

На правах рукописи

В. Илюш

Илюшин Вадим Александрович

**БИОРАЗНООБРАЗИЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ УГОЛЬНЫХ ОТВАЛОВ**

1.5.18. Микология

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург
2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Ботаническом институте им. В.Л. Комарова Российской академии наук.

Научный руководитель

доктор биологических наук,
Кирцидели Ирина Юрьевна

Официальные оппоненты

Терехова Вера Александровна
доктор биологических наук,
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», профессор

Корнейкова Мария Владимировна
кандидат биологических наук,
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов»,
заместитель директора по научной работе аграрно-технологического института

Ведущая организация

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений»

Защита состоится «26» апреля 2023 г. в 14-00 часов на заседании совета 24.1.002.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук по адресу: 197022 Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2, тел. (812)372-54-06, факс (812)372-54-43, адрес электронной почты: dissovet.24100201@binran.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук, <https://www.binran.ru/dissertatsionnyye-sovety/dissovet-01/>

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета
кандидат биологических наук



Сизоненко Ольга Юрьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Сегодня проблемы промышленного загрязнения окружающей среды и изменения биоценозов становятся все более актуальными. В результате индустриализации природные экосистемы замещаются техногенными. Интенсивное воздействие на почвенный покров, вплоть до его уничтожения, наблюдается в районах добычи угля. Воздействие угледобывающих предприятий характеризуется распространением отвалов на значительные территории, оказывая негативные воздействия на среду обитания человека. Помимо того, что такие нарушенные территории выводятся из сельскохозяйственного оборота, они являются источником газопылевых выбросов.

Открытым остается вопрос естественного восстановления природных сообществ, подвергающихся антропогенному воздействию. Особенно актуальным является этот вопрос в «хрупких» экосистемах Арктики, где биологические процессы протекают крайне медленно. Последнее время появляется все больше данных о ведущей роли почвенного микробиома в процессе естественной рекультивации почвенно-растительного покрова (Acosta-Martinez et al., 2010; Стифеев и др., 2011; Liu et al., 2016; Luna et al., 2016).

Микроскопические грибы являются важнейшим компонентом почвенных сообществ и играют ключевую роль в сукцессии нарушенных экосистем (Detheridge et al., 2018). Микобиота формирует эмбриоземы, участвуя в биогенном выветривании отвальной породы, разложении органического вещества, образовании гумуса, а также вовлечена в процессы биоремедиации. Помимо этого, некоторые грибы являются симбионтами растений, образуя микоризу, способствуя лучшему выживанию и развитию растений на первичных этапах естественной рекультивации отвалов. Интерес к микобиоте техногенных экосистем, сформированных в результате добычи угля, также обусловлен тем, что они могут служить местообитанием для экстремофильных и экстремотолерантных видов. Поэтому изучение биоразнообразия микобиоты, а также процессов и закономерностей ее развития в техногенных экосистемах является фундаментальной задачей для решения вопросов процесса восстановления нарушенных территорий.

Степень разработанности. Подавляющее большинство исследований естественного зарастания техногенных отвалов были посвящены процессам формирования растительного покрова в различных климатических зонах. В то же время, степень изученности микобиоты различных угледобывающих промышленных районов очень неоднородна. Так, практически все

немногочисленные исследования посвящены изучению породных отвалов угольных шахт и карьеров умеренной зоны Европы.

Исследование микроскопических грибов угольных отвалов в нашей стране крайне малочисленны и посвящены угольным отвалам Республики Коми (Хабибуллина и др., 2015) и отвалам в Приморском Крае (Егорова и др., 2013). Следует отметить, что большинство работ посвящены изучению биоразнообразия микромицетов конкретных отвалов, не учитывая их возраст и не рассматривая процессы изменения комплексов микромицетов в условиях хроносерий. Нами впервые были проведены всесторонние исследования динамики микобиоты при зарастании угольных отвалов в условиях Арктики.

Цель и задачи исследования. Цель данной работы – изучение динамики комплексов микромицетов угольных отвалов в процессе их зарастания. Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Определить видовой состав, таксономическую структуру комплексов, численность и биомассу микроскопических грибов породных (угольных) отвалов в условиях Арктики (Шпицберген, Республики Коми и Магаданская область).

2. Выявить динамику сообществ микромицетов в трех хроносериях породных отвалов, расположенных в различных природных зонах и подзонах Арктики (лесотундра, южная и арктическая тундра).

3. Определить общие закономерности формирования микобиоты серий породных отвалов на широтном градиенте.

4. Исследовать разнообразие микромицетов экстремальных техногенных экосистем, связанных с горением породы.

5. Изучить особенности физиологической адаптации микроскопических грибов к экстремальным условиям породных отвалов. Выявить термотолерантные и термофильные виды.

Научная новизна. Впервые проведено планомерное исследование микобиоты техногенных экосистем, связанных с добычей угля в различных климатических зонах и подзонах Арктики. Проведены сравнительные исследования микобиоты хроносерий угольных отвалов в процессе их зарастания. Впервые получены данные о биоразнообразии микромицетов угольных отвалов в районе пос. Баренцбург (архипелаг Шпицберген) и г. Сусуман (Магаданская область), а также существенно расширены представления о биоразнообразии микромицетов отвалов в районе г. Воркута (Республика Коми).

Проведено сравнение динамики развития сообществ микроскопических грибов трех хроносерий. Впервые изучена микобиота отвалов горелой породы Шпицбергена, Республики Коми и Магаданской области. В качестве

дополнительных исследований, изучено биоразнообразие угольного карьера (Республика Алтай), который характеризовался экстремальными условиями обитания. Изучены особенности адаптации микроскопических грибов к условиям отвалов. В результате исследования микобиоты Шпицбергена и угольного карьера Алтая было описано два новых для науки вида микроскопических грибов *Variabilispora viridis* V.A. Iiushin, I.Y. Kirtsideli & E.G. Lukina и *Aspergillus sibiricus* V.A. Iiushin.

Теоретическая и практическая значимость работы. При проведении исследований были получены новые данные о разнообразии и развитии микобиоты техногенных экосистем, сформированных в результате деятельности угледобывающей промышленности. Полученные в ходе работы новые сведения о динамике сообществ микромицетов при естественном зарастании отвалов вносят весомый вклад в наши представления о формировании почв и могут быть использованы для разработки методов возобновления почвенных ресурсов.

Практическое значение работы определяется поиском микромицетов, обладающих высокой активностью лигнолитических ферментов, способных участвовать в микоремедиации породных отвалов, содержащих каменный уголь. Помимо этого, был осуществлен скрининг термофильных и термотолерантных штаммов, ферменты которых могут использоваться в разных отраслях промышленности. Коллекция микроскопических грибов Лаборатории систематики и географии грибов Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН была пополнена новыми штаммами, которые доступны для дальнейшего научного изучения.

Помимо этого, полученные результаты могут быть использованы при решении вопросов экологии и географии микроскопических грибов.

Методология и методы исследования. Работа основана на сравнении биоразнообразия и включает как идентификацию отдельных видов, так и оценку их места в составе биоты и анализ полученного массива данных. В ходе работы были использованы классические методы изоляции микромицетов, исследования чистых культур, светового и флуоресцентного микроскопирования. Также были применены современные аналитические (газовая хроматография, электронная сканирующая микроскопия) и молекулярно-генетические методы (получение нуклеотидных последовательностей, построение филогенетических деревьев и их анализ).

Положения, выносимые на защиту:

1. Угольные отвалы характеризуются низким видовым разнообразием комплексов микромицетов.

2. В хроносериях угольных отвалов в районе пос. Баренцбурга, г. Воркута и г. Сусуман численность, биомасса и число видов микроскопических грибов последовательно увеличивается с возрастом отвалов.

3. В хроносериях отвалов постепенно складывается микобиота, характерная для природной зоны данного региона.

4. Формирование комплексов микромицетов при естественной рекультивации угольных отвалов зависит от площади нарушенной территории и климатической зоны региона.

5. Микроскопические грибы угольных отвалов обладают физиологическими адаптациями для обитания в экстремальных условиях посттехногенных ландшафтов.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов обеспечивается большим объемом полученных оригинальных данных, их статистической и биоинформатической обработкой, а также публикацией научных статей в рецензируемых журналах.

Основные результаты исследований были представлены на следующих конференциях и конгрессах: Всероссийский конгресс по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии (Санкт-Петербург, 2019, 2020, 2022), V (XIII) Международная ботаническая конференция молодых учёных (Санкт-Петербург, 2022), VII Пущинская конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов» (Пущино, 2021), XVI Международная научная экологическая конференция «Пространственно-временные аспекты функционирования биосистем» (Белгород, 2021), Беломорская студенческая научная сессия СПбГУ (Санкт-Петербург, 2020), XIII Региональная молодежная экологическая школа-конференция «Природные и культурные аспекты долгосрочных экологических исследований на Северо-западе России» (Санкт-Петербург, 2020), Международная научно-практическая конференция «Биотехнологии микроорганизмов» (Беларусь, Минск, 2019), VII Всероссийская научная конференция с международным участием «Экологические проблемы севера и пути их решения» (Апатиты, 2019), а также на заседаниях Лаборатории систематики и географии грибов БИН РАН.

Личный вклад автора. Диссертант лично участвовал в планировании и выполнении исследования, постановки цели и задач, подборе методологии и методов, работ по теме исследования и написании текста диссертации. Им осуществлены полевые исследования в Республике Коми (г. Воркута), выделение и идентификация микроскопических грибов традиционными и молекулярно-генетическими методами, выполнен анализ таксономической структуры выявленной микобиоты, определены показатели численности и биомассы, депонированы культуры, описаны два новых для науки вида,

осуществлена постановка экспериментов по изучению физиологии, проведена обработка и анализ результатов, а также сделаны выводы.

Публикация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 7 статей в российских и международных научных журналах, индексируемых в базах данных Scopus и/или Web of Science, а также 11 тезисов конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, девяти глав, заключения, выводов, списка литературы, списка иллюстративного материала и четырех приложений. Общий объем составляет 215 страниц. Работа включает 23 таблицы и 86 рисунков. Список использованной литературы содержит 392 источника, из них 256 на иностранных языках.

Благодарности. Я выражаю глубокую благодарность своему научному руководителю И. Ю. Кирцидели за поддержку и неоценимую помощь на всех стадиях работы. Благодарю Д. Ю. Власова за рекомендации и ценные советы на этапе подготовки текста данной рукописи.

Искренне благодарю Г. А. Пожванова за помощь в исследовании метаболомного профиля культур, Г. Верклей и Е. А. Паломожных за помощь в депонировании чистых культур и гербарных образцов микромицетов, а также Н. А. Сазанову за проведение полевых работ в Магаданской области. Хотелось бы выразить признательность М. С. Зеленской, Е. Г. Пановой, Е. Г. Лукиной за помощь в проведении исследований. Благодарю экологов угольной компании «Воркутауголь» О. С. Гелету и Н. С. Вишняускене за помощь в проведении полевых работ.

Особую благодарность выражаю сотрудникам Томского государственного университета О. В. Карначук, Ю. А. Франк, Е. В. Плотникову и Л. Б. Глухой за помощь в проведении исследований и получении материалов из Республики Алтай.

Выражаю особую признательность Ю. К. Новожилову за содействие в проведении работы. А также благодарю весь коллектив Лаборатории систематики и географии грибов и Лаборатории биохимии грибов БИН РАН за постоянную поддержку и внимание.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Глава 1 Обзор литературы

1.1 Породные отвалы как техногенные экосистемы. В данной подглаве породные отвалы угольных шахт и карьеров рассматриваются в качестве техногенных экосистем. Приведены сведения о состоянии угольной промышленности в России, уделено внимание формируемым техногенным ландшафтам, характеристике породных отвалов, их микроклимату и породному составу. Подробно рассматривается сукцессия породных отвалов.

1.2 Биоразнообразие грибов техногенных экосистем, связанных с добычей угля. Дан обзор исследований микобиоты техногенных экосистем, связанных с добычей угля. Приведены сведения о биоразнообразии микромицетов породных отвалов угольных шахт и карьеров, кислотных шахтных дренажей, закрытых глубоких угольных шахт. Уделено внимание аэромикоте шахт, а также разнообразию микромицетов после рекультивации породных отвалов.

1.3 Участие грибов в биогенном выветривании породы. Выветривание исходного материала породы происходит под воздействием различных абиотических и биотических факторов. При этом грибы играют значительную роль, влияя на процессы выветривания и скорость разрушения материнских пород. В подглаве рассматриваются основные систематические и экологические группы грибов, участвующих в биогенном выветривании породы, а также механизмы биогенного выветривания.

1.4 Участие грибов в разложении органического вещества и образовании гумуса. В подглаве дан краткий обзор роли грибов в разложении органического вещества и гумусообразовании, а также о ходе этих процессов во время сукцессии.

1.5 Участие микоризных грибов в зарастании отвалов. Микориза вовлечена в изменение минерального состава материнской породы, участвуя в процессах почвообразования, происходящих в процессе сукцессии. В подглаве представлен обзор работ, посвященных изучению роли микоризных грибов в зарастании породных отвалов.

1.6 Биодegradация угля грибами. Способность грибов к биодegradации угля может быть применена в рекультивации районов добычи. В подглаве представлены основные механизмы биодegradации угля грибами, а также дан обзор групп микромицетов, способных к этой дegradации.

Глава 2 Материалы и методы

2.1 Отбор проб. Материалами исследований служили образцы, отобранные из угольных отвалов в районе пос. Баренцбург (архипелаг Шпицберген), в районе г. Воркута (Республика Коми) и в районе г. Сусуман (Магаданская область). На Шпицбергене пробы были отобраны из формируемого, 10-летнего, 30-летнего и 50-летнего породных отвалов, а также из почвы арктической тундры; в Республике Коми – из формируемого, 10-летнего, 20-летнего и 45-летнего породных отвалов, а также из почвы южной тундры; в Магаданской области – из формируемого, 12-летнего, 25-летнего и 43-летнего породных отвалов, а также из почвы лесотундры. Дополнительно отобраны пробы из отвалов горелой породы, расположенные в районе

Баренцбурга, Воркуты и Сусумана, а также угольного карьера вблизи села Чаган-Узун (Республика Алтай).

2.2 Выделение чистых культур грибов, их культивирование и хранение. Для выделения культур грибов использовался метод серийных разведений. В ряде случаев использовали метод прямого посева. Использовали стандартные среды CZ, MEA, M20S, PCA, OA, Сабуро и CYA.

Культуры хранятся в коллекции грибов Лаборатории систематики и географии грибов БИН РАН. Живые штаммы, принадлежащие новым видам, были депонированы в Центре биоразнообразия CBS-KNAW (Нидерланды), высушенные культуры - в Микологическом гербарии БИН РАН.

2.3 Морфологический анализ выделенных изолятов. Первоначальную идентификацию грибов осуществляли на основании культурально-морфологических признаков. Определение видов проводили по стандартным определителям, монографиям и статьям (Литвинов, 1967; Пидопличко, 1971; Милько, 1974; Domsch et al., 1980, 2007; Егорова, 1986; Bensch et al., 2012; Коваль и др., 2016; Woudenberg et al., 2017; Wang et al., 2019).

2.4 Молекулярно-генетические методы. В качестве филогенетического маркера была использована последовательность региона ITS. В случае неясного филогенетического положения – 28S рРНК (LSU) и последовательности белок кодирующих генов: BenA (β -тубулин), CaM (кальмодулин) и RPB2. Хроматограммы с результатами секвенирования были проверены с использованием программы BioEdit версии 7.1.9. Анализировали данные с помощью программы поиска BLAST в GenBank.

Для изолятов, которые относились к новым видам, был проведен филогенетический анализ. Реконструкция филогенетических деревьев производили в программе MEGA X. Анализ проводили с использованием метода максимального правдоподобия (Maximum Likelihood, ML).

2.5 Характеристика комплексов микромицетов и статистическая обработка данных. Данные по общей численности микромицетов выражали в колониеобразующих единицах на 1 г абсолютно-сухой почвы (КОЕ/г). Показатели биомассы определяли методом люминесцентной микроскопии с использованием люминесцентного красителя солофенила (Solophenyl Flavine), в соответствии с общепринятой методикой (Hoch et al, 2005). Для характеристики структуры комплексов грибов использовали относительное обилие видов и родов (Magguran, 2004). Для характеристики микобиоты использовали индекс разнообразия Шеннона.

Для изучения сходства комплексов микромицетов использовали метод древовидной кластеризации, также проводился анализ методом главных

компонент. Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакета статистических программ MS Excel 2007, Statistica 10.0 и EstimateS9.

2.6 Физиологические тесты. Лигнолитическую активность штаммов определяли реакцией Бавендамма (Билай, 1982). Выявление кислотообразующей активности штаммов определяли с помощью культивирования на среде Чапека (CZ) с добавлением 0,5% карбоната кальция.

Для изучения скорости роста в зависимости от температуры проводили культивирование мицелия на твердых питательных средах, в диапазоне температур от 2 до 65 °С. Для изучения скорости роста *A. sibiricus* в зависимости от pH проводили культивирование мицелия на среде CYA. Изменяли pH среды с помощью добавления в среду 30% H₂SO₄ и 4М NaOH.

Для изучения влияния дефицита питательных веществ на морфологию и метаболомный профиль *Cadophora antarctica* IVA-206, *Cosmospora berkeleyana* IVA-207 и *Pseudogymnoascus pannorum* IVA-422 использовали модифицированную жидкую среду Чапека. Мицелий выращивали на средах, каждая из которых была дефицитна по азоту, углероду или фосфору, среде с дефицитом всех этих элементов, а также, среде с дефицитом элементов и добавлением породы угольного отвала. Хроматографический анализ проводился на в РЦ «Развитие клеточных и молекулярных технологий» СПбГУ и в лаборатории аналитической фитохимии БИН РАН.

Для изучения способности грибов расти на углесодержащей породе инокулировали спорами *C. antarctica* IVA-206 таблетки из породы и порошкообразного угля, инкубировали в течение 6 месяцев.

2.7 Анализ породы отвалов. Состав образцов был охарактеризован с помощью растровой электронной микроскопии и электронно-зондового микроанализа в Ресурсном центре микроскопии и микроанализа СПбГУ.

Глава 3 Биоразнообразие микроскопических грибов угольных отвалов Шпицбергена

3.1 Анализ структуры комплексов микроскопических грибов угольных отвалов Шпицбергена. В результате проведенных исследований выявлен 61 вид микроскопических грибов из 36 родов, в том числе из породных отвалов - 49 видов из 29 родов. Удельное обилие родов микроскопических грибов породных отвалов представлено на рисунке 1.

В формируемом породном отвале было выявлено 15 видов, в образцах 10-летнего породного отвала был отмечен 21 вид, в 30-летнем отвале видовое разнообразие микроскопических грибов увеличилось до 27 видов, в 50-летнем отвале отмечено 27 видов. В образцах почвы арктической тундры выявлено 30 видов микроскопических грибов.

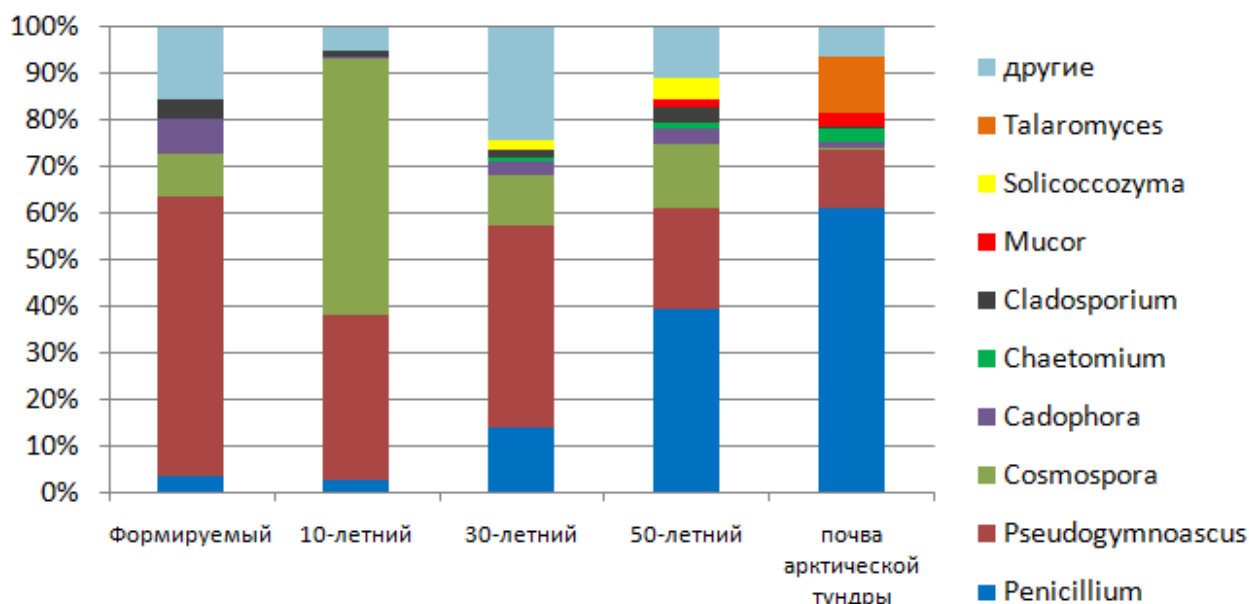


Рисунок 1 Удельное обилие родов микромицетов в породных отвалах Шпицбергена.

3.2. Численность и биомасса микроскопических грибов угольных отвалов Шпицбергена. Численность микромицетов увеличивалась с возрастом породных отвалов. Так, если в 10-летнем отвале численность микроскопических грибов составляла 597 КОЕ/г, то в 50-летнем отвале достигала 2251 КОЕ/г, т.е. происходило значительное увеличение (в 4 раза) численности в хроносери. Биомасса микроскопических грибов в породных отвалах была низкой и незначительно увеличивалась с возрастом породных отвалов, от 0,08 мг/г в формируемом отвале до 0,12 мг/г в 50-летнем.

3.3. Сравнение комплексов микромицетов угольных отвалов Шпицбергена. На рисунке 2 представлена дендрограмма сходства комплексов.

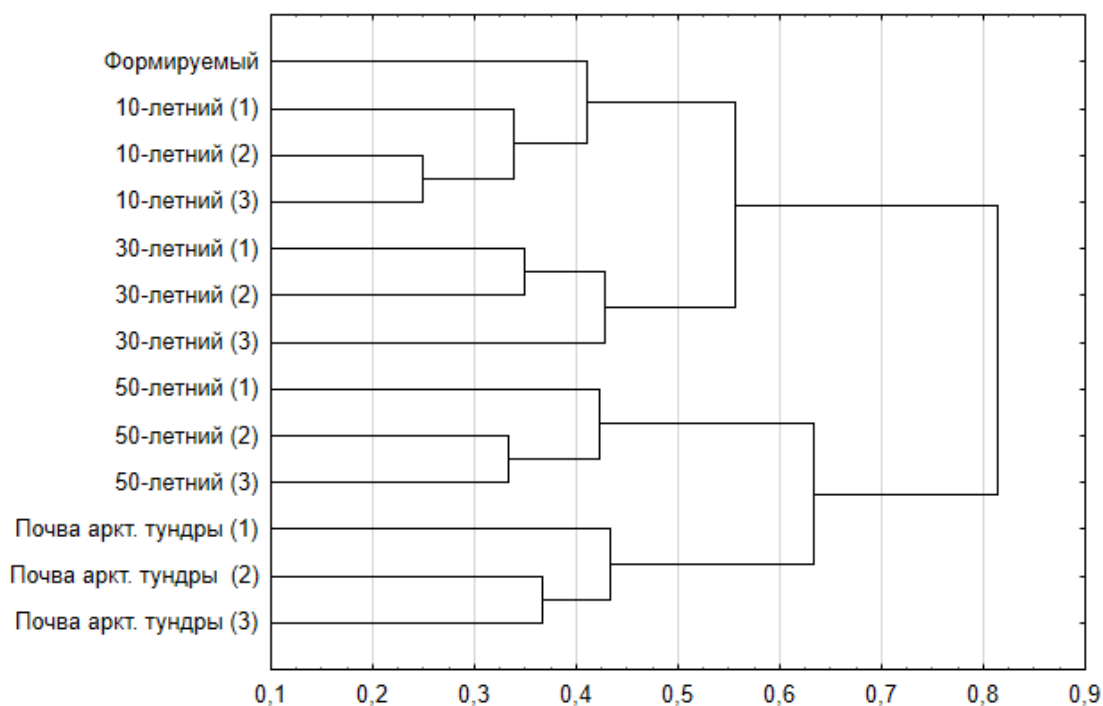


Рисунок 2 Дендрограмма сходства комплексов микромицетов породных отвалов и почвы арктической тундры с учетом глубины отбора проб (в скобках).

Степень сходства комплексов соответствует этапам прошедшей сукцессии. При этом сближение комплексов 50-летнего отвала и почвы арктической тундры свидетельствует о постепенном процессе формирования микобиоты, характерной для естественных почв данного региона. Угольные отвалы характеризуются очень низким индексом Шеннона (0,510 - 0,759).

Глава 4 Биоразнообразии микроскопических грибов угольных отвалов Республики Коми

4.1 Анализ структуры комплексов микроскопических грибов угольных отвалов Республики Коми. В результате проведенных исследований выявлено 40 видов микроскопических грибов, принадлежащих 28 родам, в том числе 25 видов, принадлежащих 17 родам, из породных отвалов. Удельное обилие родов микромицетов породных отвалов представлено на рисунке 3.

В формируемом породном отвале было выявлено 8 видов, в образцах 10-летнего породного отвала были выявлены представители 10 видов, в 20-летнем породном отвале – 16 видов, в 45-летнем породном отвале обнаружено 14 видов. В результате проведенных исследований в образцах почвы южной тундры выявлены 32 вида микроскопических грибов.

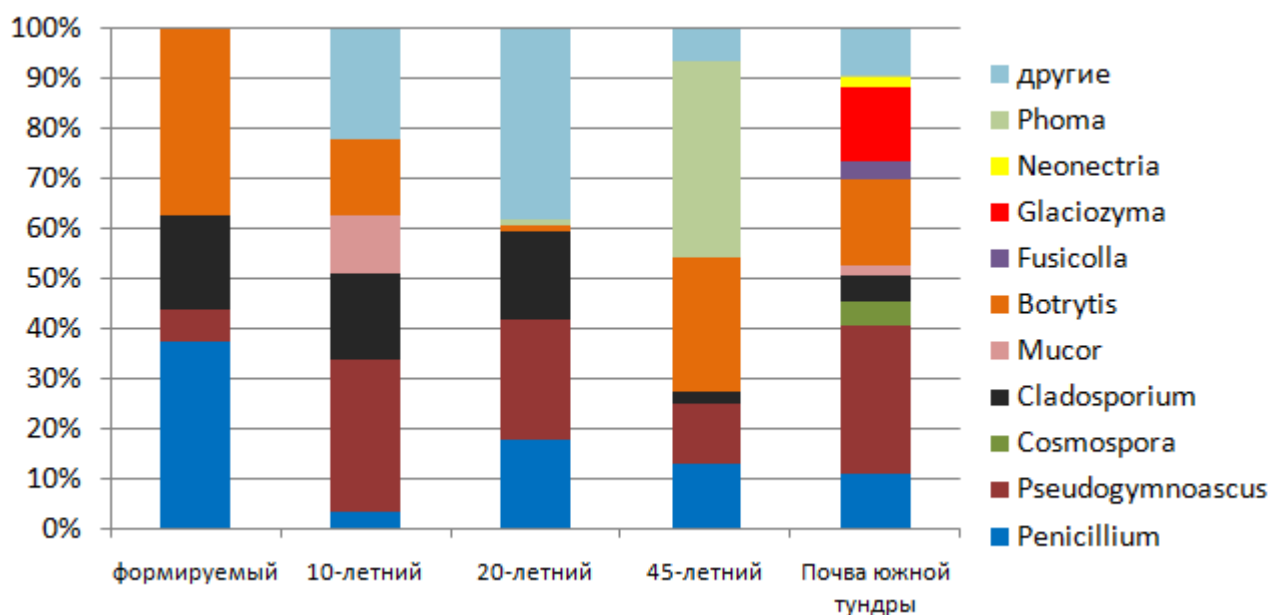


Рисунок 3 Удельное обилие родов микромицетов в породных отвалах Республики Коми.

4.2 Численность и биомасса микроскопических грибов угольных отвалов Республики Коми. Численность микроскопических грибов увеличивалась с возрастом породных отвалов. В формируемом отвале она составляла 76 КОЕ/г, в 45-летнем отвале 903 КОЕ/г, т.е. за 45 лет численность микроскопических грибов хроносерики увеличилась в 12 раз. Биомасса микроскопических грибов увеличивалась с возрастом породных отвалов, от 0,15 мг/г в формируемом отвале до 0,53 мг/г в 45-летнем.

4.3 Сравнение комплексов микромицетов угольных отвалов Республики Коми. Комплексы микроскопических грибов разделяются на четыре кластера (рисунок 4). Причем, сообщества отвалов гораздо ближе между собой, чем с сообществом южной тундры. Это свидетельствует о том, что процесс формирования микобиоты, характерной для естественных почв данного региона, протекает крайне медленно. При этом угольные отвалы характеризуются очень низким индексом разнообразия Шеннона (0,785 - 0,913).

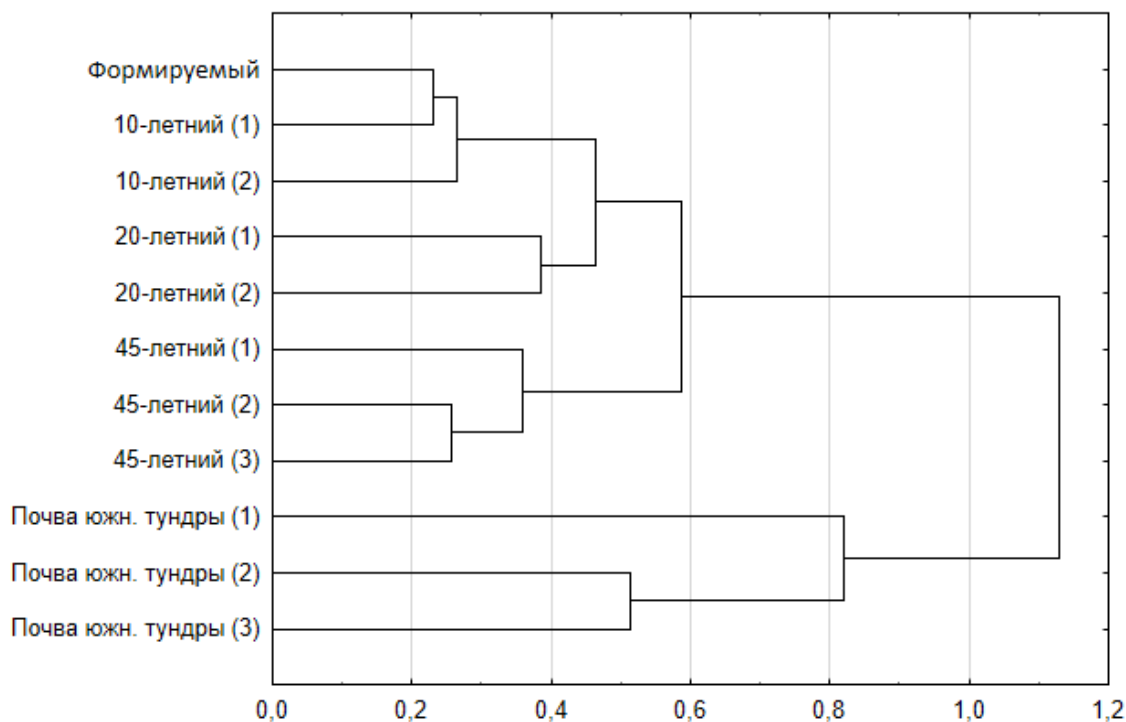


Рисунок 4 Дендрограмма сходства комплексов микромицетов породных отвалов и почвы южной тундры с учетом глубины отбора проб (в скобках).

Глава 5 Биоразнообразие микроскопических грибов угольных отвалов Магаданской области

5.1 Анализ структуры комплексов микроскопических грибов угольных отвалов Магаданской области. Всего было идентифицировано 58 видов микроскопических грибов, принадлежащих к 32 родам. 43 вида из 24 родов было выявлено из пород отвалов. Удельное обилие родов микромицетов породных отвалов представлено на рисунке 5.

Только 12 видов микроскопических грибов были идентифицированы в образцах формируемого породного отвала. Видовое разнообразие микроскопических грибов увеличилось до 17 видов в породе 12-летнего отвала. Представители 22 видов были обнаружены в образцах 25-летнего породного отвала, 24 вида – в образцах 43-летнего отвала. В результате проведенных исследований в почве лесотундры был выявлен 41 вид микромицетов.

5.2 Численность и биомасса микроскопических грибов угольных отвалов Магаданской области. Численность увеличивалась с возрастом

отвалов. Так, если численность изолятов в 12-летнем отвале составляла 466 КОЕ/г, то в 43-летнем отвале - 21266 КОЕ/г. Т.е. в процессе зарастания отвалов происходило резкое увеличение (в 45 раз) численности микроскопических грибов. Биомасса микроскопических грибов (мг/г) увеличивалась с возрастом породных отвалов, от 0,14 мг/г в формируемом отвале до 0,46 мг/г в 43-летнем.

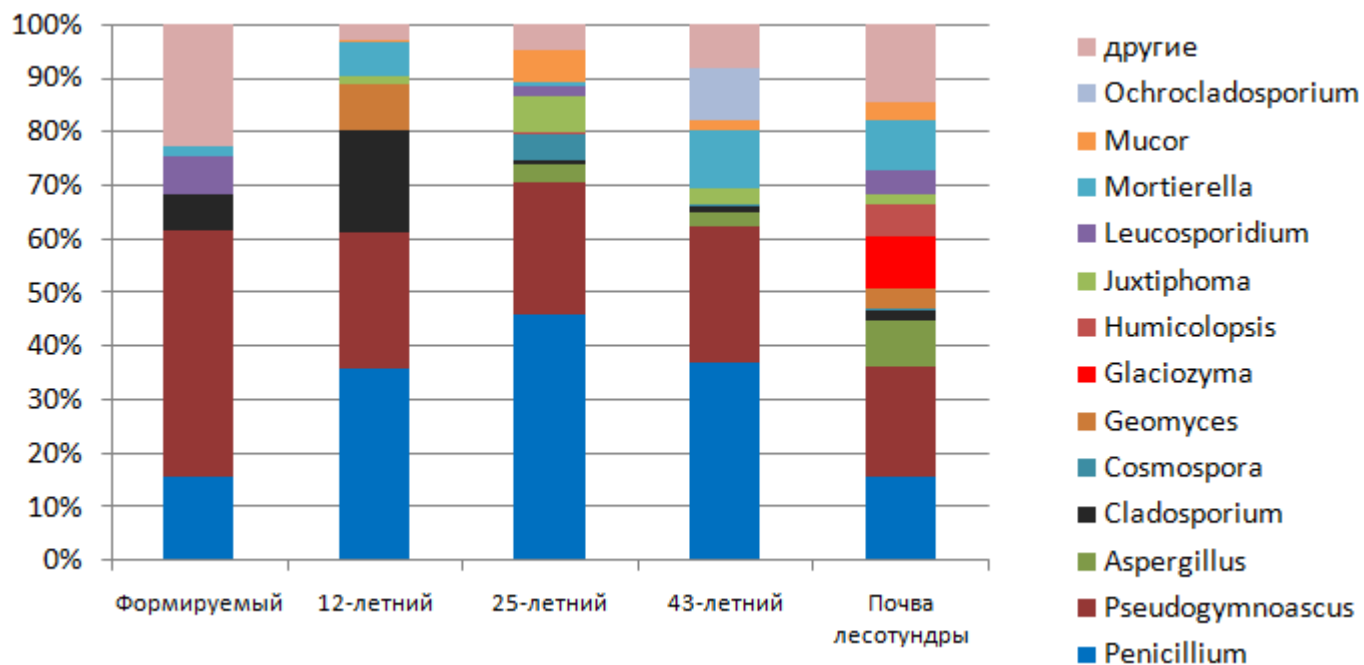


Рисунок 5 Удельное обилие родов микромицетов в породных отвалах Магаданской области.

5.3 Сравнение комплексов микромицетов угольных отвалов Магаданской области. Комплексы делятся на три больших кластера (рисунок 6), при этом степень их сходства соответствует этапам прошедшей сукцессии.

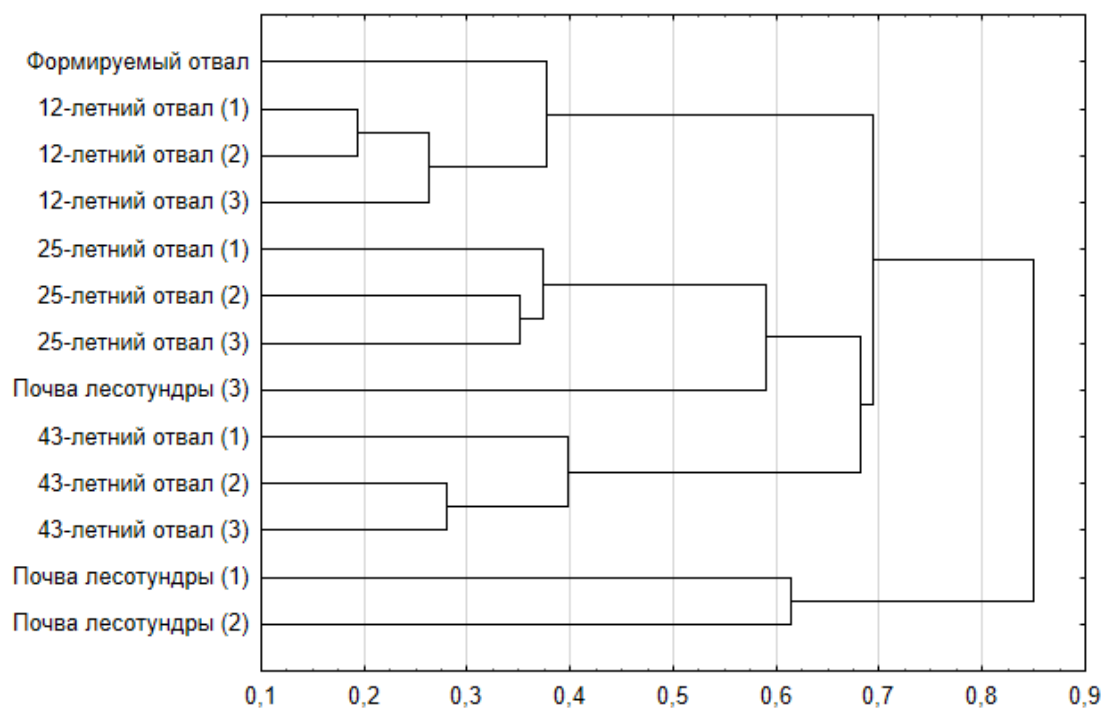


Рисунок 6 Дендрограмма сходства комплексов микромицетов породных отвалов Магаданской области и почвы лесотундры с учетом глубины отбора проб (в скобках).

Угольные отвалы Магаданской области характеризуются низким индексом разнообразия Шеннона (0,735 - 0,864).

Глава 6 Сравнение комплексов микроскопических грибов угольных отвалов разных природных зон

Условно, для сравнения между собой отвалов разных природных зон, были выделены группы отвалов, наиболее соответствующие друг другу по возрасту (таблица 1).

Таблица 1 Отвалы трех природных зон, сгруппированные по возрасту, а также плакорное сообщество, характерное для каждого изученного региона.

	Формируемые отвалы	Молодые отвалы	Отвалы среднего возраста	Старые отвалы	Плакорное сообщество
Шпицберген	Находится в эксплуатации	10 лет	30 лет	50 лет	Арктическая тундра
Республика Коми	Находится в эксплуатации	10 лет	20 лет	45 лет	Южная тундра
Магаданская область	Находится в эксплуатации	12 лет	25 лет	43 года	Лесотундра

6.1 Численность микромицетов угольных отвалов различных природных зон. Во всех трех изученных хроносериях численность микроскопических грибов увеличивалась с возрастом угольных отвалов (рисунок 7). Численность микроскопических грибов в почвах была значительно выше, чем в породе отвалов, которая увеличивалась в соответствии с зональностью, т.е. от северных к южным широтам.

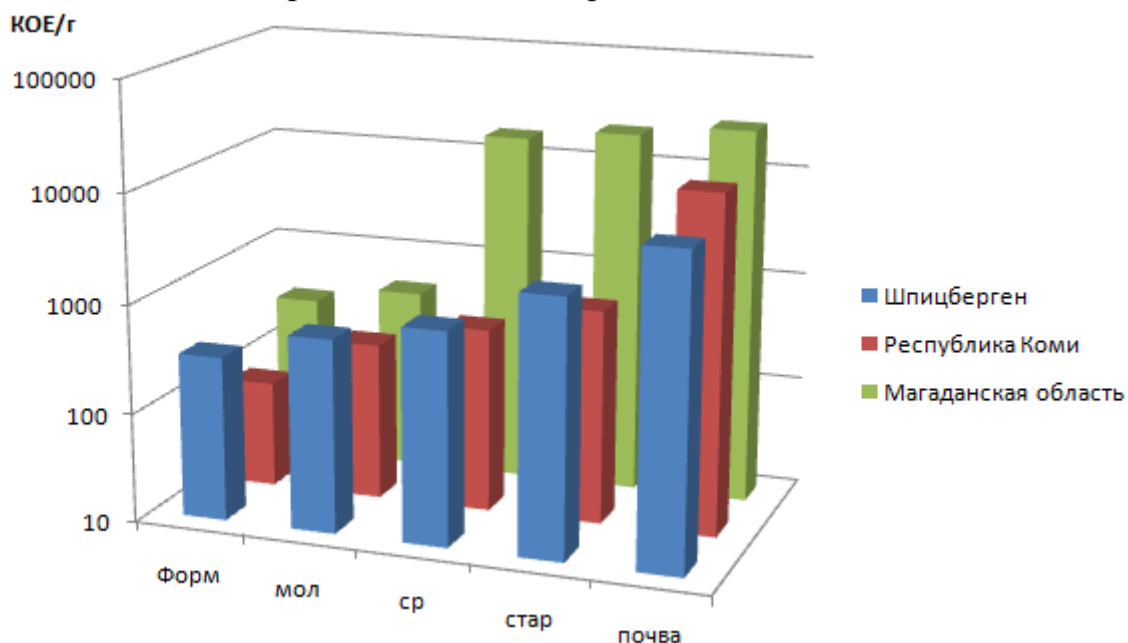


Рисунок 7 Сравнение численности микроскопических грибов (КОЕ/г) в отвалах разных природных зон. Условные обозначения: форм – формируемые отвалы, мол – молодые, ср – отвалы среднего возраста, стар – старые, почв – почва плакорных сообществ.

6.2 Биомасса микромицетов угольных отвалов различных природных зон. Во всех трех изученных хроносериях биомасса микроскопических грибов увеличивалась с возрастом угольных отвалов (рисунок 8). Увеличение численности и биомассы можно объяснить постепенным улучшением среды обитания отвалов. Процесс увеличения численности микроскопических грибов напрямую связан с накоплением органического вещества (Mumme et al., 2002). Кроме того, из-за роста гиф уменьшается объемная плотность отвалов (Harris et al., 2003), что делает среду отвалов более благоприятной, как для грибов, так и для других организмов.

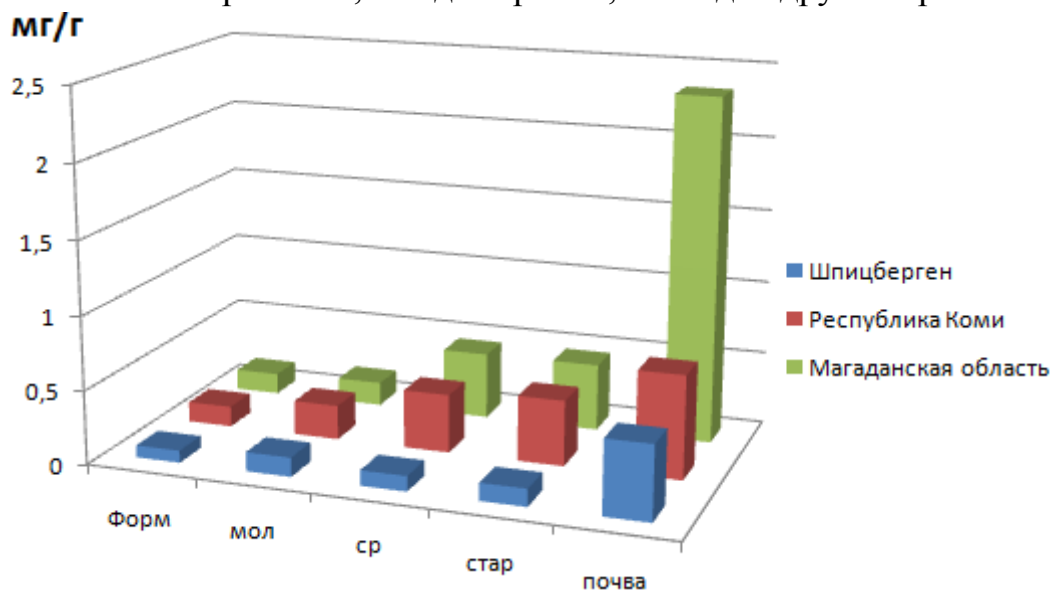


Рисунок 8 Сравнение биомассы (мг/г) в отвалах разных природных зон. Условные обозначения: форм – формируемые отвалы, мол – молодые, ср – отвалы среднего возраста, стар – старые, почв – почва плакорных сообществ.

6.3 Биоразнообразие микромицетов угольных отвалов различных природных зон. *Формируемые отвалы* характеризуются беднейшей микобиотой. Они обладают несбалансированным видовым составом из-за их постоянной эксплуатации. Постоянная выгрузка породы позволяет наблюдать видовой состав тех микроскопических грибов, чьи споры попали с воздухом из аэромикоты и сохранили жизнеспособность. *Молодые отвалы* характеризуются низким видовым разнообразием. Однако, по сравнению с формируемыми отвалами, число видов увеличивается на 30-40%. *Отвалы среднего возраста* также характеризуются относительно небольшим числом видов. По сравнению с молодыми отвалами, число видов увеличилось на 30-60%. *Старые отвалы* характеризуются относительно небольшим числом видов. По сравнению с отвалами среднего возраста, число видов практически не изменилось. Во всех отвалах разных возрастных групп присутствовали представители *Penicillium*, *Pseudogymnoascus* и *Cladosporium*.

Число видов в *почвах плакорных сообществ* увеличивалось с севера на юг. Если в почвах арктической тундры насчитывалось 30 видов, в почвах

южной тундры – уже 32 вида, а в почвах лесотундры – 41 вид микромицетов. Следует также отметить, что некоторые роды микромицетов встречались только в почвах и не встречались в угольных отвалах. Самые крупные из них – *Neonectria*, *Talaromyces* и *Tolypocladium*.

Во всех трех изученных природных зонах разнообразие микроскопических грибов с возрастом угольных отвалов последовательно увеличивалось (рисунок 9). Так, число видов в старых отвалах было приблизительно в два раза выше, чем в формируемых. Постепенное увеличение разнообразия свидетельствует о развитии более сложных сообществ, что является прямым процессом происходящей сукцессии.

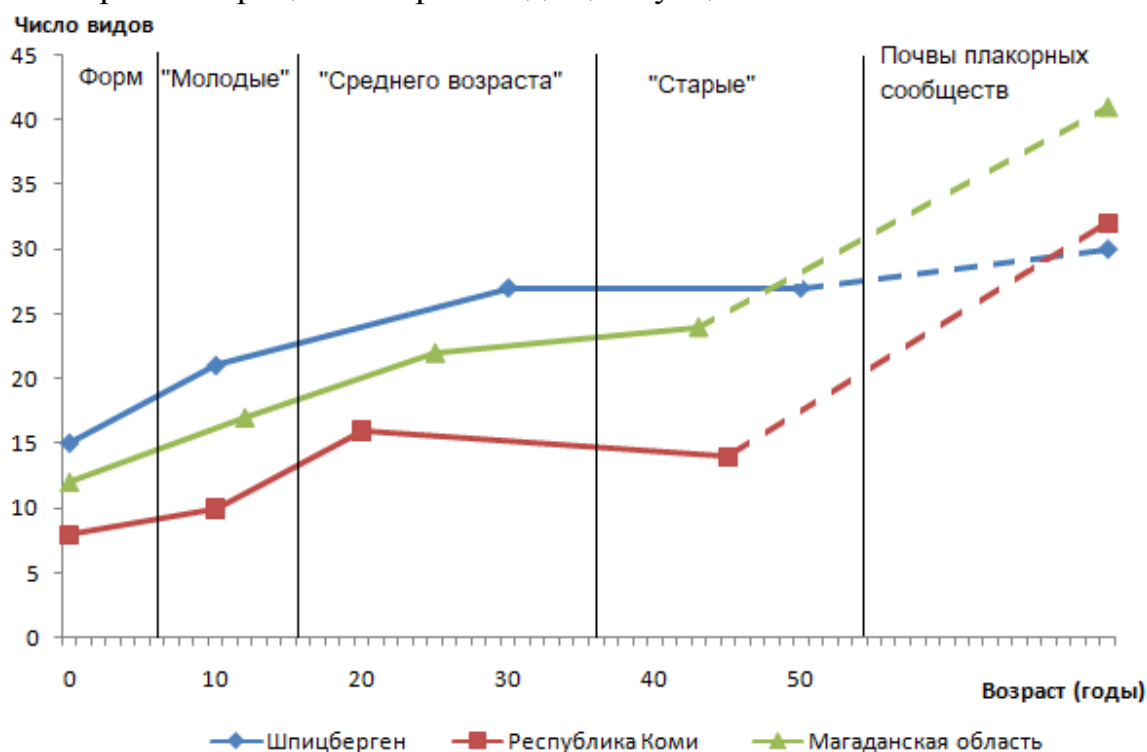


Рисунок 9 График роста числа видов в зависимости от возраста породных отвалов.

Несмотря на то, что микобиота близковозрастных отвалов имеет некоторые черты сходства в видовой структуре, в породных угольных отвалах постепенно складывается микобиота, характерная для каждой природной зоны. Так, анализ сообществ методом главных компонент показал, что сообщества отвалов из одной природной зоны имеют между собой гораздо больше сходства, чем сообщества отвалов сходных по возрасту (рисунок 10).

Вероятно, на сукцессионные процессы оказывает фактор площади нарушенных территорий. Чем больше площадь нарушенной территории и чем дальше отвал расположен от естественных сообществ, тем меньше вероятность, что жизнеспособные пропагулы будут подхвачены воздушным потоком и перенесены в техногенные экосистемы. На графике (рисунок 11) площадь цветного круга соответствует площади нарушенной территории.

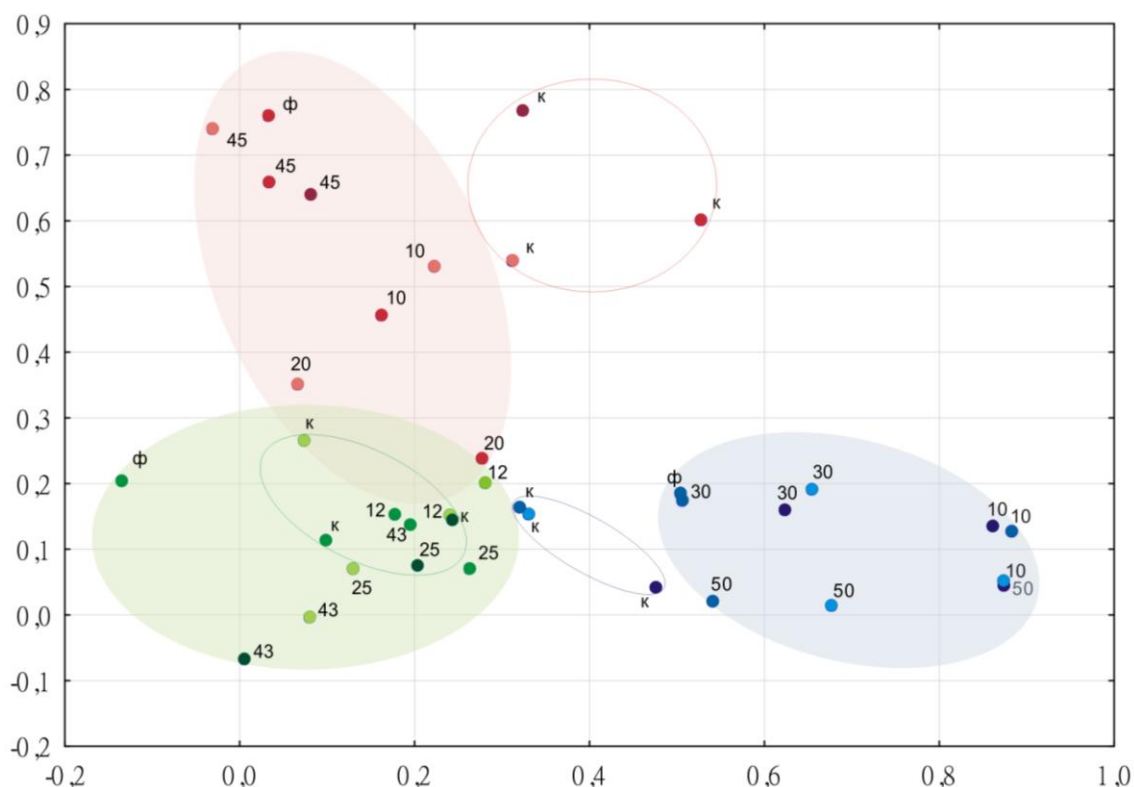


Рисунок 10 Анализ сообществ методом главных компонент. Чем темнее точка, тем глубже слой отбора пробы. Синим цветом показаны сообщества породных отвалов Шпицбергена, красным – Республики Коми, зеленым – Магаданской области. Контуром без заливки – соответствующие сообщества почв плакорных сообществ. Цифрами показан возраст отвалов, к – почва плакорного сообщества (контроль).

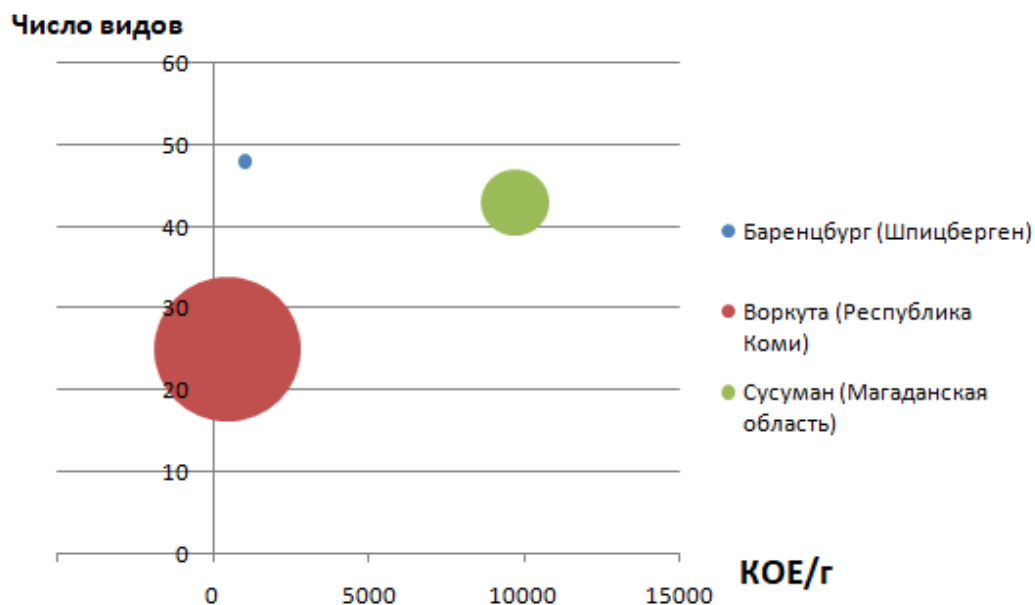


Рисунок 11 Зависимость численности (средняя для хроносери), числа видов и площади нарушенной территории.

Глава 7 Биоразнообразие микроскопических грибов экосистем, связанных с горением породы

Породные отвалы угольных шахт и карьеров являются экстремальными экосистемами, прежде всего из-за недостатка питательных веществ. В ряде

случаев, помимо бедности эмбриоземов, организмы сталкиваются с другими лимитирующими факторами среды, например, температурой.

7.1 Микобиота отвалов горелых угольных пород. В результате проведенных исследований образцов горелых пород, полученных со Шпицбергена, Республики Коми и Магаданской области, выявлены 9 видов микроскопических грибов.

В горелой породе отвала Шпицбергена было выявлено 4 вида. Абсолютным доминантом был *Penicillium fimorum* (доля - 93%). Также присутствовали *Pseudogymnoascus pannorum* и два термотолерантных вида *Aspergillus waksmanii* и *Rasamsonia cylindrospora*. В Республики Коми было выявлено 4 вида: *P. pannorum* (доля - 69%), *Fagicola fagi*, *Mortierella alpina* и *Aspergillus spinosus*. В горелой породе отвала Магаданской области было выявлено 3 вида.

Численность микроскопических грибов в отвалах горелых пород была низкой. Так, в отвале Республики Коми, численность микроскопических грибов составляла 217 КОЕ/г и была в четыре с половиной раза ниже, чем в отвале Шпицбергена, и в пять раз ниже, чем в отвале Магаданской области. Биомасса также была низкой и составляла 0,07 мг/г в отвале Шпицбергена, 0,08 мг/г в отвале Республики Коми и 0,19 мг/г в Магаданской области. Отвалы горелых пород характеризуются крайне низким индексом Шеннона (0,179 - 0,363).

7.2 Микобиота угольного карьера с локальным возгоранием породы. Угольный карьер вблизи села Чаган-Узун является крайне неблагоприятной средой для обитания микроскопических грибов. Температура в местах отбора проб составляла около 50 °С, в отдельных местах наблюдалось парообразование, что является признаком подземного пожара. Помимо температуры, характеризовался низкой кислотностью среды (рН 3,2–3,4).

В результате исследований проб породы из угольного карьера было выделено семь видов микроскопических грибов родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Talaromyces*, *Rasamsonia*, которые относятся к семейству *Aspergillaceae*. Некоторые представители этого семейства относятся к экстремотолерантным и экстремофильным видам. Так, изолированный нами микромицет *Rasamsonia argillacea* является термотолерантным видом. В ходе изучения микобиты угольного карьера, нами был описан новый вид *Aspergillus sibiricus*.

Глава 8 Систематическое положение микроскопических грибов, связанных с добычей угля

8.1 Таксономический состав комплексов микромицетов экосистем, связанных с добычей угля. В ходе исследования породных отвалов Шпицбергена, Республики Коми и Магаданской области, включая отвалы горелых пород, почв плакорных сообществ этих регионов, а также угольного

карьера Республики Алтай, было выделено 132 вида микромицетов, 98 видов были изолированы из техногенных экосистем, связанных с добычей угля.

Выделенные микроскопические грибы относились к 66 родам (51 род - из техногенных экосистем). Наибольшее число видов принадлежало роду *Penicillium* (29 видов). Следующим по числу видов следовал род *Aspergillus* (всего - 8 видов). Также относительно богатыми по числу видов были роды *Cadophora*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Trichoderma* (4-5 видов).

Выделенные микроскопические грибы относились к 39 семействам (29 семейств в техногенных экосистемах). Наибольшее число видов принадлежало семейству *Aspergillaceae* (43 вида). Также относительно богатым по числу видов было семейство *Nectriaceae* (11 видов). Выделенные грибы относились 18 порядкам. Распределение видов представлено на рисунке 12.

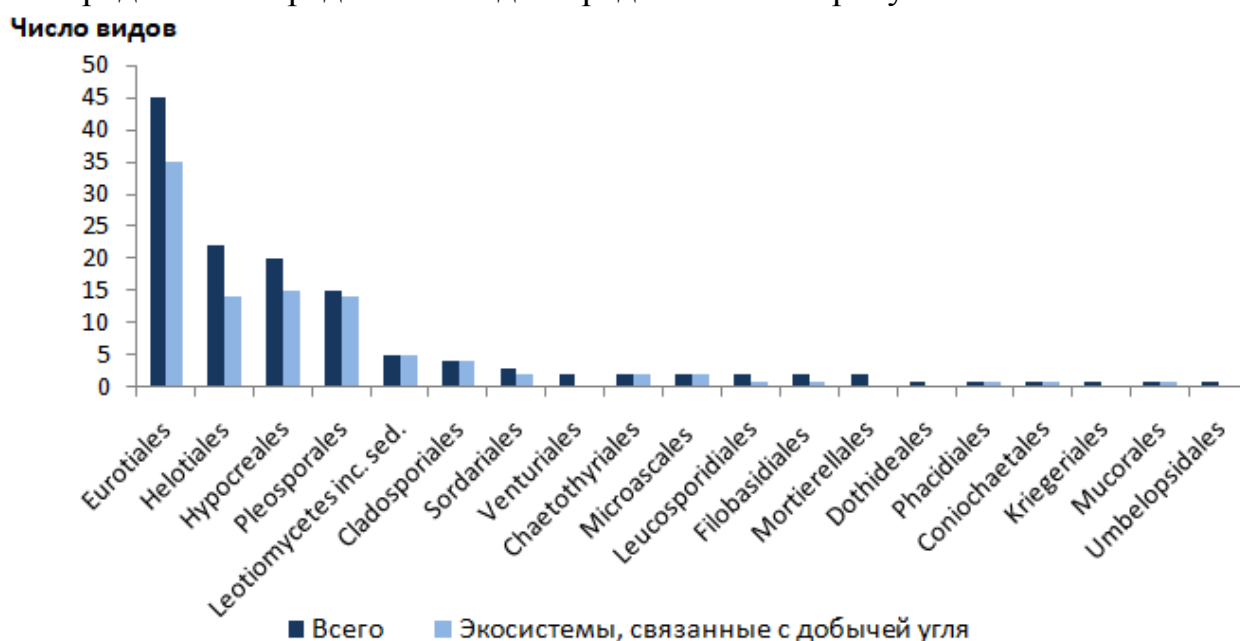


Рисунок 12 Распределение видов по порядкам.

Выделенные микроскопические грибы относились к 9 классам, принадлежащие четырем отделам. Подавляющее большинство видов относилось к отделу Ascomycota (классы Eurotiomycetes, Leotiomycetes, Sordariomycetes и Dothideomycetes). К отделу Basidiomycota относилось 5 выделенных видов, относящихся к двум классам Microbotryomycetes и Tremellomycetes. К отделам Mortierellomycota (класс Mortierellomycetes) и Mucoromycota (классы Mucoromycetes и Umbelopsidomycetes) - по 2 вида.

8.2 Новый вид *Variabilispora viridis*. В результате исследования микобиоты Шпицбергена нами был обнаружен и описан вид *Variabilispora viridis* V.A. Piushin, I.Y. Kirtsideli & E.G. Lukina, *sp. nov.* (LE F-341002; ex-type культура CBS 148030; последовательности ITS и LSU GenBank **MW201500.1** и **MZ798432.1**, MucosBank MB 840872). Морфология показана на рисунке 13. Филогенетический анализ показал, что вид является близким к *V. flava*.

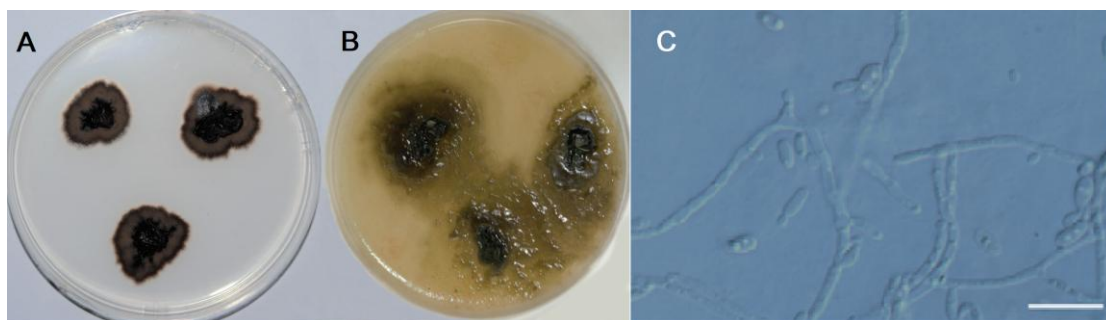


Рисунок 13 Морфология *V. viridis*. Колонии на: А – CZ, В – на ОА; С – Конидиогенные клетки, образующихся на гифах. Отрезок шкалы = 20 мкм.

8.3 Новый вид *Aspergillus sibiricus*. В результате исследования микобиоты угольного карьера Республики Алтай нами был обнаружен и описан вид *Aspergillus sibiricus* V.A. Piushin, *sp. nov.* (LE F-341005; ex-type культура CBS 143307; ITS бар-код: **MG587008** (альтернативные маркеры: BenA = **MG722970**; CaM = **MG722971**; RPB2 = **MG710809**). Морфология показана на рисунке 14. Комбинированное филогенетическое дерево, основанное на частичных последовательностях ITS+BenA+CaM+RPB2, показало, что *A. sibiricus* относится к серии *Unilaterales* секции *Fumigati*, и является наиболее близким родственником *A. assulatus*, *A. nishimurae* и *A. waksmanii*. Результаты изучения скорости роста подтвердили высокую адаптивность *A. sibiricus* к экстремальным значениям pH. Так, исследуемый штамм является кислототолерантным и способен к росту при pH 2.

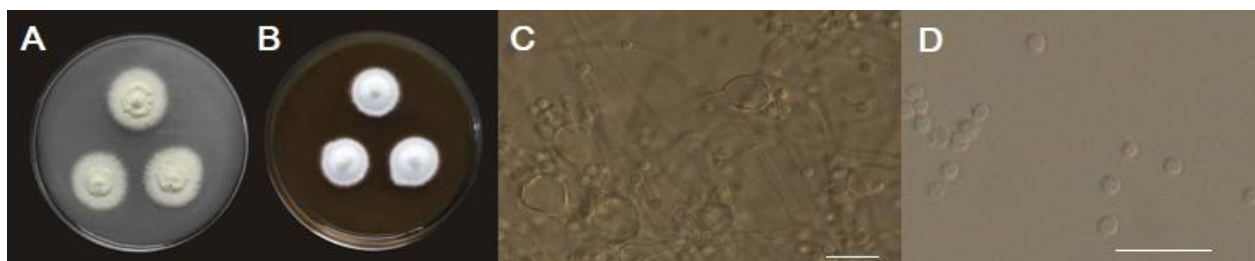


Рисунок 14 Морфология *A. sibiricus*. Колонии на: А – CYA, В – MEA; С – конидиофоры; D – конидии. Отрезок шкалы = 10 мкм.

8.4 Первая находка *Cadophora antarctica* в Арктике. В результате исследования микобиоты угольных отвалов архипелага Шпицберген был изолирован штамм IVA-206. Анализ частичной последовательности гена LSU показал 100% сходство изолята IVA-206 и *C. antarctica* CBS 143035. Анализ региона ITS показал 99% сходства. Морфология изолята также соответствовала морфологии *C. antarctica* (Crous et al. 2017). Таким образом, полученные данные позволили сделать вывод, что изолят IVA-206 относится к виду *Cadophora antarctica* Rodr.-Andrade, Stchigel, Mac Cormack & Cano, и нами был обнаружен вид, который до этого встречался только в Антарктиде.

Глава 9 Физиологические особенности микроскопических грибов угольных отвалов

9.1 Термофильность и термотолерантность микроскопических грибов техногенных экосистем, связанных с добычей угля. В результате исследования было выделено 9 видов микроскопических грибов, которые способны расти при температуре 45 °С и выше. Эти грибы можно классифицировать как термофильные или термотолерантные, в зависимости от оптимальной температуры роста.

9.2 Лигнолитическая активность микроскопических грибов угольных отвалов. Так как уголь структурно подобен лигнину (Hayatsu et al. 1979), комплекс лигнолитических ферментов способен разлагать уголь и участвовать в его деполимеризации (Fakoussa, Hofrichter, 1999). В результате проведенных исследований выявлен 21 вид микромицетов, обладающих лигнолитической активностью. При этом в породных отвалах Шпицбергена было выявлено 15 видов, 10 видов было обнаружено в отвалах Республики Коми и 11 видов – в отвалах Магаданской области. Среди выявленных грибов, обладающих лигнолитической активностью, преобладали темноцветные микромицеты.

9.3 Кислотообразующая активность микроскопических грибов угольных отвалов. В результате проведенных исследований выявлено 26 видов микромицетов, обладающих значительной кислотообразующей активностью. Среди выявленных грибов, обладающих высокой кислотообразующей активностью, подавляющее большинство (19 видов) относилось к роду *Penicillium*.

9.4 Влияние дефицита питательных веществ. При культивировании на жидкой среде с дефицитом разных питательных веществ штаммов *C. antarctica* IVA-206, *C. berkeleyana* IVA-207 и *P. pannorum* IVA-422, самым существенным оказался недостаток фосфора и углерода. Также необходимо отметить, что культивирование на среде с добавлением породы практически не оказывало влияние на накопление биомассы *P. pannorum*.

При анализе метаболома каждого вида при различных условиях дефицита элементов было показано, что наибольшие различия связаны с культивированием на среде с добавлением породы, содержащей уголь. При этом адаптация к культивированию на бедной среде с породой связана с общей группой метаболитов у всех трёх видов. Так, наиболее сильно влияли на кластеризацию данных оксопролин, гипотаурин, стеариновая и пальмитиновая кислоты, а также дигидроурацил.

9.5 Заращение углесодержащей породы микроскопическим грибом *Cadophora antarctica*. Было показано, что микроскопический гриб *C. antarctica*

способен расти со смесью порошкообразного каменного угля и породы в качестве субстрата и источника питательных веществ. При этом наблюдалось прикрепление мелких частиц угольной пыли к клеточной стенке гриба.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования было изучено биоразнообразие микроскопических грибов породных отвалов Шпицбергена, Республики Коми и Магаданской области, а также почв плакорных сообществ данных регионов. Дополнительно, было изучено биоразнообразие отвалов горелых пород этих регионов, а также угольного карьера Республики Алтай. В техногенных экосистемах наблюдалась бедность видового и родового состава. Из техногенных экосистем, связанных с добычей угля, было изолировано 98 видов микроскопических грибов. Всего, в ходе исследования было выделено 132 вида микроскопических грибов. Два из них, *Variabilispora viridis* V.A. Iiushin, I.Y. Kirtsideli & E.G. Lukina и *Aspergillus sibiricus* V.A. Iiushin, оказались новыми для науки видами.

Впервые получены и проанализированы данные о динамике микобиоты хроносерий угольных отвалов, расположенных в различных природных зонах и подзонах Арктики (арктическая тундра, южная тундра и лесотундра).

Во всех трех изученных хроносериях видовое разнообразие, численность и биомасса микроскопических грибов с течением времени в процессе естественной рекультивации отвалов увеличивались, что свидетельствует о развитии более сложных сообществ. Показано, что при этом в угольных отвалах постепенно складывается микобиота, характерная для конкретной природной зоны. Показана зависимость видового разнообразия и показателей численности и биомассы от площади нарушенной территории.

Получены данные о микобиоте техногенных экосистем, связанных с горением породы (отвалы горелых пород Арктики и угольный карьер с локальным возгоранием Республики Алтай). Показано, что эти экосистемы характеризуются крайне низким видовым разнообразием, а также наличием термотолерантных видов в структуре комплексов микромицетов.

Проведены исследования адаптации микроскопических грибов к условиям отвалов. Выявлены термофильные и термотолерантные микромицеты, грибы, обладающие лигнолитическим ферментативным комплексом, а также кислотообразующей активностью. Показаны различия морфолого-культуральных характеристик и метаболомного профиля грибов при дефиците питательных веществ.

Таким образом, полученные данные о видовом разнообразии и формировании сообществ микроскопических грибов техногенных экосистем дают представления о закономерностях сукцессионных процессов, а также географии грибов породных отвалов, возникших в результате добычи угля.

ВЫВОДЫ

1. В результате исследований было выделено 132 вида микроскопических грибов, 98 видов были изолированы из техногенных экосистем, связанных с добычей угля. Определены видовой состав, численность, биомасса и таксономическая структура комплексов микромицетов породных отвалов Шпицбергена, Республики Коми и Магаданской области. Впервые было проведено исследование и сравнение комплексов микроскопических грибов породных отвалов различных природных зон и подзон Арктики. Из породных отвалов Шпицбергена было выделено 49 видов микроскопических грибов, из отвалов Республики Коми – 25 видов, из отвалов Магаданской области – 43 вида.

2. Показана положительная динамика интегральных показателей численности и биомассы, увеличение видового разнообразия микроскопических грибов в хроносерилах угольных отвалов, расположенных в зонах лесотундры, южной и арктической тундры, что свидетельствует о происходящих изменениях в процессе сукцессии и формировании более стабильных комплексов микромицетов.

3. Показано, что в хроносерилах отвалов постепенно формируется микобиота, характерная для природной зоны региона. При этом процессы формирования комплексов микроскопических грибов (включая показатели численности, биомассы и видового разнообразия) связаны с площадью нарушенной территории.

4. Техногенные экосистемы, связанные с возгоранием породы, характеризуются крайне низким видовым разнообразием и наличием термотолерантных видов в структуре комплексов микромицетов. Из отвалов горелых пород было выделено 9 видов микроскопических грибов. Из породы угольного карьера выделено 7 видов.

5. В результате проведенных исследований было выявлено 9 видов термофильных и термотолерантных микромицетов. Выявлен 21 вид микромицетов, обладающих лигнолитическим комплексом ферментов, потенциально способных к биодegradации угля, а также 26 видов микромицетов, обладающих высокой кислотообразующей активностью. Показаны различия морфолого-культуральных характеристик, а также метаболомного профиля грибов, выделенных из породного отвала при дефиците питательных веществ. Метаболомный ответ микроскопических грибов в ходе адаптации к олиготрофным условиям связан с общей группой метаболитов: оксопролином, стеариновой и пальмитиновой кислотой.

6. Виды *Variabilispora viridis* V.A. Iiushin, I.Y. Kirtsideli & E.G. Lukina и *Aspergillus sibiricus* V.A. Iiushin, выделенные в процессе исследования, являются новыми для науки видами.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. **Iiushin, V. A.** *Aspergillus sibiricus* (Aspergillaceae, Eurotiales), a novel acid-tolerant species in *Aspergillus* section *Fumigati* / **V. A. Iiushin** // *Phytotaxa*. - 2022. - Vol. 531, № 1. - P. 63-72.
2. **Iiushin, V. A.** Diversity of culturable microfungi of coal mine spoil tips in Svalbard / **V. A. Iiushin**, I. Y. Kirtsideli, D. Y. Vlasov // *Polar Science*. - 2022. - Vol. 32, 100793.
3. **Iiushin, V. A.** Diversity of microfungi of coal mine spoil tips in the Magadan Region, Russia / **V. A. Iiushin**, I. Y. Kirtsideli, N. A. Sazanova // *Current Research in Environmental & Applied Mycology (Journal of Fungal Biology)*. - 2022. - Vol. 12, № 1. - P. 136-146.
4. Crous, P. W. Fungal Planet description sheets: 1184–1382 / P. W. Crous, E. R. Osieck, Ž. Jurjević, J. Boers, A. L. van Iperen, M. Starink-Willemse, B. Dima, S. Balashov, T. S. Bulgakov, P. R. Johnston, O. V. Morozova, U. Pinruan, S. Sommai, P. Alvarado, C. A. Decock, T. Lebel, S. McMullan-Fisher, G. Moreno, R. G. Shivas, L. Zhao, J. Abdollahzadeh, M. Abrinbana, D. V. Ageev, G. Akhmetova, A. V. Alexandrova, A. Altés, A. G. G. Amaral, C. Angelini, V. Antonín, F. Arenas, P. Asselman, F. Badali, A. Baghela, A. Bañares, R. W. Barreto, I. G. Baseia, J. Bellanger, A. Berraf-Tebbal, A. Yu. Biketova, N. V. Bukharova, T. I. Burgess, J. Cabero, M. P. S. Câmara, J. F. Cano-Lira, P. Ceryngier, R. Chávez, D. A. Cowan, A. F. de Lima, R. L. Oliveira, S. Denman, Q. N. Dang, F. Dovana, I. G. Duarte, A. Eichmeier, A. Erhard, F. Esteve-Raventós, A. Fellin, G. Ferisin, R. J. Ferreira, A. Ferrer, P. Finy, E. Gaya, A. D. W. Geering, C. Gil-Durán, K. Glässnerová, A. M. Glushakova, D. Gramaje, F. E. Guard, A.L. Guarnizo, D. Haelewaters, R. E. Halling, R. Hill, Y. Hirooka, V. Hubka, **V. A. Iiushin**, et al. // *Persoonia*. - 2021. - Vol. 47. - P. 178-374.
5. **Iiushin, V. A.** Dynamics of complexes of microscopic fungi in the process of overgrowing spoil tips of coal mines in the southern tundra zone (Komi Republic) / **V. A. Iiushin**, I. Y. Kirtsideli // *Mikologiya i Fitopatologiya*. - 2021. - Vol. 55, № 2. - P. 129-137.
6. **Iiushin, V. A.** First find of *Cadophora antarctica* Rodr.-Andrade, Stchigel, Mac Cormack & Cano in the Arctic / **V. A. Iiushin** // *Czech Polar Reports*. - 2020. - Vol. 10, № 2. - P. 147-152.
7. Кирцидели, И. Ю. Оценка антропогенной инвазии микроскопических грибов в арктические экосистемы (архипелаг Шпицберген) / И. Ю. Кирцидели, Д. Ю. Власов, М. С. Зеленская, **В. А. Ильюшин**, Ю. К. Новожилов, И. В. Чуркина, Е. П. Баранцевич // *Гигиена и санитария*. - 2020. - Т. 99, № 2. - С. 145-151.

В сборниках, материалах и тезисах конференций

1. **Ильюшин, В. А.** Динамика комплексов микроскопических грибов в процессе зарастания угольных отвалов в условиях Арктики / **В. А. Ильюшин** // *Материалы V (XIII) Международной ботанической конференции молодых учёных в Санкт-Петербурге (25-29 апреля 2022 года)*. - СПб.: БИН РАН, 2022. - С. 134-135.

2. **Ильюшин, В. А.** Потенциально патогенные микромицеты угольных отвалов Магаданской области / **В. А. Ильюшин**, И. Ю. Кирцидели // Проблемы медицинской микологии. - 2022. - Т. 24, № 2. - С. 77.

3. **Ильюшин, В. А.** Динамика комплексов микромицетов в процессе зарастания угольных отвалов угольных шахт в районе г. Воркута / **В. А. Ильюшин** // VII Пуцинская конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов», школа-конференция для молодых ученых, аспирантов и студентов «Генетические технологии в микробиологии и микробное разнообразие»: сборник тезисов. - М.: ГЕОС, 2021. - С. 45-46.

4. Власов, Д. Ю. Влияние антропогенного и орнитогенного факторов на распространение условно-патогенных микромицетов в Арктике / Д. Ю. Власов, И. Ю. Кирцидели, А. Л. Панин, Л. А. Краева, **В. А. Ильюшин**, Е. Г. Лукина // Проблемы медицинской микологии. - 2020. - Т. 22, № 3. - С. 60-61.

5. **Ильюшин, В. А.** Динамика комплексов микромицетов в процессе зарастания породных отвалов угольных шахт в районе г. Воркута / **В. А. Ильюшин** // Пространственно-временные аспекты функционирования биосистем: сборник материалов XVI Международной научной экологической конференции. - Белгород: ИД «БелГУ» НИУ «БелГУ», 2020. - С. 192-193.

6. **Ильюшин, В. А.** Динамика комплексов микромицетов в процессе зарастания породных отвалов угольных шахт архипелага Шпицберген / **В. А. Ильюшин** // Беломорская студенческая научная сессия СПбГУ. Тезисы докладов. - СПб.: Свое издательство, 2020. - С. 19.

7. **Ильюшин, В. А.** Динамика комплексов микроскопических грибов в процессе зарастания угольных отвалов в условиях Арктики / **В. А. Ильюшин**, И. Ю. Кирцидели // Современная микология в России. - 2020. - Т. 8, № 2. - С. 133.

8. **Ильюшин, В. А.** Динамика комплексов микромицетов в процессе зарастания породных отвалов угольных шахт в условиях Арктики (Шпицберген) / **В. А. Ильюшин** // Материалы XIII Региональной молодежной экологической школы-конференции «Природные и культурные аспекты долгосрочных экологических исследований на Северо-западе России», - СПб.: Изд-во ВВМ, 2019. - С. 139-141.

9. **Ильюшин, В. А.** Динамика комплексов микромицетов в процессе зарастания угольных отвалов в условиях Арктики (Шпицберген) / **В. А. Ильюшин**, И. Ю. Кирцидели // Тезисы докладов VII Всероссийской научной конференции с международным участием «Экологические проблемы севера и пути их решения». – Апатиты: Институт проблем промышленной экологии Севера, 2019, - С. 33-34.

10. **Ильюшин, В. А.** Обнаружение активности лигнолитических ферментов у микромицетов угольных отвалов в условиях Арктики (Шпицберген) / **В. А. Ильюшин**, И. Ю. Кирцидели // Материалы Международной научно-практической конференции «Биотехнологии микроорганизмов». - Минск: «Экоперспектива», 2019. - С. 71-73.

11. **Ильюшин, В. А.** Потенциально патогенные микроскопические грибы угольных отвалов в условиях Арктики (на примере архипелага Шпицберген) / **В. А. Ильюшин**, И. Ю. Кирцидели // Проблемы медицинской микологии. - 2019. - Т. 21, №2. - С. 74.