

УДК 62.004.8: 632.15: 632.035.258:616.24-002-07

О НЕКОТОРЫХ ОСОБЕННОСТЯХ ГРИБОВ РОДА *PENICILLIUM*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МНОГОЛЕТНИХ ОТХОДОВ ЗОЛОТОДОБЫЧИ

В.М. Катола

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт геологии и природопользования ДВО РАН, г. Благовещенск

*Выделенные из многолетних отходов золотодобычи *Penicillium canescens*, *P. chrysogenum* и *P. citreo-viride* изначально обогащены Au, Ag, Cu, Ni, Co, Cr, Zn, Pb, Cd, реже Rb, Sr и Cs. Уровень микроэлементов в десятки и сотни раз увеличивается при культивировании штаммов в присутствии образцов из отходов. В опытах *in vitro* показано, что *Penicillium* способны дополнительно накапливать элементы как в мицелии, так и на поверхности конидий в виде органо-минерального адсорбата. Это происходит и непосредственно в отходах золотодобычи. Предполагается, что избыток тяжелых металлов является одной из причин агрессивности грибов. Сенсибилизация грибами и металлами может учащать рост профессиональной аллергической патологии у золотодобытчиков.*

Ключевые слова: *отходы золотодобычи, загрязнение окружающей среды, микромицеты, микроэлементы.*

Some features of fungi genus *penicillium*, isolated from long-term gold mining wastes

V.M. Katola

Federal State Institution of Science Institute of Geology and Nature Management FEB RAS, Blagoveshchensk

**Penicillium canescens*, *Penicillium chrysogenum*, and *Penicillium citreo-viride* which were initially enriched with Au, Ag, Cu, Ni, Co, Cr, Zn, Pb, Cd, less frequently with Rb, Sr and Cs, have been isolated from long-term gold mining wastes. The level of trace elements increased tens and hundreds of times by culturing the strains in the presence of waste samples. *In vitro* experiments showed that *Penicillium* was capable to accumulate elements in the mycelium as well as on the surface of conidia as organo-mineral adsorbate. This happens directly in gold mining wastes. It has been assumed that an excess of heavy metals is one of the causes of fungal aggressive. Sensitization to fungi and metals may increase the rate of occupational allergic diseases.*

Key words: *gold mining wastes, pollution, trace elements.*

Дальневосточный регион является одной из крупнейших минерально-сырьевых баз России, обладающей высоким ресурсным потенциалом золота. Но его добыча сопряжена с большими производственными, экономическими, экологическими и медико-биологическими проблемами. Так, по оценкам Е. А. Симонова [2] отработка только россыпного месторождения золота на огромных площадях уничтожает пойменные комплексы, леса, болота, луга, превращает реки в мутные и токсичные потоки на многие километры. В процессе золотодобычи и после ее окончания на земной поверхности скапливаются миллионы кубометров техногенных аномалий - отходов (отвалов). Различаясь генезисом, структурой, геохимическим составом, технологией извлечения драгметалла, содержанием мелкого и пылевого золота, не извлеченного из руд, хвостов и россыпей они становятся источником пылеобразования и эмиссии рудных элементов в депонирующие среды биосферы. По данным некоторых авторов [9] из-за отходов на сопредельных территориях население болеет чаще. Кроме того, в этих зонах отсутствуют дикие животные, в реках - рыба, очень слабо восстанавливается уничтоженная долинная растительность и пр. Несмотря на высокое содержание токсичных металлов (ртути, кадмия, цинка, свинца и др.) отходы золотодобычи являются местом существования и персистенции бактерий и грибов [3], которые извлекают и задерживают в клетках около 60 элементов [6]. Тем не менее, биологические свойства микроорганизмов таких отходов полностью не изучены. В частности, не совсем ясно, в каких количествах и в каких компонентах клетки плесневые микроскопические грибы накапливают рудные элементы, перемещают их в окружающую среду и тем самым воздействуют на здоровье горнорабочих. Хотя известно, что в структуре профессиональной заболеваемости на предприятиях по добыче твердых полезных ископаемых пневмокониоз встречается в 24,6% случаев, хронический пылевой бронхит - в 18,1%, хронический обструктивный бронхит - в 15,3%, антракоз - в 9,0%, прочая патология - в 33% [8]. В то же время сведений о заболеваемости золотодобытчиков, чей профессиональный рискотягается экстремальным

природно-климатическими, антропогенными и биотическими факторами, не имеется.

В настоящей работе представлены материалы изучения состава и концентрации микроэлементов у некоторых плесневых грибов, выделенных из горнорудных отходов: террикона бывшего Кировского рудника по добыче рудного золота (Амурская обл.), хвостов шлихообогатительной установки (ШОУ) Софийского золотоносного узла (Хабаровский край) и медно-никелевой пыли, собранной в сортировочном отделении плавильного цеха Надеждинского металлургического завода (город Норильск).

Материалы и методы

Из отходов золотодобычи и медно-никелевой пыли выделены и по культурально-морфологическим признакам идентифицированы плесневые грибы *Penicillium canescens* Sopp, *P. chrysogenum* Thom и *P. citreo-viride*. Всего исследовано 29 штаммов. Для накопления биомассы их конидии вносили в жидкую питательную среду Чапека (источники углерода - глюкоза, азота - NaNCO_3 , pH на старте 7,0). По истечению шести суток биомассу собирали, озольяли при 450°C и с помощью атомно-адсорбционного спектрофотометра модели 180-5 фирмы HITACHI (Япония) определяли относительный уровень Au, Ag, Cu, Ni, Co, Cr, Zn, Pb, Cd, Sb, Rb, Sr и Cs (мкг на 1 г сухой биомассы). Контролем служила концентрация микроэлементов у штамма *P. canescens*, выделенного из сырого погреба, и *P. chrysogenum*, выделенного из жидкости бронхолегочного лаважа (ЖБАЛ) больного хроническим бронхитом.

Результаты и обсуждение

Закономерность концентрации микроэлементов у различных штаммов *Penicillium* представлена в табл. 1. Из нее следует, что среднее суммарное содержание у штаммов *P. canescens*, выделенных из террикона, составляло 27, 2 мкг/г, у штаммов *P. canescens*, выделенных из медно-никелевой пыли - 46,42 мкг/г. По сравнению с ними изоляты из хвостов ШОУ были беднее элементами;

P. canescens концентрировал 10,33 мкг/г, *P. chrysogenum* - 12,45 мкг/г, а *P. citreo-viride* - 9,8 мкг/г. Отличительной чертой этих штаммов являлось отсутствие в доступных определению количествах Cd, Sb, Sr и Cs. Наоборот, штаммы из медно-никелевой пыли проявляли высокое сродство к Си, Ni и Sb, что обусловлено их адаптацией к химическим особенностям руд Норильского района. Самое низкое содержание микроэлементов определено у фенотипов, изолированных из сырого погреба и ЖБАЛ - 5,33 и 4,18 мкг/г соответственно. Таким образом, количество и состав микроэлементов у штаммов *Penicillium*, выделенных из различных источников, колеблется в широких пределах.

Таблица 1.

Содержание микроэлементов у представителей рода *Penicillium*, изолированных из различных источников (мкг/г сухой биомассы)

Вид <i>Penicillium</i>	Биотоп	Au	Ag	Cu	Ni	Co	Cr	Zn
<i>P. canescens</i>	А	2,4±0,6	0,4±0,15	1,3±0,4	3,9±0,4	1,3±0,3	2,3±0,7	1,7±0,4
<i>P. canescens</i>	Б	0,05±0,003	0,13±0,03	1,8±0,16	0,8±0,16	0,05	1,0±0,11	1,3±0,14
<i>P. chrysogenum</i>	Б	0,05±0,01	0,17±0,11	1,43±0,75	1,9±0,7	0,05	1,56±0,4	1,7±0,95
<i>P. citreoviride</i>	Б	0,2±0,14	0,06±0,02	1,2±0,7	0,9±0,41	0,05	0,7±0,18	1,2±0,2
<i>P. canescens</i>	В	1,5±0,2	0,02	8,75±1,55	5,4±1,3	3,5±0,5	2,4±0,3	3,3±0,2
<i>P. canescens</i>	Г	0,09±0,06	0,2±0,07	0,26±0,02	0,3	0,05	0,5±0,06	0,4±0,05
<i>P. chrysogenum</i>	Д	0,04±0,006	0,13±0,06	0,7±0,11	0,16±0,04	0,05	0,2±0,06	0,5±0,07

Примечание: А - террикон Кировского рудника; Б - хвосты шлихообогатительной установки; В - медно-никелевая пыль; Г - сырой погреб; Д - жидкость бронхолегочного лаважа

Вид <i>Penicillium</i>	Биотоп	Pb	Cd	Sb	Rb	Sr	Cs
<i>P. canescens</i>	А	3,6±0,8	0,7±0,16	2,7±0,14	3,3±0,3	2,7±0,5	0,9±0,14
<i>P. canescens</i>	Б	2,9±0,13	-	-	2,3±0,15	-	-
<i>P. chrysogenum</i>	Б	3,36±0,44	-	-	2,23±0,46	-	-
<i>P. citreoviride</i>	Б	2,93±0,06	-	-	2,56±0,43	-	-
<i>P. canescens</i>	В	3,75±0,25	0,3±0,2	8,9±1,15	4,2±0,1	4,0±1,9	0,4±0,1
<i>P. canescens</i>	Г	1,33±0,79	-	-	1,2±0,5	1,0±0,35	-
<i>P. chrysogenum</i>	Д	1,0±0,06	-	-	0,4±0,06	1,0±0,24	-

Примечание: А - террикон Кировского рудника; Б - хвосты шлихообогатительной установки; В - медно-никелевая пыль; Г - сырой погреб; Д - жидкость бронхолегочного лаважа.

Однако независимо от генетических и геохимических различий отходов золотодобычи все изоляты сближаются между собой по содержанию Cu (1,8- 1,3 мкг/г), Zn (1,7-1,3 мкг/г), РЬ (3,6-2,3 мкг/г) и Rb (3,3-2,3 мкг/г), тогда как в пределах одного вида *Penicillium* концентрация отдельных микроэлементов колеблется. Выделенные из хвостов ШОУ штаммы *P. canescens* накапливают Аи в 48 раз меньше, Ag - в 3 раза, Ni - в 5 раз и Со - в 34 раза, чем штаммы, отобранные из террикона Кировского рудника. При этом, намного уступали изолятам из медно- никелевой пыли по содержанию Си (в 4, 86 раз), Ni (в 6,75 раза), Со (в 70 раз), Сг (в 2,4 раза), Zn (в 2 раза). Отметим также, что штаммы из террикона, где концентрация ртути даже не превышала ПДК, отличались от штаммов из медно- никелевой пыли, в которой ртуть вообще отсутствует высоким содержанием Ag (в 20 раз), Cd (2,3 раза) и Cs (2,25 раз), но меньшим количеством Си (в 5, 15 раз), Со (в 2,7 раз) и Sb (2,8 раза). Результаты исследований показывают, что в каждом из обследованных объектов постоянно существуют популяции *Penicillium*, обогащенные Au, Ag, Си, Ni, Си, Cr, Zn, РЬ, Cd, Rb, реже Sr и Cs, Тем не менее, концентрация металлов в биомассе полностью не повторяет геохимический состав среды обитания.

Способность представителей рода *Penicillium* накапливать элементы сверх предела, необходимого для роста и развития, свидетельствует о наличии в мицелии некоторого «концентрационного» резерва для каждого элемента, что позволяет плесеням адаптироваться, обитать и адекватно реагировать на состав, многообразие строения и размеров химических элементов в токсичной среде. Как представляется, такими емкостными структурами, вкачивающими в клетку ионометаллы, являются хорошо известные внутренние полифункциональные клеточные мембранные системы - эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи и митохондрии, характеризующиеся сложным строением, составом и избирательной проницаемостью. Однако в случаях, когда емкость мембранного аппарата не позволяет дальнейшего концентрирования элементов, последние блокируются уже за пределами клетки. Например, если штамм *P. canescens*, который ранее был изолирован из хвостов ШОУ, культивировать в жидкой среде Чапека вместе с техногенными минеральными образцами в соотношении Т:Ж=1:5, то на 16-е сутки роста в биомассе накапливается еще больше элементов: Au - в 554 раза, Ag - в 676,6 раза, Си - в 158 раз, Ni - в 1112 раз, Со - в 242 раза, Сг - в 294 раза, Zn - в 172,3 раза и РЬ - в 45,5 раза [4]. Причина высокой концентрации металлов в отличие от исходных величин проявилась при исследовании мицелия в просвечивающем электронном микроскопе (ПЭМ). Оказывается, значительная часть ионов кристаллизуется, скапливается и размещается в межгифальных пространствах, биосорбируется на поверхности гиф (рис. 1) и конидий (рис. 3) в виде адсорбата, состоящего из минеральных элементов (новообразованных солей) и органических веществ (метаболитов и компонентов питательной среды). Параллельно визуализируются выраженные нарушения морфологической организации *P. canescens* - признаки дегенерации, истончения и деструкции гиф. Но хотя перенасыщенные тяжелыми металлами клетки гибнут, они в какой- то степени понижают концентрацию токсикантов, тем самым продлевают жизнестойкость гриба. Похожие события происходят также в естественных условиях, поскольку фрагменты мертвого мицелия и конидии, несущие на поверхности электронноплотные полиморфные частицы размером от нанометров до 10 мкм, регистрируются при сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) в препаратах- отпечатках, взятых из отходов ШОУ (рис. 2, 4). Сходство результатов модельных исследований с данными препаратов- отпечатков легко объясняется тем, что при достаточном притоке влаги и органического детрита в отходы золотодобычи плесневые грибы способны развиваться, функционировать, спорулировать, взаимодействовать с токсичной средой и формировать адсорбат. Не лишне отметить, что нагруженные адсорбатом гифы найдены также в домашней, библиотечной и угольной пыли, на запыленных приборах, оборудовании, скальных и рудных породах. Поэтому у обитающих в различных биотопах грибов органоинеральный адсорбат будет различаться генезисом, химическим составом, структурой, антигенными и аллергенными комплексами и пр.

Итак, штаммы *Penicillium*, выделенные из отходов переработки руд, наряду с широким спектром группо- и видоспецифических антигенов обогащены различными микроэлементами и заодно формируют на поверхности гиф и конидий органоинеральный адсорбат. Предположительно, такой комплексный химический набор способен значительно усиливать патогенный потенциал плесеней и вызывать у золотодобытчиков специфические и неспецифические профессиональные заболевания, преимущественно аллергическую патологию.

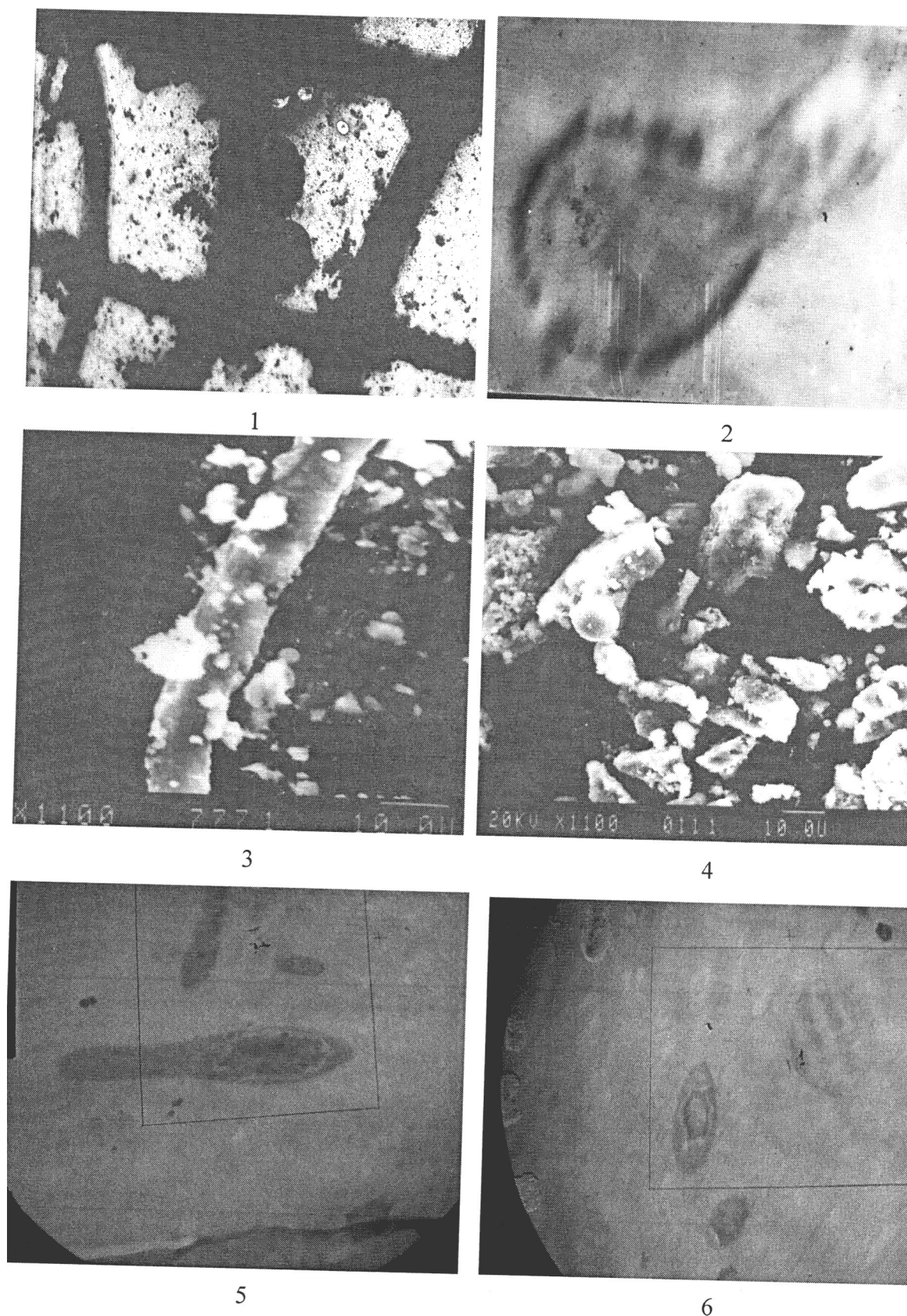


Рис. 1 - 6 . Электронная микроскопия: 1 - мелкие частицы в межгифальном пространстве *R. canescens* и органоминеральный адсорбат на поверхности гиф и конидий (ПЭМ, x3000); 2 - прорастающая конидия *R. canescens* с адсорбатом на поверхности (ПЭМ, ультрасрез x17000); 3 - фрагмент гифы не идентифицированных грибов с адсорбатом на поверхности (СЭМ, препарат-отпечаток из отходов золотодобычи, x1100); 4 - конидия с частицами на поверхности (СЭМ, препарат-отпечаток из отходов золотодобычи, x1100); 5-6 - конидии контрольных культур *Penicillium* (ПЭМ, ультрасрезы, x7000).

Достаточно сказать, что представители родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium* и другие содержат в конидиях (спорах) и мицелии 86 аллергенов и около 200-400 микотоксинов [1, 5, 7, 11, 12]. Поэтому вполне вероятно, что микогенная сенсibilизация работников рудников, шахт и вскрышных карьеров может ускорять развитие бронхиальной астмы, аллергических бронхолегочных микозов, аллергического альвеолита, аллергического ринита, экзогенного атопического дерматита, крапивницу и др. В переходе от нормальной к повышенной чувствительности к аллергенам и распространению этих и других видов аллергии большую роль играют дискомфортные климатогеографические условия, разрушения природных экосистем в местах подземной и открытой разработки месторождений, крайне неблагоприятная обстановка в рабочей зоне (сырость, токсичные пары, газы и взвеси, масла, повышенный уровень шума от вращающихся и перемещающихся приспособлений, техники, вибрация, травмы). Следует отметить негативное влияние нервно-психических перегрузок, межличностных отношений и т.д. Совместное воздействие всех этих факторов отрицательно сказывается на физиологической адаптации человека. При этом подавляется иммунобиологическая устойчивость в основном у тех горнорабочих, чей генотип, индивидуальная жизнь и здоровье сложились в совершенно иной среде. Кроме того, в процессе золотодобычи состояние здоровья работающих непременно ослабляется производственной пылью, которая в зависимости от характеристики частиц проявляет свои токсигенные, фиброгенные, канцерогенные, мутагенные и аллергенные свойства [8]. К тому же, в местах горных разработок производственная пыль в той или иной мере смешивается с не менее вредной пылью, поступающей во внешнюю среду при эрозии почв, лесных пожарах, с пылью деревьев, трав, со спорами грибов и бактерий и т.д. Избыточная концентрация таких постоянных компонентов пыли и природных водоемов как тяжелые металлы, их соли и комплексы так же оказывают негативное влияние на человека. Опасность тяжелых металлов заключается не только в том, что они прямо или косвенно поступают в организм, остаются там навсегда, нарушают метаболизм, иммунную систему, депонируются в органах, могут индуцировать хромосомные аберрации в соматических клетках и пр. Соединения Au, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pd, Pt, Se, Ti, V, Zn, Zr, W и других металлов обладают сенсibilизирующими и аллергизирующими свойствами [10].

Таким образом, грибы рода *Penicillium*, заселяющие отходы золотодобычи по насыщенности тяжелыми металлами и, возможно, агрессивности и другим биологическим признакам, отличаются от грибов, выросших на простых питательных средах или выделенных из мест обитаний, не загрязненных тяжелыми металлами. Это необходимо учитывать при научных исследованиях, связанных с плесневыми грибами, использовании плесневых микроскопических грибов, их систем или продуктов жизнедеятельности для решения различных технологических задач, проведении санитарно-гигиенических и медицинских мероприятий на предприятиях по добыче полезных ископаемых.

Выводы

1. Выделенные из многолетних отходов золотодобычи и медно-никелевой пыли грибы рода *Penicillium* (*P. canescens*, *P. chrysogenum* и *P. citreo-viride*) относительно обогащены рудными элементами - Au, Ag, Cu, Ni, Co, Cr, Zn, Pb, Cd, реже Rb, Sr и Cs, содержание которых в десятки и сотни раз увеличивается при культивировании этих же штаммов в жидкой среде Чапека в присутствии минеральных образцов, взятых из различных отходов.

2. В модельных опытах и непосредственно в отходах золотодобычи плесневые грибы активно экстрагируют из минерального субстрата рудные элементы, транспортируют их внутрь клетки, преобразуют и депонируют на поверхности гиф и конидиях, затем переносят их в окружающую среду, а из нее – в организм человека, вызывая определенную патологию.

3. Предполагается, что высокая концентрация микроэлементов внутри клетки вместе с органоминеральным адсорбатом на поверхности живых или погибших гиф и конидиях может усиливать патогенный потенциал плесневых грибов и совместно с факторами окружающей среды и рабочей зоны вызывать у золотодобытчиков и работников вскрышных карьеров, рудников и шахт преимущественно аллергические заболевания.

Литература

1. Аак О.В. Аллергены грибов. Особенности микогенной сенсibilизации (обзор) // Проблемы медицинской микологии. - 2005. - Т. 7, №2. - С. 12-16.
2. Золотые река. Выпуск 1. Амурский бассейн / Под ред. Е.А. Симонова. - Владивосток: издательство «Апельсин», 2012 г.
3. Катола В.М., Радомская В.И., Радомский С.М. Влияние ртути техногенных отвалов и рабочей зоны золотодобычи на биологические объекты // Сибирский экологический журнал. - 2006. - № 3. - С. 353-357

4. Катола В.М. Реакция *PENICILLIUM CANESCENS* на геотехногенную среду в простой закрытой системе // Всерос. научн. конф. «Проблемы геологии Европейской России». Саратов, 2013. - С. 164-169.
5. Клиническая иммунология и аллергология / Под ред. Л. Йегера. - М.: Медицина, 1990. - Т. 2. - 559 с.
6. Кузнецов А.Е., Градов Н.Б. Научные основы экобиотехнологии. - М.: Мир, 2006.
7. Марфенина О.Е., Иванова А. Е. Многоликая плесень // Наука и жизнь. – 2009. - № 10. - С. 16 - 24.
8. Профессиональная патология: национальное руководство / Под ред. Н.Ф. Измерова. - М.: ГЕОТАР- медицина, 2011.
9. Сидоров Ю.Ф., Крупская Л.Т., Поздняков А.М., Саксин Б.Г. Прогнозная экологическая оценка техногенного загрязнения ртутью экосистем районов золотодобычи ЮГА ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА. - Хабаровск, 2003.
10. Тихонов М.Н., Цыган В.Н. Общие механизмы токсичности металлов. - М., 2010.
11. Царев С. В. Роль микромицетов в аллергопатологии. Современные подходы к диагностике и терапии. Автореф. дис. д-ра мед. наук. - М., 2010. - 39 с.
12. Shen HD, Chou H, Tam M.F., Chang CY, Lai HY, Wang SR. Molecular and immunological characterization of Pen ch 18, the vacuolar serine protease major allergen of *Penicillium chrysogenum* // Allergy. - 2003. - Vol. 58, № 10. - P. 993-1002.

Сведения об авторе

Катола Виктор Моисеевич, канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник, Институт геологии и природопользования. E-mail: katola-amur@list.ru.