

## Грибы в биомониторинге наземных экосистем

© 2009. А.А. Широких<sup>1</sup>, д.б.н., с.н.с., А.В. Колупаев<sup>2</sup>, аспирант,<sup>1</sup>ГУ НИИСХ Северо-Востока,<sup>2</sup>Вятский государственный гуманитарный университет,

e-mail: irgenal@mail.ru

Обзор посвящён анализу данных о биоиндикационном потенциале грибов в наземных экосистемах. Проявление на различных уровнях организации микобиоты биоиндикационных признаков позволяет использовать грибы в системе мониторинга природных сред и объектов.

The review describes fungi bioindication potential in above-ground ecosystems. Different bioindication parameters appear at different organization levels of mycobiota, thus fungi can be used in environmental ecological monitoring.

Ключевые слова: экосистемы, биомониторинг, базидиомицеты, комплекс микромицетов

Сообщества грибов являются одной из главной составляющей экосистем нашей планеты. Грибы осуществляют широкий спектр биосферных функций, важнейшей из которых является разложение органического вещества [1, 2]. Грибам в экосистемах отводится особый экогоризонт и роль посредников между живым и косным веществом в биосфере [3]. Они контролируют широкий спектр экосистемных функций – первичную и вторичную продуктивность, регенерацию биофильных элементов путём разложения растительных и животных остатков и перевода элементов из геологического в биологический круговорот [4, 5]. Столь важная роль этих организмов в экосистемах сформировалась в процессе совместной эволюции растений и грибов как двух неотъемлемых компонентов любой экосистемы – автотрофов и гетеротрофов. Вегетативные структуры грибов (мицелий и хламидоспоры) постоянно обнаруживаются в самых ранних ископаемых остатках древних биогеоценозов. Поэтому можно считать доказанным, что во все геологические эпохи грибы в качестве симбиотрофов и паразитов оказывали влияние на развитие, рост и распространение организмов, а в качестве сапротрофов участвовали в разложении их органических остатков [6].

Грибы могут размножаться, спорулировать и поддерживать свою численность в аэробных и анаэробных условиях во всех средах современной биосферы [7]. По способности осваивать экологические ниши и своей экологической пластичности грибы не

имеют себе равных среди живых организмов [8]. И тем не менее изменения, происходящие в настоящее время в биосфере в результате активной антропогенной деятельности, оказывают всё большее влияние на среду обитания грибных организмов [9 – 11]. Процессы, сопровождающие антропогенную трансформацию грибных сообществ, могут привести к разрушению регуляторных механизмов и сбалансированности биосинтеза и деструкции органических веществ в экосистемах. Поэтому проблема оценки биоиндикационной значимости микологических показателей в биогеоценозах представляется актуальной для биомониторинга загрязнённых территорий. Опыт исследования изменчивости грибов в условиях техногенной нагрузки разного уровня и качества даёт представление о широких возможностях их использования в оценке качества природных сред [12].

Биоиндикационная эффективность микромицетов разных эколого-трофических групп в одних и тех же условиях может быть неодинаковой. Например, в популяциях фитопатогенных почвообитающих грибов (факультативных биотрофов) реакции на изменения окружающей среды отчётливее проявляются по морфологическим критериям, в то время как у фитопатогенов, более тесно связанных с растениями (облигатных биотрофов), экологическая информативность морфолого-культуральных признаков ниже, чем физиолого-биохимических маркеров [11]. Поэтому в систему биотических параметров грибных сообществ для оценки техногенных

воздействий целесообразно включать комплекс микологических показателей, состоящих из общих и структурных индексов (численность, биомасса и длина мицелия, индексы видового разнообразия, морфобиологическая структура биомассы, морфо-культуральные типы колоний, изоферментные маркеры и др.). При выборе критериев характеристики микобиоты предпочтение следует отдавать признакам, наименее варьирующим в одинаковых условиях.

В настоящее время выполнено много работ и накоплен большой фактический материал, позволяющий судить о степени реагирования микро- и макромицетов на изменения условий окружающей среды [11, 13 – 20]. Однако биоиндикационная значимость и экологическая информативность синэкологических показателей грибов всё ещё остаются малоисследованными.

### Биоиндикационное значение высших базидиальных грибов

Все грибы подразделяют на две формальные группы – микромицеты и макромицеты. Микромицеты – это большая группа микроскопических грибов, не образующих крупных плодовых тел, как у макромицетов. По морфометрическим параметрам мицелия и конидий эти группы грибов сопоставимы. Некоторые виды макромицетов, так же, как и микромицеты, хорошо культивируются на обычных питательных средах, применяемых в лабораторной практике для выращивания грибов. Если биоиндикационная ценность микромицетов в грибных сообществах не вызывает сомнений, то в отношении макромицетов мнения экологов расходятся. Дело в том, что культуру мицелия макромицетов в лабораторных условиях можно получить только методом тканевых культур, используя для этого плодовые тела или споры грибов. Мицелий макромицетов нельзя выделить в культуру непосредственно из образцов природных субстратов (почва, растения, вода). Поэтому некоторые исследователи считают, что эфемерность и нерегулярная продукция плодовых тел макромицетов затрудняют биоиндикационные исследования [21]. Однако накопление некоторых химических элементов плодами телами в концентрациях, значительно более высоких, чем в окружающей среде, является особенностью биологии базидиальных макромицетов [22], и поэтому было бы неразумно не использовать их в качестве

организмов-биоиндикаторов на техногенных территориях. Выявлен ряд интересных особенностей накопления токсикантов в зависимости от трофических свойств высших грибов [23]. Например, *Laccaria amethystina* накапливает мышьяк в концентрациях от 100 до 200 мг/кг сухой массы [24], а уровень накопления серебра и ртути в *Agaricus bisporus* составляет 165 и 75 мг/кг сухой массы плодовых тел [25].

Тяжёлые металлы могут накапливаться (более, чем в 100 раз) не только в плодовых телах грибов, но и в ризоморфах, что было показано для видов рода *Armillariella* [26]. Причём металлы накапливаются преимущественно на поверхности мицелия. Предполагается, что формирование такой содержащей металлы «оболочки» ризоморф способствует их сохранению и длительности существования.

Исследования концентрации ряда тяжёлых металлов показали, что максимальное накопление загрязняющих веществ было характерно для сапротрофов, промежуточное – для паразитирующих и микоризных видов и минимальное – для ксилотрофных грибов. Различие в концентрации металлов у грибов отмечалось и в других работах [14, 27 – 30]. Установлено, что в целом уровень накопления, например Pb, Cd, Zn, Hg, в грибах на индустриальных территориях выше, чем обнаруживаемый для сельских мест. Физиологические особенности аккумуляции металлов плодами телами базидиомицетов до сих пор не совсем ясны, но, тем не менее, это свойство грибов может иметь очень важное экотоксикологическое значение.

В отношении видовой структуры сообщества микромицетов было показано, что на территориях, подверженных антропогенному влиянию, преобладают виды, имеющие широкую экологическую валентность и распространённость по Земному шару [31]. Под влиянием атмосферного загрязнения в лесных биогеоценозах некоторых районов Центральной Европы наблюдалось уменьшение числа плодовых тел микоризных грибов с одновременным увеличением количества плодовых тел ксилотрофных грибов и степени поражения деревьев паразитическими грибами [29]. Таким образом, не только химический состав плодовых тел, но и видовая структура сообщества макромицетов также имеет существенное биоиндикационное значение для биомониторинга техногенных территорий.

Методология экологических исследований макромицетов базируется на геоботанических и фитоценологических принципах.

Мицелиальные культуры некоторых видов базидиомицетов, способных культивироваться *in vitro*, можно использовать в качестве тестовых организмов при лабораторном исследовании образцов различных сред техногенных территорий. Однако в целом методические приёмы изучения экологии высших грибов хорошо разработаны для анализа влияния на сообщество природных, а не антропогенных факторов и существенно отличаются от анализа микромицетов [4].

### Популяционный подход в оценке экосистем по реакции комплекса микромицетов

При исследовании микромицетов основным способом получения информации о присутствии видов в биоценозах служат микробиологические посевы на питательные среды, последующее выделение колоний и работа с чистыми культурами. Для оценки техногенных факторов используются те же количественные и качественные показатели, что и при анализе природной изменчивости сообществ микромицетов. К таким показателям относят: общую численность микромицетов, содержание отдельных группировок (в том числе, патогенных и оппортунистических видов), биомассу и изменение её морфобиологической структуры, скорость роста грибных колоний, видовое разнообразие и изменение состава, пространственную и видовую динамику сообществ микромицетов. Приёмы учёта и выделения микромицетов, используемые для анализа почв, как одного из самых сложных местообитаний в биогеоценозах могут применяться и при анализе других субстратов. Оценка биоиндикационной ценности различных параметров грибных сообществ приводится в монографии В.А. Тереховой (2007).

Экологические описания, разработанные для микроорганизмов, базируются на терминах и понятиях, которые не всегда можно использовать для грибов. Основные из этих понятий – особь, популяция, сообщество [32]. Бактерии и животные – организмы унитарные, т. е. особи физически дискретны и относительно функционально независимы. Для модульных организмов, к которым относятся грибы, дискретны споры, но трудно выделить индивидуальный мицелий, дискретными же могут быть и отдельные колонии [33]. В то же время грибную колонию можно рассматривать как совокупность составляющих её гифальных модулей, которые с одной стороны могут функционировать независимо,

а с другой – быть системно интегрированными [34]. Это создаёт определённые трудности при учёте количества микромицетов в почвах.

Если рассматривать сообщество как совокупность совместно обитающих организмов разных видов, представляющих собой определённое экологическое единство, то для почвенных грибов доказательство свойства выраженного функционального единства пока проблематично. В этом отношении применение термина «комплекс почвенных грибов» более корректно, так как, с одной стороны, он показывает их рассмотрение как совокупности, а с другой, подчёркивает отсутствие доказательств их функциональных отношений.

Изменение грибных сообществ (комплексов) во времени рассматривают как сукцессию грибов [1]. Перестройки состава и структуры грибных комплексов происходят в процессе деградации растительных остатков, сезонных изменений температуры и влажности, изменения физико-химических свойств среды обитания, при выедании грибного мицелия беспозвоночными животными. В конечном счёте, состав и представленность комплекса грибов в биоценозах зависят от пространственной и временной вариабельности этих факторов и их сочетаний. В экосистемах, подвергающихся антропогенному воздействию, ведущую роль при развитии грибных сукцессий могут играть антропогенные факторы [10].

Экологи давно проявляют большой интерес к видовому разнообразию, т. е. определению числа видов в сообществе, поскольку существует определённая связь между видовым богатством и абиотическими условиями существования конкретных сообществ. Видовое разнообразие сообществ обычно описывается на основании *видового богатства*, которое характеризуется общим числом выделенных видов и выравненностью, основанной на обилии или другом показателе значимости вида [1]. В почвах обитает большое разнообразие грибов, отличающихся циклами развития, физиологическими потребностями, биотическими связями, систематическим положением [35 – 37]. Для почвенных грибов *видовое богатство* определяется как общее или среднее число выделенных видов, *обилие* – как общее число штаммов данного вида к общему числу штаммов всех видов. Как показатель значимости используют также *относительную численность* – число изолятов данного вида на единицу массы почвы, *встречаемость* – число образцов, где вид обнаружен, к общему числу исследованных образцов [36, 38 – 40].

### Биоиндикационная роль комплексов микромицетов в оценке урбанизированных территорий

Результаты исследования городских почв (урбаноэмов) показывают, что в них формируются функционально разнообразные грибные сообщества, отличные от ненарушенных почв даже городского лесопарка (не говоря уже об естественных почвах загородных территорий) по присутствию, видовому составу, структуре и обилию грибов разных эколого-трофических групп [20, 41]. В городских почвах отмечена деградация природного комплекса почвенных целлюлозолитических грибов – одной из основных функциональных групп в лесных биогеоценозах. Деградация комплекса целлюлозолитических микромицетов выражалась в снижении численности и изменении видового состава. В то же время было отмечено увеличение численности и изменение видового состава в комплексах пептонолитических и кератинолитических грибов. В комплексе пептонолитических микромицетов произошло значительное увеличение представителей родов *Fusarium*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, а в комплексе кератинолитических микромицетов в большом количестве обнаруживались виды с выраженными кератинолитическими свойствами: *Artroderma uncinatum*, *Chrysosporium tropicum* и *F. oxysporum*. Авторами также был подтверждён феномен увеличения присутствия потенциально патогенных видов микромицетов в почвах города по сравнению с дерново-подзолистыми почвами загородных территорий. Потенциально патогенные (оппортунистические) микромицеты могут быть причиной так называемых «вторичных» микозов, которые могут развиваться у людей, уже имеющих определённое заболевание. Наиболее подвержены вторичным микозам люди, страдающие различными формами иммунодефицита. Важнейшими факторами, которые определяют возможность развития заболевания людей (микозов, аллергий, микотоксикозов) при контакте с мицелиальными грибами, могут быть содержащиеся в клеточных стенках грибов (1,3)-D-глюканы, гидрофобины, меланины, а также летучие органические соединения, продуцируемые грибами [42].

Одним из следствий увеличения присутствия оппортунистических грибов в городской среде является рост заболеваемости микозами различной этиологии домашних животных – собак и кошек [43, 44]. Распространению по-

добных заболеваний среди животных способствует целый ряд факторов: выгул животных на загрязнённых городских территориях, бесконтрольное применение антибиотиков в ветеринарной практике, увлечение населения породами животных с изначальной дисфункцией иммунной системы в результате селекции породы. Одной из причин возрастания частоты этих патологий является и то, что животные выгуливаются в 30-50 см слое приземного воздуха, наиболее насыщенного спорами оппортунистических грибов [45].

На основании полученных результатов сделано заключение, что повышенное накопление в городской среде различных органических веществ создаёт благоприятные условия для развития ряда функциональных групп грибов и аккумуляции в значительном количестве потенциально патогенных видов [40]. Таким образом, в городских экосистемах происходят изменения состава и структуры почвенной микобиоты, направленные на деградацию природных трофических группировок и стимуляцию группировок, развивающихся на органических загрязнителях. Эти исследования являются хорошей иллюстрацией использования видовой структуры комплексов микромицетов и их трофических группировок для биомониторинга антропогенно нарушенных территорий.

В городской среде отмечено увеличение присутствия тёмноокрашенных видов микромицетов, имеющих в клеточной стенке тёмные пигменты – меланины [46]. При этом среди них значительную часть составляют виды, известные как потенциально патогенные и аллергенные – представители родов *Alternaria*, *Cladosporium*, *Ulocladium* и др. Аккумуляция таких тёмноокрашенных видов в наибольшей степени (по числу выделяемых видов и по их общему обилию) прослеживается в придорожных зонах [47]. Увеличение присутствия тёмноокрашенных видов микромицетов вдоль автомагистралей наблюдалось в разные сезоны года и в разных средах обитания – в почве, воздухе, снеговом покрове. Доля тёмноокрашенных грибов на листьях придорожных деревьев, трав и в почве была тем больше, чем выше уровень автотранспортной нагрузки. При учёте тёмноокрашенного мицелия в световом микроскопе следует иметь в виду, что многие поллютанты увеличивают проницаемость клеточной стенки грибов [48]. В цитоплазму клеток могут проникать окрашенные вещества из почвенного раствора, например, гумусовые соединения. Поэтому



при учёте тёмноокрашенного мицелия на техногенных территориях микроскопическими методами необходимо параллельно учитывать синтезирующие меланиновые пигменты грибы методом посева с последующей идентификацией выросших колоний.

Особую группу веществ, особенно опасных для биосферы, представляют соединения, синтезируемые целенаправленно для подавления живых организмов. К их числу относятся боевые отравляющие вещества [49]. При попадании в почву отравляющих веществ, например, иприта, происходит их деструкция, в основном за счёт химических и микробиологических процессов. Однако полной детоксикации иприта и хлорсодержащих продуктов его гидролиза в природных условиях не наблюдается [50]. Загрязнение почв ипритом и продуктами его гидролиза приводит к экологическим изменениям, выражающимся в снижении показателей сходства и видового разнообразия микробиоценоза, увеличении показателей доминирования. Изучение микробной сукцессии в таких почвах показало, что наибольшую чувствительность к продуктам гидролиза иприта проявляют микроскопические грибы [51]. Действие продуктов гидролиза иприта на микромицеты выражалось не только на уровне структурной перестройки их комплекса, но и на их морфолого-культуральных и физиолого-биохимических признаках. В лабораторных условиях на культурах аспергиллов и пенициллов было показано, что продукты гидролиза иприта в первую очередь действуют на цитоплазматическую мембрану и липидный обмен в клетках. Возникающие при этом нарушения структуры и функций мембран приводят к различным изменениям в процессах жизнедеятельности грибов или к их гибели [48].

#### Токсинообразующие микромицеты в окружающей среде

Одним из направлений исследования негативных последствий антропогенных изменений экосистем может являться определение присутствия в различных средах токсинообразующих грибов. Было показано, что многие почвенные микромицеты, в первую очередь представители родов *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus* и ряда тёмноокрашенных грибов, являются продуцентами разнообразных фитотоксинов [36]. Установлена возможность образования фитотоксинов непосредственно

в почве. Фитотоксины обнаруживались в почвах после обогащения грибами-продуцентами, особенно после добавления в почву различных органических субстратов, что способствовало росту фитотоксичных грибов. Таким образом, сами фитотоксичные грибы могут являться загрязнителями биогеоценозов.

Условия развития в почвах микроскопических грибов, продуцирующих вторичные метаболиты, токсичные для человека и животных, исследованы пока в меньшей степени. В настоящее время большое внимание уделяется исследованию токсинов грибов рода *Aspergillus*, особенно *A. flavus*, а также токсинообразующих грибов рода *Fusarium* [52 – 54]. Одним из наиболее опасных для человека считают афлатоксины [55]. Афлатоксинам присущи такие эффекты на макроорганизм, как мутагенность, канцерогенность, тератогенность, гепатотоксичность [56]. Первоначально возможность продуцирования афлатоксинов была показана для вида *A. flavus*, но сейчас доказано, что продуцировать эти токсины могут представители других видов рода *Aspergillus*: *A. parasiticus*, *A. glaucus*, *A. niger*, *A. fumigatus* или даже рода *Penicillium* – *P. citrinum*, *P. digitatum* и др. [57, 58]. Из других микромицетов токсиногенностью обладают виды из родов *Alternaria*, *Cladosporium*, *Helminthosporium*, *Paecilomyces*, *Sporodesmium* и др. [59].

Грибы рода *Aspergillus*, в том числе известные как важные токсинообразователи, – типичные почвенные обитатели. В нарушенных природных экосистемах они распространены преимущественно в условиях тёплого влажного климата в южных широтах. В природных условиях северных и умеренных широт России в почве и других местообитаниях обилие и разнообразие грибов рода *Aspergillus* обычно невелико. Однако антропогенное изменение природных экосистем приводит к изменению грибных сообществ, в результате которого нарушаются и закономерности природного распределения микроскопических грибов. Поэтому в городских почвах и почвах пригородных рекреационных территорий наблюдается увеличение обилия видов рода *Aspergillus* [10]. Микотоксины способствуют выживанию продуцирующих их видов грибов при неблагоприятных условиях в конкуренции с другими видами микроорганизмов, поэтому присутствие токсинообразующих микромицетов в антропогенно нарушенных биогеоценозах является биоиндикационным параметром.

### Методологические подходы в исследованиях грибных сообществ

Самые современные методы микологических анализов до сих пор не позволяют оценить всю совокупность микромицетов в наземных экосистемах и определить функциональные отношения между ними. Пока при микологических анализах может быть идентифицирована только часть от всех грибных популяций [60]. Видовая идентификация микромицетов, входящих в состав сообществ, преимущественно возможна только при их изоляции из природных местообитаний и дальнейшем выращивании на питательных средах. При использовании метода посева происходит одновременный подсчёт как активного мицелия, так и спор грибов, находящихся в состоянии покоя. Используя метод посева, можно идентифицировать то, что нельзя увидеть (*in situ*), в то время как прямыми методами наблюдения можно увидеть то, что нельзя идентифицировать [61].

Все методы изоляции микромицетов можно разделить на прямые (перенос отдельных спор или мицелия на питательную среду) и непрямые методы (посев почвенных суспензий). При использовании прямых методов микромицеты можно выделять с любых субстратов непосредственно или после предварительной инкубации в условиях влажности в течение нескольких недель. Мицелий и споры грибов могут быть перенесены стерильными иглками под контролем микроскопа на питательную среду.

Из непрямых методов можно выделить три основных: 1) метод разведений почвенной суспензии с последующим поверхностным или глубинным посевом в агаризованную питательную среду; 2) метод отмывки почвенных частиц; 3) метод Уоркапа – выделение микромицетов из почвенных комочков [62, 63]. В методе разведений на стерильной воде готовят серии разведений почвенной суспензии, определённое количество которой (например, 0,1-0,2 мл) равномерно распределяют по поверхности плотной питательной среды. При глубинном посеве определённый объём питательной среды, охлаждённой до 40-45 °С, смешивают с определённым объёмом конкретного разведения в чашке Петри и инкубируют. Метод разведений обычно используют для подсчёта колониеобразующих единиц (КОЕ) в образце.

При использовании метода отмывки почвенных частиц споры частично удаляются и с большой вероятностью выделяются грибы,

присутствующие в почвах в виде мицелия, а также редкие и медленно растущие виды [64, 65]. Однако этот метод более трудоёмок, требует специального технического оснащения, а также большого количества питательной среды. Его рекомендуют для описания грибных сообществ лесных подстилок [66].

При использовании метода Уоркапа очень небольшое количество почвенных частиц (5-15 мг), без предварительного суспензирования в воде, распределяют в расплавленной питательной среде в чашке Петри. Простота этой техники делает её подходящей для сравнения большого числа образцов.

Для изоляции микромицетов из почв в питательные среды добавляют антибиотики: хлорамфеникол, пенициллин, стрептомицин, или подкисляют среды для того, чтобы сделать их селективными для грибов и подавить рост бактерий. Стандартные среды (сусло-агар, картофельно-декстрозный агар, среда Чапека, среда Гетчинсона) с антибиотиками используются для выделения разнообразных комплексов грибов и первичного разделения их на таксономические группы. Показано, что наиболее «универсальной» средой является среда Чапека, на которой выделяются виды микромицетов, аналогичные изолируемым на других стандартных средах, но их первичная идентификация на среде Чапека намного проще [67].

Видовое разнообразие отдельных трофических групп почвенных микромицетов может быть выявлено при внесении в питательные среды различных субстратных приманок, например, целлюлозы, крахмала, хитина, кератина [62, 63, 68]. Метод изоляции даёт представление, но не в состоянии описать полный состав грибов в почве. Метод является только шагом в понимании роли микромицетов в природных экосистемах. Списки выявляемых видов не говорят нам о количестве мицелия, его метаболической активности, реальном обилии различных видов, их форме и распределении внутри местообитаний. Тем не менее метод изоляции можно успешно использовать для биоиндикации экосистем, испытывающих техногенное влияние. Структурная перестройка комплекса (переход редко встречающихся видов в разряд доминантов), которую можно выявить с помощью метода посева, свидетельствует о сукцессионных процессах в биогеоценозе, нередко вызванных антропогенным воздействием.

Другим аспектом применения метода посева для биомониторинга является мор-

фолого-культуральная характеристика изолированных колоний микромицетов [69, 70, 71]. Морфофизиологические изменения окраски колоний под влиянием техногенных факторов, время и количество созревания спор на единицу её площади, радиальная скорость роста колонии – все эти показатели легко вычисляются в лабораторных условиях и весьма информативны для целей биомониторинга. Например, изменение окраски колоний под влиянием тяжёлых металлов отмечалось у многих видов микромицетов – *Trichoderma lignorum*, *Penicillium tardum*, *Trichothecium roseum*, *Gliocladium roseum* [72, 73]. Под воздействием цинка и меди интенсивность образования спор в пикнидах *Phoma* значительно снижается [70]. При воздействии на мицелий *Fusarium oxysporum* кадмия наблюдается стимуляция образования микроконидий при одновременном подавлении образования хламидоспор [71]. В наших исследованиях почв Кильмезского ядомогильника отмечено снижение радиальной скорости роста колоний *Trichoderma viride* на участках, загрязнённых пестицидами [74].

Таким образом, метод посева может успешно применяться для биомониторинга различных сред техногенно нарушенных биогеоценозов.

Одним из наиболее простых и удачных для изучения и количественного учёта микромицетов в естественных и техногенно нарушенных биогеоценозах является люминесцентно-микроскопический метод. Суть метода заключается в наблюдении с помощью люминесцентного микроскопа окрашенных флуоресцирующими красителями препаратов суспензий (например, почвенных) не в проходящем, а в падающем свете [75 – 77]. Метод позволяет отдельно учесть биомассу, количество спор и мицелия в почве и других субстратах и особенно хорошо подходит для изучения морфобиологической структуры комплексов микромицетов [78 – 80].

При использовании метода люминесцентной микроскопии почвенную суспензию после предварительной подготовки (взбалтывание на качалке, магнитной мешалке, ультразвуковом диспергаторе и т. д.) наносят на предметное стекло и равномерно распределяют на площади 4 см<sup>2</sup>. Препарат высушивают на воздухе при комнатной температуре и окрашивают калькофлуором белым (0,001%). Препарат просматривают на люминесцентном микроскопе с использованием светофильтров ФС-1-2, ЖЗС-19, ЖС-18. Учёт количества

спор и общую длину мицелия измеряют в нескольких полях зрения (обычно 50). Общую грибную биомассу определяют расчётным способом [79].

Установлено, что в городских почвах в отличие от природных условий микромицеты часто не формируют мицелий, а сохраняются в виде спор. Таким образом, относительное содержание грибных спор в почвах города увеличено [47]. Поэтому соотношение биомассы спор и мицелия микромицетов в почвах, установленное люминесцентно-микроскопическим методом, является неплохим индикатором для антропогенно нарушенных биоценозов.

В таксономии грибов широко используются морфологические признаки (морфология конидий, мицелия и т. д.). Поэтому большинство грибов можно идентифицировать только в том случае, если у них имеются спороношения. В природе грибы значительную часть своего жизненного цикла находят преимущественно в виде мицелия. Из различных местообитаний в антропогенно нарушенных биогеоценозах очень часто изолируются грибы, не образующие споровых структур на питательных средах, применяемых в лабораторной практике. Вероятно, это связано с тем фактом, что тяжёлые металлы и органические поллютанты, присутствующие в антропогенных экосистемах, существенно снижают интенсивность спорообразования некоторых видов микромицетов. В этом случае невозможно идентифицировать изолированные виды микромицетов традиционными методами. Поэтому выявление и идентификация грибов в их вегетативной фазе – одна из основных проблем в экологии грибов. Эта ситуация до недавнего времени являлась серьёзным препятствием для прогресса в микологии. Однако современные методы молекулярной биологии дают определённую возможность идентифицировать виды грибов в отсутствии спороношений.

Современные ДНК-технологии позволяют проводить прямое изучение генома организмов. Существуют основные различия в границах, в которых различные части генома меняются в процессе эволюции. Некоторые части генов настолько консервативны, что их сиквенсы могут быть идентифицированы для отдельных царств, в то время как существуют и участки, различающиеся на уровне индивидуальностей. Следовательно, исследуя соответствующие участки генома, будет возможно различать желаемые таксономические единицы [2].

Используя методы молекулярной биологии можно выявлять биоиндикационные виды микромицетов без их изоляции на питательных средах [81]. В перспективе для описания грибного разнообразия предполагаются комбинированные подходы с использованием как морфологических описаний изолятов, так и методов молекулярной биологии [65].

### Заключение

Всесторонний анализ окружающей среды предусматривает оценку её экологического состояния и влияние на неё естественных и антропогенных воздействий. Состояние экосистемы, непрерывно меняющееся под влиянием естественных факторов, обычно возвращается в первоначальное. Как правило, крупные экосистемы под влиянием природных процессов изменяются чрезвычайно медленно. Под влиянием антропогенных факторов, в том числе и загрязнения окружающей среды различными поллютантами, состояние экосистем изменяется в более короткие сроки. Поэтому оценка и прогноз антропогенных изменений экосистем и ответной реакции биоты на эти изменения является важной задачей биомониторинга.

Точная и своевременная оценка загрязнения окружающей среды представляет собой серьёзную научно-практическую проблему. Одним из важнейших путей её решения является практика биоиндикации, основанная на оценке антропогенной нагрузки по реакции на неё живых организмов и их сообществ. Важное преимущество биоиндикации – её способность отслеживать пролонгированные эффекты воздействия человека на окружающую среду, в то время как инструментальные методы оценивают лишь содержание различных поллютантов в текущий момент.

Макро- и микромицеты обладают высоким биоиндикационным потенциалом, выявленным на физиолого-биохимическом, морфологическом и популяционном уровнях. Используя различные биоиндикационные признаки, грибы можно успешно использовать в биотестировании токсичных сред и объектов. Проявление биоиндикационных признаков грибов на разных уровнях организации микобиоты предоставляет широкий выбор соответствующих методов, наиболее полно отвечающих целям биоиндикации конкретных экосистем. Наряду с другими организмами-биоиндикаторами состояния окружающей среды, биомониторинг с использованием грибов способствует обеспечению экологи-

ческого контроля и представляет ценность в отношении прогнозирования развития экологической ситуации техногенно нарушенных экосистем.

### Литература

1. Одум Ю. Экология. М.: Мир, 1986. Т. 2. 328 с.
2. Carlile M.J., Watkinson S.C., Gooday G.W. The Fungi. 2nd ed. San Diego; San Francisco; New York; Boston: Acad. press, 2001. 588 p.
3. Каратыгин И.В. Грибные организмы и их роль в эволюции экосистем // Ботанический журнал. 1994. Т. 79. № 2. С. 13-20.
4. Мухин В.А., Веселкин Д.В., Брындина Е.В. и др. Основные закономерности современного этапа эволюции микобиоты лесных экосистем // Грибные сообщества лесных экосистем / Под ред. В.Г. Стороженко и др. М.: Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН, 2000. С. 26-36.
5. Burford E.P., Hiller S., Gadd G.M. Rock and mould: Transformation of carbonate minerals by fungi // Ibid. 2002. P. 328.
6. Каратыгин И.В. Происхождение и эволюция грибов // Микология сегодня / Под ред. Ю.Т. Дьякова, Ю.В. Сергеева. М.: Национальная академия микологии, 2007. С. 10-29.
7. Griffith G.W., Ozkose E., Davis D.R., Theodorou M.K. Molecular ecology of anaerobic fungi: (Anaerobic fungi-do we know them all?) // The 7<sup>th</sup> Intern. Mycol. Congr.: Abstracts. Oslo. 2002. P. 123.
8. Бондарцева М.А. Эколого-биологические закономерности функционирования ксилотрофных базидиомицетов в лесных экосистемах // Грибные сообщества лесных экосистем / Под ред. В.Г. Стороженко и др. М.: Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН, 2000. С. 9-25.
9. Dighton J. Fungi in ecosystem processes. Marcel Decser Inc. 2003.
10. Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов. М.: Медицина для всех, 2005. 196 с.
11. Терехова В.А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. М.: Наука, 2007. 215 с.
12. Терехова В.А. Информативность параметров микобиоты в экологическом нормировании загрязнений наземных экосистем // Современная микология в России: Тез. докл. I съезда микологов России. М.: Нац. акад. микологии, 2002. С. 83-84.
13. Gobl A., Mutsh F. Schwermetallbelastung von Waldern in der Umgebungeines Huttewerkes in Brixlegg, Tirol. I. Untersuchung der Mykorrhiza and Humusaufgabe // Zbl. Gesamte Forstwiss. 1985. Bd. 102. № 1. S. 28-40.
14. Tyler G. Macrofungi of Swedish beech forest / Dep. of Plant Ecol. Univ. of Lund. Lund, 1991. 119 p.
15. Евдокимова Г.А. Эколого-микробиологические основы охраны почв Крайнего Севера. Апатиты: Кольский филиал АН СССР, 1995. 272 с.



16. Кирцидели И.Ю., Воробьев Н.И., Терешкова О.М. Сообщества микромицетов из почв подзоны типичных тундр в районе северного побережья Таймырского озера // Микология и фитопатология. 1996. Т. 30. № 2. С. 9-13.
17. Марфенина О.Е. Антропогенные изменения комплексов микроскопических грибов в почвах: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М. 1999. 49 с.
18. Ананьева Н.Д. Микробиологические аспекты самоочищения и устойчивости почв. М.: Наука, 2003. 223 с.
19. Киреева Н.А., Бакаева М.Д., Галимзянова Н.Ф. Влияние нефтепродуктов на комплекс почвенных микромицетов // Микология и фитопатология. 2004. Т. 38. № 1. С. 27-33.
20. Иванова А.Е., Суханова И.С., Марфенина О.Е. Функциональное разнообразие микроскопических грибов в городских почвах разного возраста формирования // Микология и фитопатология. 2008. Т. 42. № 5. С. 450-460.
21. Черненькова Т.В. Реакция лесной растительности на промышленное загрязнение. М.: Наука, 2002. 191 с.
22. Горленко М.В. Грибы как источник пищевых белков // Микология и фитопатология. 1983. Т. 17. № 3. С. 117-181.
23. Lepsova A., Mejstrik V. Accumulation of trace elements in the fruiting bodies of macrofungi in the Krusne Hory Mountains, Czechoslovakia // Sci. Total Environ. 1988. V. 76. № 2/3. P. 117-118.
24. Byrne A.R., Tusek-Znidaric M., Puri B.K., Irgolic K.J. Studies of the uptake and binding of the trace metals in fungi, part II: arsenic compounds in *Laccaria amethystina* // Organometal. Chem. 1991. V. 5. P. 25-32.
25. Byrne A.R., Tusek-Znidaric M. Studies of the uptake and binding of the trace metals in fungi, part I: accumulation and characterization of mercury and silver in the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus* // Appl. Organometal. Chem. 1990. V. 4. P. 43-48.
26. Rizzo D.M., Blanchette R.A., Palmer M.A. Biosorption of metal ions by *Armillaria rhizomorpha* // Can. J. Bot. 1992. V. 70. P. 1515-1520.
27. Lodenius M., Herranen H. Influence of chlor-alkali plant on the mercury contents of fungi // Chemosphere. 1981. V. 10. № 3. P. 313-318.
28. Liukkonen-Lilja H., Kuusi T., Laaksovirva K., Lodenius M., Piepponen S. The effect of lead processing works on the lead, cadmium and mercury contents of fungi // Z. Lebensumw. Unters. Forsch. 1983. № 176. P. 120-123.
29. Fellner R. Air pollution and mycorrhizal fungi in Central Europe // Fungi of Europe: investigation, recording and conservation / Ed. by: D.N. Pegler, L. Boddy, B. Ing, P.M. Kirk. Royal Botanical Gardens. 1993. P. 239-250.
30. Иванов А.И., Костычев А.А. Характер накопления некоторых металлов и мышьяка в базидиомах грибов порядка *Boletales* // Микология и фитопатология. 2007. Т. 41. № 6. С. 500-505.
31. Афанасьев А.А., Мелькумов Г.М., Кубанкина С.С. Макромицеты урбанизированных биотопов Воронежской области // Современная микология в России: Тез. докл. II съезда микологов России. М.: Нац. акад. микологии, 2008. С. 49-50.
32. Бигон М., Харпер Дж., Таунсенд К. Экология. Особи, популяции и сообщества. М.: Мир, 1989. Т. 1. 667 с., Т. 2. 477 с.
33. Rayner A.D.M. Introduction. In the fungal community: its organization and role in ecosystem / Ed. by: G.C. Carroll, D.T. Wicklow. Marcel Dekker, New York, 1992. P. 17-24.
34. Andrews J.H. Fungi and the evolution of growth-form // Can. J. Bot. 1995. V. 73. Sp. 1. P. 1206-1212.
35. Томилин Б.А. Изучение грибов как компонентов биогеоценозов // Микология и фитопатология. 1977. Т. 11. № 1. С. 78-81.
36. Мирчинк Т.Г. Почвенная микология. М.: Изд-во МГУ, 1988. 220 с.
37. Великанов Л.Л. Роль грибов в формировании мико- и микробиоты почв естественных и нарушенных биоценозов и агросистем: Дис. ... д-ра биол. наук. М. 1997. 547с.
38. Zak J.C. Response of soil fungal communities to disturbance // The Fungal Community. / Ed. by: G.C. Carroll, D.T. Wicklow. N.Y. Basel.: Marcel Dekker, 1991. P. 403-425.
39. Dighton J. Analysis of micromycete communities in soil: a critique of methods // Mycol. Res. 1994. V. 98. № 7. P. 796-798.
40. Miller S.L. Functional diversity in fungi // Can. J. Bot. 1995. V. 73. P. 50-57.
41. Иванова А.Е., Марфенина О.Е., Суханова И.С., Макарова Н.В. Микроскопические грибы в почвах, приземных слоях воздуха и снеговом покрове города Москвы // Современная микология в России: Тез. докл. II съезда микологов России. М.: Нац. акад. микологии, 2008. С. 98-99.
42. McGinnis M.R. Pathogenesis of indoor fungal disease // Medical Mycology. 2004. V. 42. P. 107-118.
43. Овчинников Р.С., Маноян М.Г., Макарова Е.Ю., Гайнулина А.Г., Панин А.Н. Оппортунистические микозы животных // Успехи медицинской микологии: Мат. 5-го всерос. конгр. М.: Нац. акад. микологии, 2007. Т. IX. С. 320-323.
44. Широких А.А., Огородников А.Н. Потенциально патогенные микромицеты при дерматомикозах домашних животных // Успехи медицинской микологии: Мат. 5-го всерос. конгр. М.: Нац. акад. микологии, 2007. Т. IX. С. 330-332.
45. Марфенина О.Е., Фомичева Г.М. Потенциально патогенные мицелиальные грибы в среде обитания

- человека. Современные тенденции // Микология сегодня / Под ред. Ю.Т. Дьякова и Ю.В. Сергеева. М.: Нац. акад. микологии, 2007. С. 235-266.
46. Кулько А.Б. Комплексы микроскопических грибов городских почв: Автореф. дис. ... канд. биол. Наук. М.: МГУ, 2000. 24 с.
47. Кулько А.Б., Марфенина О.Е. Распространение микроскопических грибов в придорожных зонах городских автомагистралей // Микробиология. 2001. Т. 70. № 5. С. 709-713.
48. Кузикова Л.И., Медведева Н.Г., Сухаревич В.И., Орлова О.Г., Рыбальченко О.В. Влияние продуктов гидролиза иприта на микромицеты // Микология и фитопатология. 2007. Т. 41. № 3. С. 252-260.
49. Александров В.Н., Емельянов В.И. Отравляющие вещества. М.: Военное изд-во, 1990. 271 с.
50. Харченко А.Т., Мягих В.И., Остроумов Ю.И. и др. Применение микроорганизмов для деструкции опасных веществ, загрязняющих окружающую среду // Российский хим. журн. 1993. Т. 37. № 3. С. 40-43.
51. Медведева Н.Г., Поляк Ю.М., Зиновьева С.В., Зайцева Т.Б. Влияние иприта и продуктов его гидролиза на почвенную микробиоту // Почвоведение. 2000. № 8. С. 1023-1028.
52. Саркисов А.Х. Микотоксикозы человека и животных (эпидемиология, этиология, патогенез) // Сб. Оценка загрязнения пищевых продуктов микотоксинами. М.: Центр междунар. проектов ГКНТ, 1985. С. 105-118.
53. Тутьян В.А., Кравченко Л.В., Сергеев А.Ю. Микотоксины // Микология сегодня / Под ред. Ю.Т. Дьякова, Ю.В. Сергеева. М.: Нац. акад. микологии, 2007. С. 283-304.
54. Садыкова В.Н., Танасева С.А., Шангараев Н.Г. Мониторинг афлатоксинов в кормах республики Татарстан // Современная микология в России: Тез. докл. II съезда микологов России. М.: Нац. акад. микологии, 2008. С. 263-264.
55. Кравченко Л.В. Микотоксины как природные контаминанты пищевых продуктов и кормов // Оценка загрязнения пищевых продуктов микотоксинами. М.: Центр междунар. проектов ГКНТ, 1985. Т. 2. С. 7-28.
56. Трemasов Ю.М., Ахметов Ф.Г., Сергейчев А.И., Иванов А.В. О нарушении воспроизводительной функции животных при микотоксикозах // Совр. микология в России: Тез. докл. II съезда микологов России. М.: Нац. акад. микологии, 2008. С. 266-267.
57. Хмельницкая И.И., Винокурова Н.Г., Баскунов Б.П., Аринбасаров М.У. Вторичные метаболиты грибов рода *Aspergillus*, выделенных из почв различных регионов России // Современная микология в России: Тез. докл. I съезда микологов России. М.: Нац. акад. микологии, 2002. С. 264.
58. Рухляда В.В., Андрийчук А.В. *Aspergillus niger* – продуцент охратоксина на кормах Украины // Совр. микология в России: Тез. докл. II съезда микологов России. М.: Нац. акад. микологии, 2008. С. 261-262.
59. Елинов Н.П. Токсигенные грибы в патологии человека // Проблемы медицинской микологии. 2002. Т. 4. № 1. С. 31-38.
60. Hawksworth D.L. Presidential address 1990. The fungal dimesioin of biodiversity: magnitude, significance and conservation // Mycol. Res. 1991. V. 95. P. 641-655.
61. Garrett S.D. Biology of root-infecting fungi. Cambridge: University Press, 1956. 292 p.
62. Методы экспериментальной микологии / Под ред. В.И. Билай. Киев: Наукова думка, 1973. 241 с.
63. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1991. 303 с.
64. Baath E. A critical examination of soil washing technique with special reference to the effect of the size of the soil particles // Canad. J. Bot. 1988. V. 66. P. 1566-1569.
65. Bills J.F. Analyses of microfungal diversity from a user's perspective // Canad. J. Bot. 1995. V. 73. P. 33-S41.
66. Bills J.F., Polishook J.D. Abundance and diversity of microfungi in leave litter of a lowland rain forest in Costa Rica // Mycologia. 1992. V. 86. P. 187-198.
67. Мирчинг Т.Г., Озерская С.М., Марфенина О.Е. Способы выявления типичных для определённых условий комплексов микроскопических грибов на основе характеристики их структуры // Биологические науки. 1982. № 11. С. 61-66.
68. Гузев В.С. Экологическая оценка антропогенных воздействий на микробную систему почв: Автореф. дис. ... док. биол. наук. М. 1988. 38 с.
69. Марфенина О.Е. Особенности жизненных циклов микроскопических грибов в почвах при антропогенном воздействии // Антропогенная экология микромицетов. Киев. 1990. С. 12-13.
70. Терехова В.А., Швед Л.Г. Изменчивость морфобиохимических признаков водных грибов под воздействием тяжёлых металлов // Экология. 1994. № 6. С. 77-79.
71. Григорьев А.М. Особенности развития микроскопических грибов под клевером при загрязнении почв: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М. 2003. 22 с.
72. Упитис В.В., Пакалне Д.С. Медь в культурах микроорганизмов // Биологическая роль меди. М. 1970. С. 46-52.
73. Скворцова И.Н., Якушкина Е.В. Устойчивость к кадмию и накопление его почвенными грибами // Микроорганизмы как компоненты биогеоценоза. Алма-Ата. 1982. С. 69.
74. Колупаев А.В., Ашихмина Т.Я., Широких И.Г. Реакция почвенных микромицетов на пестицидное загрязнение // ИММУНОПАТОЛОГИЯ аллергология инфектология. 2009. № 2. С. 50-51.

75. Звягинцев Д.Г., Дмитриев Е.А., Кожевин П.А. О люминесцентно-микроскопическом изучении почвенных микроорганизмов // Микробиология. 1978. Т. 47. № 6. С. 1091-1096.
76. Кожевин П.А. Микробные популяции в природе. М.: Изд-во МГУ, 1989. 173 с.
77. Trolldenier G. The use of fluorescent microscopy for counting soil microorganisms // Bull. Ecol. Res. Comm. 1973. V. 17. P. 53-59.
78. Мирчинк Т.Г., Паников Н.С. Современные подходы к оценке биомассы и продуктивности грибов и бактерий в почве // Усп. микробиологии. 1985. Вып. 20. С. 198-226.
79. Полянская Л.М. Прямой микроскопический подсчёт спор и мицелия грибов в почве // Изучение грибов в биогеоценозах: Тез. конф. Свердловск. 1988. С. 30.
80. Полянская Л.М., Звягинцев Д.Г. Содержание и структура микробной биомассы как показатели экологического состояния почв // Почвоведение. 2005. № 6. С. 706-714.
81. Экология микроорганизмов / Под. ред. А.И. Нетрусова. М.: Академия, 2004. 272 с.

Российская академия наук  
Уральское отделение  
Коми научный центр  
Институт биологии  
Научный совет по изучению, охране  
и рациональному использованию животного мира  
Министерство природных ресурсов и охраны  
окружающей среды Республики Коми  
Русское энтомологическое общество  
Русское гидробиологическое общество

Всероссийская конференция с международным участием  
«ПРОБЛЕМЫ ИЗУЧЕНИЯ И ОХРАНЫ ЖИВОТНОГО МИРА НА СЕВЕРЕ»

16 – 20 ноября 2009 г.  
Сыктывкар, Республика Коми, Россия

Уважаемые коллеги!

Работа конференции будет проходить в форме пленарных и секционных заседаний и стендовых сессий. На конференции будут рассмотрены проблемы изучения позвоночных, а также почвенных, наземных и водных беспозвоночных на Севере.

Основные направления работы конференции:

- Фауна, систематика и зоогеография
- Внутривидовое разнообразие
- Структура и динамика сообществ и популяций
- Влияние естественных и антропогенных факторов на фауну и население животных
- Адаптации животных к условиям Севера
- Охрана и рациональное использование животного мира

Контакты:

167982, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28.

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН,

Алла Колесникова

Тел.: 8 (8212) 43-19-69

Факс: 8 (8212) 24-01-63

E-mail: animals@ib.komisc.ru

Сайт: [http://ib.komisc.ru/add/conf/animals\\_2009](http://ib.komisc.ru/add/conf/animals_2009)