



DOI 10.35694/YARCX.2020.49.1.006

ОППОРТУНИСТИЧЕСКИЕ ПОЧВООБИТАЮЩИЕ МИКРОМИЦЕТЫ ПРИ МОНИТОРИНГОВОМ АНАЛИЗЕ АГРОЦЕНОЗОВ

Л.В. Воронин

д.б.н., доцент, доцент кафедры биологии
и методики обучения биологии

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический
университет им. К.Д. Ушинского», г. Ярославль

И.Я. Колесникова (фото)

к.б.н., доцент, доцент кафедры экологии

ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА, г. Ярославль

*Мониторинг,
оппортунистические
почвообитающие
микробиоты,
микотоксины,
микотоксикозы,
агроценозы*

*Monitoring, opportunistic
soil-inhabiting
micromycetes, mycotoxins,
mycotoxicoses, agroecosystems*

Изучение группы оппортунистических (потенциально патогенных) грибов – активно развиваемое направление микологических исследований в последние десятилетия [1], [2]. Проблема «fungi of medical interest» интенсивно разрабатывается в медицинской микологии. Медики называют грибы, способные вызывать заболевания человека, потенциально патогенными.

Среди почвенных грибов многие виды представляют серьезную угрозу для здоровья человека. У людей с пониженным иммунным статусом потенциально патогенные виды могут вызывать микозы [3], доказано также значение микогенной сенсибилизации в патогенезе аллергических заболеваний [4]. Серьезную проблему представляют также микотоксикозы, связанные с накоплением грибных токсинов в растениеводческой продукции [5].

Наиболее подвержены микозам люди, страдающие различными формами дефицита иммунитета (онкологическими и заболеваниями системы крови, СПИДом; получившие радиационное облучение, ожоги). У здоровых людей подавляющее большинство потенциально опасных микробиот, попав в организм, не находит подходящих для себя условий, не выдерживает защитных реакций организма и, как результат, инфекция не развивается [6].

Есть статистические данные зарубежных исследователей, что ВИЧ является этиологическим фактором СПИДа, основная смертность и заболеваемость у пациентов со СПИДом связана с оппортунистическими инфекциями: около 80% таких пациентов умирает от них, а не от ВИЧ. В роли возбудителей оппортунистической инфекции в данном случае выступает широкий спектр микроорганизмов, в том числе

грибов, способных проявлять свои патогенные свойства на фоне нарушения механизмов иммунореактивности [7].

Кожные грибковые заболевания (на ногтях, коже ног), которым подвержена значительная часть населения, хорошо изучены. Для борьбы с этими инфекциями уже найдены достаточно эффективные методы.

Более сложная проблема – «глубокие» микозы, то есть поражения грибами внутренних органов. Среди грибов имеется небольшая группа видов, которые являются специализированными, первичными патогенами и могут вызывать заболевания у относительно здоровых людей. Эти патогенные грибы встречаются преимущественно в регионах с тёплым тропическим климатом [6].

Опасность оппортунистических микозов с течением времени оценивается всё выше. Сейчас известно примерно 350 видов оппортунистических мицелиальных грибов и дрожжей, способных вызывать микозы человека [7]. Кроме того, вторичные микозы не всегда просто диагностировать, их лечение сложно и дорого, а лекарственная терапия даёт много побочных эффектов для уже больных людей [6].

Возбудители заболеваний попадают в организм человека различными путями: в результате заноса инфекции в раны или через повреждённый кожный покров, в случае вдыхания спор (конидий) грибов или их метаболитов, при употреблении в пищу продуктов, поражённых различными видами токсинообразующих микромицетов [8].

Под влиянием антропогенных факторов в почве и сопряжённых с ней средах может происходить накопление опасных для человека (потенциально патогенных, аллергенных, микотоксичных) видов микроскопических грибов [9]. Изучение этой группы микромицетов и явилось целью настоящей работы.

Материал и методика исследований

Представлены результаты исследований, проведённых в 2011–2018 гг. в полевом стационарном опыте, заложенном на опытном поле ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА (д. Бекренево Ярославского района), по изучению различных систем обработки почвы (отвальная, поверхностно-отвальная) и систем удобрений (без удобрений, солома + NPK, органо-минеральный субстрат). Полевой опыт непосредственно располагается на выровненном участке, имеющем небольшой

уклон в одностороннем направлении. Почва опытного участка дерново-подзолистая слабogleеватая среднесуглинистая на карбонатной морене. Она сформировалась в условиях временного избыточного увлажнения. В 2014–2015 гг. дополнительно исследовали почву зоны перелеска, заросшей грунтовой дороги и леса по краю поля, которые представляют собой естественно сформировавшиеся берёзово-осиновые ассоциации с крушиной в подлеске и злаково-разнотравным травяным покровом.

Почвенные образцы отбирались по слоям с глубины 0–10 см и 10–20 см. Грибы изолировали из почвы методом почвенных разведений Ваксмана, посев почвенной суспензии производили на питательную среду Чапека. Анализ включал в себя учёт колоний грибов на твёрдой питательной среде и их выделение в чистые культуры. Для этого засеянные водно-почвенной суспензией чашки Петри периодически просматривали, окончательный учёт проводили через 7–10 суток. Дополнительно чашки просматривали на 14 день для выделения медленно растущих видов.

Грибы определяли на временных препаратах по типу «раздавленной капли». Для оценки значимости видов использовали показатели частоты встречаемости и численности.

Результаты исследований

Многие из выявленных нами почвообитающих грибов как в естественных сообществах, так и в окультуренной почве, являются потенциально-патогенными видами.

Для их оценки за рубежом используют рекомендации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) по выделению уровней биологической безопасности – Biosafety Level (BSL).

В России классификация уровней биологической безопасности проводится по рекомендациям, разработанным для микроорганизмов учреждениями Министерства здравоохранения и Роспотребнадзора Российской Федерации.

Мы систематизировали данные и выделили наиболее опасные для человека грибы, которые встречались в нашем исследовании (по классификации санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08).

III группа (BSL-2). Грибы этой группы могут попадать в организм здорового человека и сохраняться в нём, вызывая локализованные микозы. В ослабленном организме они могут распространяться более широко и проявлять свойства

оппортунистов [8]. Кроме того, они хорошо себя чувствуют и в окружающей среде [6].

Из этой группы выявлены только анаморфные грибы из отдела Ascomycota:

Aspergillus niger Tiegh. – как редко встречающийся, в 2011 году численность его составила от 0,47 до 1,49 тыс. КОЕ на 1 г сухой почвы;

Aspergillus flavus Link – в 2012 году как единственный в слое 10–20 см в неудобренной почве при отвальной обработке, численность в данном варианте 0,15 тыс. КОЕ/г;

Aspergillus fumigatus Fres. обнаруживался два года подряд: в 2013 и 2014 годы как единственный в нижнем слое в удобренной почве при отвальной обработке, в 2014 году – как редко встречающийся вид в удобренной почве при поверхностно-отвальной обработке. Численность его составила в разных вариантах от 0,15 до 1,96 тыс. КОЕ/г.

В 2017–2018 гг. микромицеты рода *Aspergillus* часто встречались во всех вариантах опыта.

Acremonium kiliense Grütz – встретился единично в 2015 году в нижнем слое при поверхностно-отвальной обработке, без удобрений, с численностью 0,16 тыс. КОЕ.

Fusarium solani (Mart.) App. et Wr. был единственным оппортунистическим видом в нижнем слое лесной почвы, численность составила 0,29 тыс. КОЕ/г.

IV группа (BSL-1). Эти грибы практически безопасны для здоровых людей. В организм человека они могут попадать при нарушении кожных покровов и вызывать локализованные микозы. Глубокие микозы они могут вызывать на фоне иммунодефицита [10].

Из этой группы наряду с представителями отдела Ascomycota нами обнаружены так называемые низшие грибы из отдела Zygomycota:

Mucor hiemalis Wehmer – два года подряд (2011 и 2012 гг.) с численностью от 0,15 до 1,49 тыс. КОЕ/г.

Mucor spp. встречались редко или единично только в 2015 году, численность составила от 0,16 до 2,96 тыс. КОЕ/г. В этом же году *Mucor* spp. обнаружен в варианте почвы из заросшей грунтовой дороги в нижнем слое с численностью 1,60 тыс. КОЕ/г.

Rhizopus stolonifer (Ehrenb.) Vuill. в исследованиях 2014 года явился доминирующим видом с частотой встречаемости в различных вариантах от 66,7 до 100%. Численность данного вида по разным вариантам составила от 6,39 до 45,29 тыс. КОЕ/г. Он же проявил себя в качестве содоминанта во всех вариантах опыта в 2018 году.

Из этой же IV группы обнаружено большое количество видов анаморфных грибов отдела Ascomycota:

Penicillium spp. выявлены во все годы исследования, с частотой встречаемости от 0 до 100% в различных вариантах, численность составила по опытному полю от 0,59 до 15,82 тыс. КОЕ/г, в почве естественных сообществ вокруг поля – от 0,29 до 0,95 тыс. КОЕ/г.

Acremonium strictum W. Gams – единственный вид, обнаруженный в слое 10–20 см только в варианте почвы из перелеска в 2015 году, численность составила 0,67 тыс. КОЕ/г.

Alternaria alternata (Fr.) Keissl. – в 2013 и 2014 годах встречалась единично в вариантах без удобрения в верхнем слое с численностью от 0,19 до 0,30 тыс. КОЕ/г., в 2017 году – практически на всех вариантах с большей частотой встречаемости.

Aureobasidium pullulans (dB.) Arnaud отмечен как единственный вид в неудобренной почве, с численностью 0,16 тыс. КОЕ/г.

Fusarium spp. встречались редко в 2012 году только в удобренной почве, единично – в 2013 году только в контроле, почти во всех вариантах – в 2015 году и с умеренной частотой встречаемости – в 2017–2018 гг. Численность составила от 0,14 до 3,70 тыс. КОЕ/г. В перелеске и на заросшей дороге фузариум встретился как единственный с численностью от 0,31 до 3,44 тыс. КОЕ/г.

Phialophora spp. обнаружены как редко встречающиеся при внесении соломы 3т/га + NPK с отвальной обработкой, с численностью 0,30 тыс. КОЕ/г.

Phoma herbarum West. – единственный в 2012 году в неудобренной почве при поверхностно-отвальной обработке в слое 10–20 см, в 2013 году обнаружен в верхнем слое в контроле единично и редко – в верхнем слое поверхностно-отвальной обработки с удобрениями. Численность составила по различным вариантам от 0,15 до 0,47 тыс. КОЕ/г.

Trichoderma koningii Oud. встретился единично только в 2013 и 2018 годы, численность составила 0,60 тыс. КОЕ/г.

Trichoderma spp. единично встречались в 2012 и 2013 годы, в 2015 году – редко в верхнем слое в контроле и единично – в верхнем слое в варианте с поверхностно-отвальной обработкой почвы и внесением соломы с полной нормой минеральных удобрений, как единичные экземпляры в этом же году в почвах из перелеска и леса. Численность составила 0,29 до 0,62 тыс. КОЕ/г.

Из дрожжей были обнаружены единично только базидиомицетные виды *Cryptococcus* spp. в варианте с поверхностно-отвальной системой обработки без удобрений (численность 0,14 тыс. КОЕ/г) и отвальной обработкой с внесением удобрений (численность 0,15 тыс. КОЕ/г).

Cladosporium herbarum (Pers.) Link редко встречался (25%) в 2012–2013 годы и значительно чаще (50–83,3% на некоторых вариантах) в 2018 году, численность данного вида составляла от 0,30 до 0,56 тыс. КОЕ/г.

Выводы

Полученные результаты не выявили общих закономерностей распространения оппортунистических грибов в исследованной почве. Однако можно отметить, что в целом большинство из них не имеют широкого распространения по частоте встречаемости и массовости. Исключением являются виды р. *Aspergillus*. Как аллерген-

ные, в первую очередь, рассматриваются виды тёмноокрашенных родов *Alternaria* (*A. alternata*), *Cladosporium* (*C. herbarum*), а также рода *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*).

Широкое применение при выращивании сельскохозяйственных культур вновь синтезированных пестицидов ведёт к появлению новых рас грибов, устойчивых к ним, с более высокой токсичностью.

Кроме того, по мнению ряда авторов, в настоящее время увеличилась распространённость сапротрофных видов грибов, способных продуцировать микотоксины и вызывать микотоксикозы и оппортунистические микозы.

В связи с этим необходим постоянный мониторинг фитосанитарной ситуации в посевах сельскохозяйственных культур, тщательный микологический и микотоксикологический контроль сельскохозяйственной продукции, совершенствование видовой диагностики грибов [11], [12].

Литература

1. Марфенина, О.Е. Микробиологические аспекты охраны почв [Текст] / О.Е. Марфенина. – М.: МГУ, 1991. – 120 с.
2. Воронин, Л.В. Оппортунистические грибы в пресноводных экосистемах [Текст] / Л.В. Воронин // Ярославский педагогический вестник. Естественные науки. – 2013. – Т. 3. – № 2. – С. 67–74.
3. Озерская, С.М. Микроскопические грибы в связи с проблемами биологической безопасности [Текст] / С.М. Озерская, Н.Е. Иванушкина, Г.А. Кочкина // Проблемы медицинской микологии. – 2011. – Т. 13. – № 3. – С. 3–12.
4. Марфенина, О.Е. Распространение потенциально патогенных микромицетов в окружающей среде [Текст] / О.Е. Марфенина // Проблемы медицинской микологии. – 2002. – Т. 2. – № 2. – С. 36–37.
5. Елинов, Н.П. Токсигенные грибы в патологии человека [Текст] / Н.П. Елинов // Проблемы медицинской микологии. – 2002. – Т. 4. – № 4. – С. 3–7.
6. Марфенина, О.Е. Многоликая плесень [Текст] / О.Е. Марфенина, А.Е. Иванова // Наука и жизнь. – 2009. – № 10. – С. 17–24.
7. Jorge, O. Opportunistic and other infections in HIV-infected children in Latin America compared to similar cohort in the United States [Text] / O. Jorge, L. Alarcon, H. Freimanis et al. // AIDS Research and human retroviruses. – Mary Ann Liebert, Inc. – 2012. – 28 (3). – P. 1226–1233.
8. СП 1.3.2322-08 Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/902091086>.
9. Марфенина, О. Е. Антропогенные изменения комплексов микроскопических грибов в почвах [Текст]: автореф. дисс. ... доктора биологических наук: 03.00.27, 03.00.24. / О.Е. Марфенина. – М., 1999. – 49 с.
10. Марфенина, О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов [Текст] / О.Е. Марфенина. – М.: Медицина для всех, 2005. – 195 с.
11. Левитин, М.М. Фитопатогенные грибы и болезни человека [Текст] / М.М. Левитин // Защита и карантин растений. – 2009. – № 9. – С. 24–25.
12. Колесникова, И.Я. Использование комплексов почвенных микромицетов в качестве параметра биомониторинга сельскохозяйственных земель [Текст] / И.Я. Колесникова // Достижения науки агропромышленному комплексу: межд. межвуз. науч.-практ. конф.: сб. науч. тр. – Самара: РИЦ СГСХА, 2014. – С. 106–110.

References

1. Marfenina, O.E. Mikrobiologicheskie aspekty ohrany pochv [Tekst] / O.E. Marfenina. – M.: MGU, 1991. – 120 s.
2. Voronin, L.V. Opportunisticheskie griby v presnovodnyh jekosistemah [Tekst] / L.V. Voronin // Jaroslavskij pedagogicheskij vestnik. Estestvennye nauki. – 2013. – T. 3. – № 2. – S. 67–74.
3. Ozerskaya, S.M. Mikroskopicheskie griby v svjazi s problemami biologicheskoy bezopasnosti [Tekst] / S.M. Ozerskaya, N.E. Ivanushkina, G.A. Kochkina // Problemy medicinskoj mikologii. – 2011. – T. 13. – № 3. – S. 3–12.
4. Marfenina, O.E. Rasprostranenie potencial'no patogennyh mikromicetov v okruzhajushhej srede [Tekst] / O.E. Marfenina // Problemy medicinskoj mikologii. – 2002. – T. 2. – № 2. – S. 36–37.
5. Elinov, N.P. Toksigennye griby v patologii cheloveka [Tekst] / N.P. Elinov // Problemy medicinskoj mikologii. – 2002. – T. 4. – № 4. – S. 3–7.
6. Marfenina, O.E. Mnogolikaja plesen' [Tekst] / O.E. Marfenina, A.E. Ivanova // Nauka i zhizn'. – 2009. – № 10. – S. 17–24.
7. Jorge, O. Opportunistic and other infections in HIV-infected children in Latin America compared to similar cohort in the United States [Text] / O. Jorge, L. Alarcon, H. Freimanis et al. // AIDS Research and human retroviruses. – Mary Ann Liebert, Inc. – 2012. – 28 (3). – P. 1226–1233.
8. SP 1.3.2322-08 Bezopasnost' raboty s mikroorganizmami III-IV grupp patogenosti (opasnosti) i vzbuditeljami parazitarnyh boleznej [Elektronnyj resurs]. – Rezhim dostupa: <http://docs.cntd.ru/document/902091086>.
9. Marfenina, O. E. Antropogennye izmenenija kompleksov mikroskopicheskikh gribov v pochvah [Tekst]: avtoref. diss. ... doktora biologicheskikh nauk: 03.00.27, 03.00.24. / O.E. Marfenina. – M., 1999. – 49 s.
10. Marfenina, O.E. Antropogennaja jekologija pochvennyh gribov [Tekst] / O.E. Marfenina. – M.: Medicina dlja vseh, 2005. – 195 s.
11. Levitin, M.M. Fitopatogennye griby i bolezni cheloveka [Tekst] / M.M. Levitin // Zashhita i karantin rastenij. – 2009. – № 9. – S. 24–25.
12. Kolesnikova, I.Ya. Ispol'zovanie kompleksov pochvennyh mikromicetov v kachestve parametra biomonitoringa sel'skohozjajstvennyh zemel' [Tekst] / I.Ya. Kolesnikova // Dostizhenija nauki agropromyshlennomu kompleksu: mezhd. mezhvuz. nauch.-prakt. konf.: sb. nauch. tr. – Samara: RIC SGSHA, 2014. – S. 106–110.