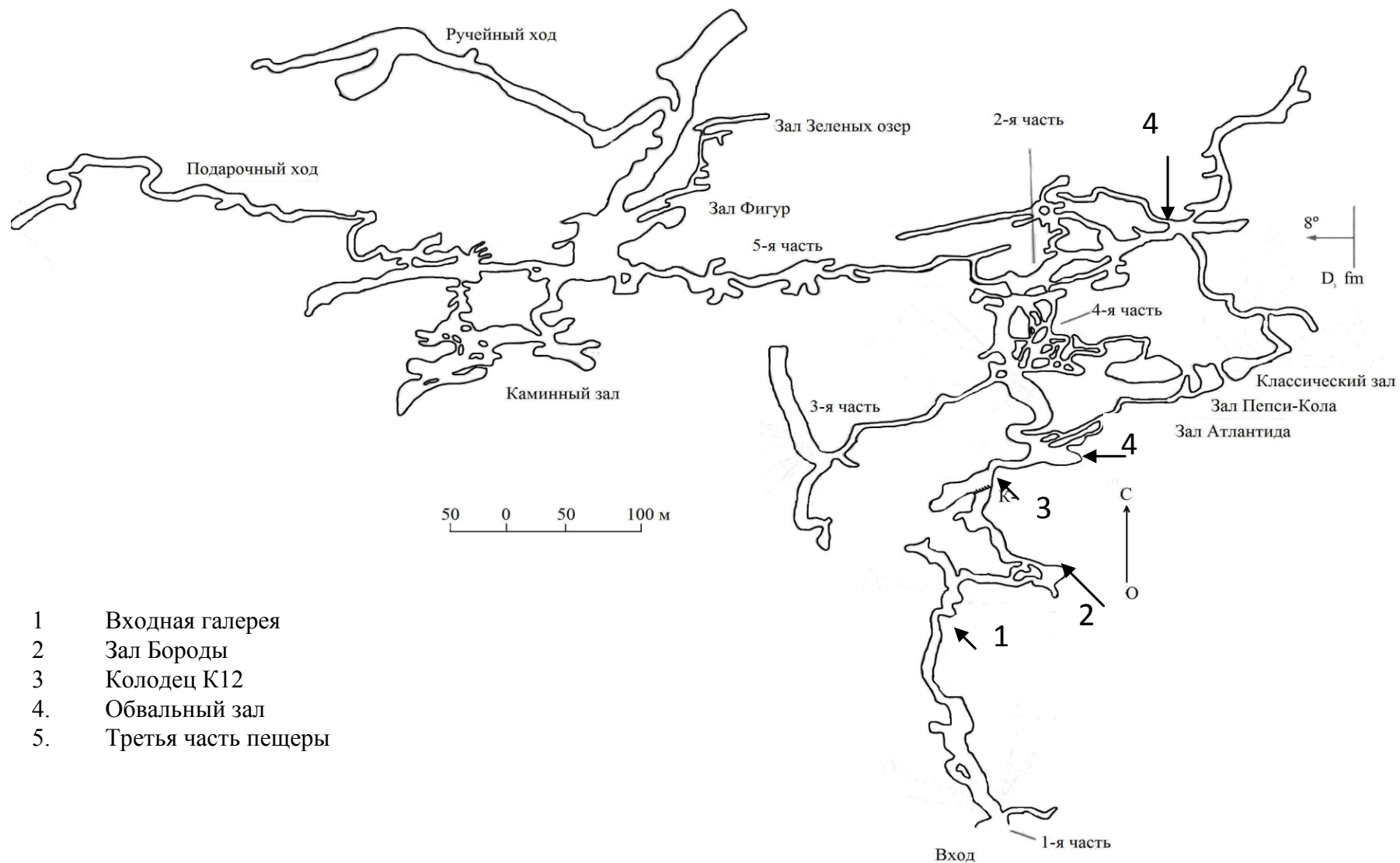
2004]. Опасность переноса в пещеру микроорганизмов на теле и одежде человека заключается в том, что в этом случае чужеродные виды напрямую доставляются в дальние части пещер – минуя естественные барьеры, действующие для природных агентов – воздуха и воды. Случаи возникновения видимых колоний грибов в экскурсионных пещерах известны, однако обычно они связаны с разовыми происшествиями. Как правило, такие инциденты тщательно исследуются и предпринимаются безотлагательные меры по предотвращению распространения заражения спелеосистемы [Jurado et al., 2010].

В одной из самых посещаемых и крупных пещер Южного Урала - спелеосистеме Киндерлинская (имени 30-летия Победы) около 20 лет наблюдается видимый рост колоний микроскопических грибов на грунтах и скальных поверхностях. Пещера расположена в южной части хребта Улутау (Южный Урал, Республика Башкортостан), на правом склоне долины реки Киндерли (правый приток р. Зилим), в ее устьевой части. Это самая значительная по амплитуде (–250 м) пещера Урала и вторая по длине пещера Башкортостана (8600 м). Начиная с 1974 года (открытие пещеры) поток людей, посещающих ее, увеличивался с 1000 человек до более 10000 человек в год в ближних частях пещеры. Массированное воздействие на спелеосистему привело к значительному загрязнению пещеры и необходимости ее восстановления. Однако, любые мероприятия в таких уязвимых экосистемах как пещеры должны проводиться при адекватном научном обеспечении, которое позволяет не только оценить причины и степень нарушения, но и рекомендовать способы восстановления системы.

Целью настоящей работы явилось изучение видового состава видимых колоний грибов в пещере Киндерлинская, роли антропогенного фактора в их формировании и возможности ограничения их развития.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование колоний в пещере производили в три раза – июль, октябрь 2017 и январь 2018 годов. Образцы отбирали при маршрутных обследованиях во Входной галерее с действующим подземным базовым лагерем (ПБЛ), на участке от зала Бороды до колодца К12, под колодцем К12 (ПБЛ), в зале Обвальный (ПБЛ), на участке после зала Обвальный до хода в Третью часть пещеры (не доходя до зала Диспетчерская) (рисунок). Наличие подземного базового лагеря предполагает длительное присутствие людей (до нескольких суток), приготовление пищи, ночевки, организацию туалета. Пробы колоний отбирали в стерильные полипропиленовые пробирки. Отобрано более 200 образцов. Микроорганизмы выделяли на агаризованной среде Чапека методом укола, перенося часть колонии стерильной петлей на питательную среду. Для предотвращения роста бактерий в среду добавляли циклогексимид (40 мкг/мкл). Идентификацию микромицетов осуществляли по культурально-морфологическим признакам с использованием известных определителей, названия приведены в современной редакции в соответствии с базой данных www.indexfungorum.org [Билай, Курбацкая, 1990; Кириленко, 1978; Литвинов, 1967; Сатон и др., 2001; Raper, Fennell, 1965; Raper, Thom, 1968; Watanabe, 2002]. Для характеристики видового состава колоний были рассчитаны временная и пространственная встречаемость каждого вида, а также на основе пространственной частоты встречаемости коэффициенты сходства Сьеренсена-Чекановского [Мирчинк, 1986].



- 1 Входная галерея
- 2 Зал Бороды
- 3 Колодец К12
- 4 Обвальный зал
- 5 Третья часть пещеры

Рис. План пещеры Киндерлингская (им. 30-летия Победы). Карта составлена по материалам: Андреев А.С., Котов Т., Сигов А., Майстренко А., Миронова В. (год топосъемки, 1974); Климец В.В., Иванов Г.В. (1975); Низамутдинов Р.Г., Чиглинцева А., Валеев Р., Пахарь Т., Гершов В., Спиридонов В., Лопатин Л., Якупова Ф. (1977-1985); Шаймарданов Р., Нохов И., Симахин С. (1980); Габбасов Р., Рычагова Н., Латыпова Н., Колосов С., Призенцов С, Соловьева Р., Еременко А., Асфандиярова С. (1985-1987); Смирнов А.И., Соколов Ю.В. (1993); Лазарев Н. (2007-2009); Соболев С., Чанышева А., Малышева Д., Даминова А. (2007); Дубинин Е., Рычагова Н., Рыманова Е. Баширов А. (2008).

Для сокращения развития колоний в зале Бороды была проведена обработка видимых обрастающих 15% H_2O_2 методом дождевания (июль 2017). Обработке подвергали скальные поверхности и грунт.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Колонии грибов пещеры Киндерлинская отличаются большим разнообразием морфотипов, характеризующихся разным цветом (белые, желтые, кремовые, серые, черные, зеленые, оливковые) и структурой. Рост колоний наблюдается на органических субстратах (свечи, бумага, пищевые отходы, отходы жизнедеятельности человека, трупы летучих мышей), а также и вне заметных субстратов. Значительные по площади зоны развития колоний обнаружены во Входной галерее, где располагается подземный базовый лагерь – 20 м², в зале Бороды – 40 м², а также на участке под колодцем К12 – более 50 м². По мере продвижения вглубь пещеры площади развития визуально заметных колоний микромицетов сокращаются.

Видовой состав микроскопически грибов, выделенных их колоний в пещере, представлен в таблице 1. Микроскопические грибы представлены 50 видами, принадлежащими к 26 родам, стерильными формами, различающимися по цвету, а также дрожжевыми грибами, которые объединены в одну группу. Максимальное богатство видов установлено для родов *Aspergillus* (7 видов) и *Penicillium* (8 видов). Роды *Fusarium* и *Paecilomyces* были представлены тремя видами, остальные - одним, двумя. В составе анализируемых колоний выявлены как виды типичные для почв Башкортостана (*A. alternata*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *R. arrhizus* др.) [Галимзянова, Бойко, 2011], так и те, которые согласно литературным данным, а также нашим наблюдениям, приурочены к подземным местообитаниям – *C. stemonitis*, *D. minutissimum*, *G. pannorum*, *M. castaneae*, *T. polysporum*, *O. cerealis* [Rutherford, Huang, 1994, Nováková, 2009].

Ранее нами было проведено изучение состава микроскопических грибов ряда экотопов пещеры Киндерлинская (грунт, ил и вода водоемов) [Кузьмина и др., 2012]. Ряд видов оказались общими для грунта и видимых колоний (*A. charticola*, *A. aureolatus*, *T. hyalina*, *G. pannorum*, *A. versicolor*, *C. stemonitis*, *T. polysporum* и др.), тогда как вид *P. aurantiogriseum* (доминант в ряде колоний, табл. 1) не был ранее обнаружен ни в одном из изученных образцов. По сравнению с грунтом состав пенициллов в изучаемых колониях существенно шире – 8 видов. Аналогичная тенденция характерна и для грибов рода *Aspergillus*. Из семи видов только два ранее выделялись из других биотопов пещеры (*A. aureolatus*, *A. versicolor*). Анализ данных, представленных в таблице 1, позволяет заключить, что для видов, приуроченных к спелеосистеме, характерны относительно низкая пространственная (2-20%), в сочетании высокой временной встречаемостью. Напротив, занесенные виды имеют высокие значения обоих показателей. Особенно заметно это явление проявляется на примере *P. aurantiogriseum*. Пространственная встречаемость вида снижалась по мере продвижения вглубь, от максимального значения во Входной галерее (ПБЛ) (70%) до 56% на участке после зала Обвальный, временная встречаемость при этом оставалась высокой 67- 100%.

Расчет коэффициентов Сьеренсена-Чекановского показал высокое сходство видового состава видимых колоний в изученных частях пещеры (в среднем 54%). В труднодоступных, но сообщающихся между собой частях пещеры (под колодцем К12 - зал Обвальный), сходство достигало 70%. В других пещерах Башкортостана, не имеющих видимых колоний

Таблица 1. Видовой состав микроскопических грибов, развивающихся на различных субстратах в пещере Киндерлинская (пространственная / временная частота встречаемости, %)

Виды/ часть пещеры/ расстояние от поверхности	Входная галерея (-210 м)	Борода и до колодца К12 (-312 - -400 м)	Под колодезем К12 (-412 - -432 м)	Обвальный (-504 м)	После 3 Обвальный до хода в III часть
1	2	3	4	5	6
<i>Acremonium butyri</i> (J.F.H. Beyma) W. Gams	4/33	5/67			
<i>A. charticola</i> (Lindau) W.Gams	7/67	2/33	10/67	7/67	8/67
<i>Acremonium</i> sp.		2/33			
<i>Alternaria alternata</i> Fr.) Keissl.	7/67	7/100	7/67		6/33
<i>Arthrotrichum arthrotrichoides</i> (Berl.) Lindau			3/33		
<i>Arthrotrichum</i> sp.		2/33		4/33	
<i>Aspergillus aureolatus</i> Munt.-Cvetk.&Bata	4/33	12/100	10/67	7/67	6/67
<i>A. awamori</i> Nakaz		5/33	3/33		
<i>A. fumigatus</i> Fresen.	4/33	7/67	7/67	4/33	
<i>A. nidulans</i> (Eidam) G.Winter	4/33				
<i>A. niger</i> Tiegh.					3/33
<i>A. versicolor</i> (Vuill.) Tirab.	4/33	23/67	77/100	68/100	8/67
<i>Aspergillus</i> sp.				4/33	3/33
<i>Cephalotrichum stemonitis</i> (Pers.) Nees (<i>Echinobotrium atrum</i>)	19/100	2/33	3/33	4/33	3/33
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze		2/33			
<i>Dicoccum minutissimum</i> Corda				7/33	
<i>Fusarium aqueductum</i> (Radl.& Rabenh.) Lagerh.& Rabenh		2/33			
<i>Fusarium merismoides</i> Corda (<i>Fusicolla merismoides</i> (Corda) Gräfenhan, Seifert & Schroers)				4/33	
<i>Fusarium</i> sp.	4/33		3/33		
<i>Geomyces pannorum</i> (<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>) (Link) Minnis&D.L.Linder	22/100	9/67	7/33	11/67	6/67
<i>Gliocladium roseum</i> Bainier (<i>Clonostachys rosea</i> (Link) Schroers, Samuels, Seifert & W.Gams)		2/33			
<i>Humicola fuscoatra</i> Traaen			3/33	7/33	6/33
<i>Humicola nigrescens</i> Omvik		2/33	3/33		
<i>Monodyctis castaneae</i> (Wallr.) S.Hughes				11/67	3/33
<i>M. levis</i> (Wiltshire) S.Hughes				4/33	
<i>Mortierella</i> sp.	11/67	7/67	45/67	36/67	
<i>Mucor</i> sp.	11/100	5/33	7/67		3/33
<i>Oidiodendron cerealis</i> (Thüm.) G.L.Barron	4/33	12/67		4/33	6/33
<i>Paecilomyces inflatus</i> (Burnside) J.W.Carmich (<i>Phialemonium inflatum</i>) (Burnside) Dania Garcia, Perdomo, Gene, Cano &Juarro	7/67	2/33	3/33	4/33	
<i>Paecilomyces farinosus</i> (Holmsk.) A.H.S.Br. & G. Sm. (<i>Isaria farinosa</i> (Holmsk.) Fr.		5/67			

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6
<i>Paecilomyces</i> sp.				4/33	3/33
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx	70/100	47/100	32/67	25/67	56/100
<i>P. brevicompactum</i> Dierckx	4/33				3/33
<i>P. canescens</i> Sopp	4/33				
<i>P. funiculosum</i> Thom				4/33	
<i>P. simplicissimum</i> (Oudem.) Thom	7/67	5/33			3/33
<i>P. spinulosum</i> Thom	22/67	28/100			8/67
<i>P. vulpinum</i> (Cooke & Meassee) Seifert & Samson		5/67			3/33
<i>Penicillium</i> sp.	19/67	2/33			14/67
<i>Rhinochrysiella versiculosa</i> Kamyschko					3/33
<i>Rhizopus arrhizus</i> A.Frisch.			3/33		6/33
<i>Rhizopus</i> sp.			3/33		
<i>Scolecobacidium</i> sp.			3/33		
<i>Stachybotrys chartarum</i> (Ehrenb.) S.Hughes		2/33	3/33	4/33	3/33
<i>Stemphylium</i> sp.	7/67				3/33
<i>Tilachlidium ramosum</i> Kamyschko	4/33				
<i>Trichoderma polysporum</i> (Link) Rifai				7/33	
<i>Trichoderma</i> sp.	4/33		3/33		11/66
<i>Trichosporiella cerebriformis</i> (J.A. deVries & Kleine-Natrop) W.Gams		12/67	16/100	14/100	17/67
<i>Wardomyces ovalis</i> W.Gams	4/33	2/33	3/33		
<i>Mycelia sterilia</i> d					3/33
<i>Mycelia sterilia</i> w	15/100			7/33	17/67
<i>Mycelia sterilia</i> y				4/33	3/33
<i>Mycelia sterilia</i> p.					3/33
Дрожжевые грибы	15/100	9/33	36/100	21/67	
Аскомицеты		7/67			3/33
Всего видов	24/1/1	29/1	23/1	22/2/1	26/4
Всего видимых колоний	27	43	31	28	36

микроскопических грибов, сходство комплексов микромицетв грунта с низкой и высокой антропогенной нагрузкой, не превышало 30% (собственные данные). Этот факт также свидетельствует в пользу предположения о занесении большинства видов, формирующих видимые колонии в пещере Киндерлинская посетителями пещеры и их распространения по ходу движения людей.

Таким образом, видимые колонии грибов, развивающиеся на различных субстратах пещеры, представляют собой комплексы микроскопических грибов, включающие в себя как занесенные виды (зачастую доминирующие в их составе), так и в качестве минорных компонентов виды, характерные для подземных условий.

Активное использование пещеры Киндерлинская туристами и спелеологами приводит к необходимости обеспечения безопасной для здоровья человека среды. Однако анализ состава колоний грибов показал, что среди них представлены виды, способные вызывать ряд серьезных заболеваний (табл. 2). Кроме того, следует учитывать, что большинство выделенных видов образуют большое количество мелких спор, хорошо распространяемых по воздуху. Последнее обстоятельство может приводить к развитию аллергических реакций у чувствительных людей. С целью уничтожения видимых колоний и ограничения их

развития в зале Бороды, были произведены обработки очагов 15% перекисью водорода. Лучший эффект перекись водорода показала на скальных поверхностях, где после обработки представляется возможность удалить не только биомассу, но и субстрат на котором она развивалась. Использование этого реагента для обработки колоний, развивающихся на грунте, не было эффективно. Анализ развития колоний и их состава, поведенный через 2 месяца после обработки (октябрь) выявил сокращение числа выделенных видов (с 49 видов до 14), однако через 6 месяцев после обработки (январь 2018 года) произошло практически полное восстановление их количества – до 36. Результаты предыдущих обработок показали, что биоциды хотя и не подавляют полностью развитие грибов, но приводят к изменениям в видовом составе колоний в пользу видов, характерных для пещер [Кузьмина и др., 2014]. Таким образом, проблема борьбы с развитием микроскопических грибов пещере остается не до конца решенной. Очевидно, для ограничения роста микромицетов необходимо сохранение трофического режима экосистемы в сочетании с применением биоцидов.

Таблица 2. Потенциальная патогенность видов микроскопических грибов, обнаруженных в пещере Киндерлинская (по Саттон др., 2001)

Виды	Заболевания
Представители рода <i>Acremonium</i>	Онихомикоз, язва роговицы глаза, мицетома, менингит, эндокардит
<i>Alternaria alternata</i>	Синусит, кератомикоз, онихомикоз
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Аспергиллез различных органов
<i>A. niger</i>	Легочные инфекции
<i>A. versicolor</i>	Онихомикоз, инвазивный аспергиллез
<i>Chaetomium globosum</i>	Онихомикоз, перионит
<i>Echinobotrium atrum (Cephalotrichum stemonitis)</i>	Легочные инфекции
<i>Geomyces pannorum</i>	Онихомикозы
<i>Oidiodendron cerealis</i>	Кожные инфекции
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Зигомикоз

Проведенное исследование позволяет сделать вывод о том, что массовое развитие колоний микроскопических грибов в пещере Киндерлинская является следствием высокой рекреационной нагрузки. Видимые колонии представляют собой сообщества, состоящие из нескольких видов в то числе и занесенных с поверхности, развивающихся за счет биотических загрязнений, меняющих трофический статус спелеосистемы. Обнаружение среди микромицетов, формирующих колонии, потенциально опасных для человека видов, свидетельствует о необходимости разработки научно обоснованных мер по эффективному ограничению их развития.

Авторы выражают благодарность Н.И. Рычаговой и членам Уфимского спелеоклуба им. В. Насонова за помощь в сборе образцов и обеспечении безопасной работы в пещере Киндерлинская.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллин Ш.Р. Разнообразие трофической структуры экосистем пещер // Успехи современной биологии. 2014. Т. 134, №2. С.192-204.
2. Билай В.И., Курбацкая З. А. Определитель токсинообразующих микромицетов. Киев: Наукова думка. 1990. 236 с.

3. Галимзянова Н.Ф., Бойко Т.Ф. Микромитеты чернозема южного при использовании нетрадиционных видов органических удобрений. Известия Самарского научного центра РАН. 2011. Т. 13, № 5(3). С.30-32.
4. Егорова Л.Н. Почвенные грибы Дальнего Востока: Гифомицеты. Л.: Наука. 1986. 192 с.
5. Кириленко Т.С. Атлас родов почвенных грибов. Киев: Наукова думка, 1978. 128 с.
6. Кузьмина Л.Ю., Галимзянова Н.Ф., Абдуллин Ш.Р., Рябова А.С. Микробиота пещеры Киндерлинская (Южный Урал) // Микробиология. 2012. Т. 81. № 2. С. 273-281.
7. Кузьмина Л.Ю., Галимзянова Н.Ф., Рябова А.С. Пещера Киндерлинская: последствия рекреационного использования и их влияние на микробиоту. Комплексное использование и охрана подземных пространств. Международная конференция 26-30 мая 2014 г. Кунгур. Пермь 2014. С. 272-281.
8. Литвинов М.А. Определитель микроскопических почвенных грибов. Л.: Наука, 1967. 303 с.
9. Мирчинк Т.Г. Почвенная микология. М.: МГУ. 1988. 220 с.
10. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М.: Мир. 2001. 469 с.
11. Bastian F., Alabouvette C., Jurado V., Saiz-Jimenez C. Impact of biocide treatments on the bacterial communities of the Lascaux Cave // *Naturwissenschaften*. 2009. 96:863–868. DOI 10.1007/s00114-009-0540-y
12. Dupont J., Jacquet C., Denetière B., Lacoste S., Bousta F., Oriol G., Cruaud C., Couloux A., Roquebert M.F. Invasion of the French Paleolithic painted cave of Lascaux by members of the *Fusarium solani* species complex // *Mycologia*. 2007. 99. P. :526-533.
13. Jurado V., Porca E., Cuezva S., Fernandez-Cortes A., Sanchez-Moral S., Saiz-Jimenez C. Fungal outbreak in a show cave // *Science of the Total Environment*. 2010. 408. P. 3632-3638.
14. Martin-Sanchez P.M., Novakova A., Bastian F., Alabouvette C., Saiz-Jimenez C. Two new species of the genus *Ochroconis*, *O. lascauxensis* and *O. anomala* isolated from black stains in Lascaux Cave, France // *Fungal Biology*. 2012. doi:10.1016/j.funbio.2012.02.006
15. Michie N.A. The threat to caves of the human dust source // In: *Proceedings of the 12th International Congress of Speleology*. International Union of Speleology / Swiss Speleological Society. 1997. 5. P. 43-46.
16. Nováková A. Microscopic fungi isolated from the Domica Cave system (Slovak Karst National Park, Slovakia). A review // *International Journal of Speleology*. 2009. 38 (1). P. 71-82.
17. Raper K.B., Fennell D.I. *The genus Aspergillus*. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1965. 686 p.
18. Rutherford J.M., Huang. L.H. Study of fungi of remote sediments in West Virginia caves and comparison with reported species in the literature // *NSS Bulletin*. 1994. V. 56. № 1. P. 38-45.
19. Watanabe T. *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. 2nd ed. CRC PRESS. 2002. p. 506.