

С.В. ОЛІШЕВСЬКА, В.О. ЗАХАРЧЕНКО

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України вул. Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

ВПЛИВ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА МІКОБІОТУ ГРУНТУ ІСТОРИКО- АРХЕОЛОГІЧНОГО ЗАПОВІДНИКА «ОЛЬВІЯ» (Миколаївська обл.)

Ключові слова: мікроміцети, стародавні ґрунти, іони важких металів.

Виділенням та ідентифікацією мікроскопічних грибів зі стародавніх ґрунтів на сьогодні займається небагато дослідників. Вперше мікроскопічні гриби зі стародавніх ґрунтів були виділені та визначені в 1970-х рр. [25, 27]. Нещодавно Л. Ма зі співавт. [23], а трохи згодом Г.А. Кочкіна зі співавт. [7] охарактеризували гриби, виділені зі стародавніх ґрунтів Арктики та Антарктики. О.Є. Марфеніна зі співавт. [24] дослідили мікобіоту стародавнього ґрунту міських центрів (VII—XIV ст. н.е.) європейської частини Росії та Східної України і порівняли її з видовим складом грибів сучасних ґрунтів. За допомогою методів молекулярної біології авторами доведено, що гриби, виділені зі стародавніх і сучасних ґрунтів, не відрізняються за ITS-послідовностями. Н.Н. Каширська зі співавт. [6] визначили кількість мікробної біомаси із підкурганних палеогрунтів різного віку. Вони встановили, що для ґрунтів віком 5100 років кількість мікробної біомаси досягала 1,85 мг/г, а для сучасного ґрунту — 4,34 мг/г. Загалом, даних щодо вивчення мікобіоти стародавніх ґрунтів недостатньо.

Метою нашої роботи було дослідження впливу іонів важких металів на видовий склад мікроскопічних грибів стародавнього ґрунту історико-археологічного заповідника «Ольвія» (VIII ст. до н.е. — III ст. н.е.).

Матеріал і методи дослідження

Державний історико-археологічний заповідник «Ольвія» (с. Парутіно Миколаївської обл.) розташований у степовій природно-кліматичній зоні України. Каштанові ґрунти вниз по розрізу переходят в лесоподібні суглинки та леси великої щільності. У стародавньому міському ландшафті ґрунти забруднювались в основному відходами металургійного виробництва (переробка міді та бронзи та виготовлення виробів з них). Поширення важких металів мало обмежений, локальний характер, а їх міграція в ґрунті у вертикально-му та горизонтальному напрямках була слабкою.

Влітку 2002 р. безпосередньо на території стародавніх плавильних горнів і на відстані 25 м від них (контроль) на глибині 2,5 м було відібрано 18 зразків ґрунту.

© С.В. ОЛІШЕВСЬКА, В.О. ЗАХАРЧЕНКО, 2004

Кількість валових і рухливих форм важких металів визначали на двопроменевому атомно-абсорбційному спектрофотометрі AA 8500 F, вміст органічного вуглецю — за допомогою кулонометричного вуглецевого аналізатора АН-7200, вміст гумусу та pH ґрунту — за методикою [16]. Наведені дані є середніми значеннями вимірювань 9 зразків ґрунту із забруднених і 9 зразків ґрунту з контрольних ділянок.

Гриби виділяли на агаризовані середовища: Чапека, картопляно-глюкозне та сусло [12]. Повторність дослідів трикратна. Зразки ідентифікували за вітчизняними та зарубіжними визначниками [1, 14, 17–20, 26]. Частоту трапляння грибів, коефіцієнт Соренсена—Чекановського, індекси біорізноманітності Шенона та домінування Симпсона визначали за формулами, наведеними у працях [13, 15].

Результати досліджень та їх обговорення

Значення pH ґрунту становить 8,3, Eh = +210 мВ. Вміст важких металів у ґрунтах наведено в табл. 1. Значення вмісту важких металів у забруднених ґрунтах десятикратно перевищували прийняті в Україні ГДК по міді і свинцю [5]. Вміст валових і рухливих форм цинку досягав значення ГДК. У ґрунтах дослідних та контрольних ділянок вміст $C_{\text{опт}}$ становив, відповідно, 0,81 і 1,95 %, вміст гумусу – 1,3 і 2,75 % (від маси ґрунту). Такі низькі значення, можливо, зумовлені віком ґрунту та глинистою відбором зразків. Наведені дані вказують на деградацію ґрунту внаслідок техногенного забруднення, що позначилося на еколо-фізіологічних особливостях мікроскопічних грибів.

У процесі роботи ми виділили та ідентифікували 160 штамів 62 видів з 32 родів мікроміцетів (табл. 2). Серед них новим для мікобіоти України є *Monodictys asperospora*. У забруднених ґрунтах домінував *Fusarium oxysporum*, у контрольних — *Petromyces alliaeetus* та *Aspergillus ochraceus*. У забруднених ґрунтах часто траплялися п'ять видів мікроміцетів, а в ґрунтах з фоновим рівнем юнів важких металів — вісім видів.

Лише із забруднених ґрунтів були виділені *Oidiodendron cerealis*, *Aureobasidium pullulans*, *Myrothecium verrucaria*, які, за даними Н.М. Жданової і А.І. Василевської [2], є видами-біоіндикаторами важких металів. У цих самих ґрунтах спостерігали підвищену кількість стерильного темнозабарвленого міцелію. За даними літератури [3], характерними видами для ґрунтів із підвищеною концентрацією тяжких металів є:

Таблиця 1. Кількість іонів важких металів у ґрунтах історико-археологічного заповідника «Ольвія»

Іони металів	Валові форми, мг/кг		Рухливі форми, мг/кг	
	Забруднений ґрунт	Контроль	Забруднений ґрунт	Контроль
Cu ²⁺	640,0	53,6	30,7	2,5
Pb ²⁺	562,0	30,0	20,2	2,0
Zn ²⁺	100,0	86,0	25,0	20,0

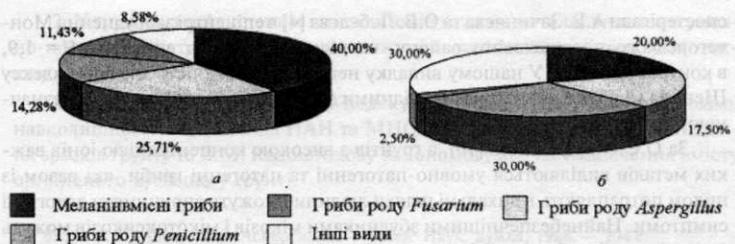
Таблиця 2. Частота трапляння мікроскопічних грибів у стародавніх ґрунтах історико-археологічного заповідника «Ольвія»

№	Назва	Частота трапляння, %	
		техногенно забруднені ґрунти	контроль
<i>Zygomycota, Zygomycetes, Mucorales Mucoraceae</i>			
1	<i>Absidia glauca</i> Hagem	—	11,1
2	<i>Moniliella</i> sp.	—	11,1
3	<i>Mucor</i> sp.	—	11,1
4	<i>Rhizopus stolonifer</i> Ehrenberg	22,2	22,2
<i>Ascomycota, Pyrenomycetes, Sphaeriales, Amphisphaeriaceae</i>			
5	<i>Apiospora montagnei</i> Sacc.	11,1	—
6	<i>Geomyces pannorum</i> (Lk) Sigler et Carmichael	11,1	—
7	<i>Eurotium amstoledami</i> (Mangin) Thom et Church	11,1	—
8	<i>E. herbariorum</i> (Wiggers: Fr.) Link	—	33,3
9	<i>E. rubrum</i> Konig et al.	—	33,3
10	<i>Fennellia flavipes</i> Wiley et Simmons	11,1	22,2
11	<i>Petromyces alliaceus</i> Malloch et Cain	11,1	55,5
<i>Hypocreaceae</i>			
12	<i>Nectria inventa</i> Pethybridge	—	22,2
<i>Chaetomiaceae</i>			
13	<i>Chaetomium globosum</i> Kunze: Steud.	—	33,3
<i>Eurotiales Trichocomaceae</i>			
14	<i>Eupenicillium shearri</i> Stolk et D. B. Scott	—	44,4
15	<i>E. lapidosum</i> D.B. Scott et Stolk	—	11,1
<i>Мітоспорові гриби, Hypocreales, Hypocreales Moniliaceae</i>			
16	<i>Acremonium persicinum</i> (Nicot) W. Gams	—	33,3
17	<i>Aspergillus candidus</i> Lk.	11,1	—
18	<i>A. flavus</i> Raper et Fennell	33,3	11,1
19	<i>A. niger</i> van Tieghem	11,1	—
20	<i>A. ochraceus</i> Wilh.	22,2	77,7
21	<i>A. terreus</i> Thom	33,3	—
22	<i>A. versicolor</i> Bartoli et Maggi	11,1	11,1
23	<i>Geotrichum candidum</i> Lk.: Leman	—	11,1
24	<i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Sams	22,2	11,1
25	<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	—	11,1
26	<i>Penicillium albidum</i> Sopp	—	11,1
27	<i>P. aurantiogriseum</i> Dierckx	—	11,1
28	<i>P. corylophilum</i> Dierckx	11,1	22,2
29	<i>P. expansum</i> Lk.	22,2	—
30	<i>P. janczewskii</i> Zaleski	11,1	22,2

Закінчення таблиці 2

№	Назва	Частота трапляння, %	
		техногенно забруднені ґрунти	контроль
31	<i>P. lanosum</i> Westl.	—	33,3
32	<i>P. simplicissimum</i> (Oud.) Thom	11,1	—
33	<i>P. steckii</i> Zaleski	—	11,1
34	<i>P. thomii</i> Maire	22,2	—
35	<i>P. varians</i> G. Smith	—	11,1
36	<i>P. velutinum</i> van Beyma	—	22,2
37	<i>P. verruculosum</i> Dierckx	—	11,1
38	<i>P. westlingii</i> Zaleski	—	22,2
39	<i>Trichothecium roseum</i> (Per.: Fr.) Lk.	11,1	—
<i>Dematiaceae</i>			
40	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.: Fr.) van Keissler	44,4	—
41	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vr.	33,3	11,1
42	<i>C. sphaerospermum</i> Penzing	—	11,1
43	<i>Humicola fuscoatra</i> Traaen	11,1	—
44	<i>Monodictys asperospora</i> (Cooke et Massee) M.B. Ellis	11,1	—
45	<i>Oidiodendron cerealis</i> (von Thumen) Barron	11,1	—
46	<i>Scopulariopsis brumptii</i> Salvanet—Duval	22,2	11,1
47	<i>Ulocladium atrum</i> Preuss	—	11,1
48	<i>U. botrytis</i> Preuss	11,1	—
49	<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) Arnaud.	11,1	—
<i>Stibellales</i>			
<i>Stibellaceae</i>			
50	<i>Doratomyces microsporus</i> (Sacc.) Morton et G. Smith	—	11,1
51	<i>D. stemonitis</i> (Per.: Fr.) Vuill.	11,1	—
<i>Tuberculariales</i>			
<i>Tuberculariaceae</i>			
52	<i>Fusarium oxysporum</i> (Schlecht.) Snyder et Hans	77,7	44,4
53	<i>F. sambucinum</i> Fuck.	22,2	—
54	<i>F. sambucinum</i> Fuck. var. <i>minus</i> Wr.	11,1	—
55	<i>F. lateritium</i> Nees: Fr.	11,1	—
56	<i>Myrothecium cinctum</i> (Cda) Sacc.	22,2	—
57	<i>M. verrucaria</i> (Albertinit et Schweinitz: Fr.) Ditmar	11,1	—
<i>Agonomycetales</i>			
<i>Agonomycetaceae</i>			
58	<i>Mycelia sterilia</i> (white)	—	33,3
59	<i>Mycelia sterilia</i> (dark)	44,4	11,1
60	<i>Mycelia sterilia</i> (orange)	—	11,1
61	<i>Papulaspora</i> sp.	—	11,1
<i>Coelomycetes, Sphaeropsidales</i>			
<i>Sphaeriidaeae</i>			
62	<i>Phoma fimeti</i> Brunaud	—	22,2

Примітка: «—» — вид гриба у зразках ґрунту відсутній.



Кількісне співвідношення представників різних груп мікроміцетів: а — в забруднених ґрутах, б — у контрольних

The quantity correlation of isolates from different groups of micromycetes from soils: a — industrial soils, b — control soils

щеним вмістом нікелю, міді і заліза є *Penicillium funiculosum*, *Paecilomyces lilacinus* і *Aspergillus terreus*. Перший вид ми не виділили. Частота трапляння двох інших становила 22,2 і 33,3 % відповідно.

У ґрунтах із підвищеним вмістом важких металів спостерігали промислову меланізацію мікобіоти. Кількість меланінімісних грибів досягала 40 %, що удвічі перевищувало це значення на контрольних ділянках (рисунок). Види родів *Fusarium* і *Myrothecium* траплялися лише у забруднених ґрутах — за винятком *F. oxysporum*. У цих же ґрунтах кількість видів роду *Penicillium* була удвічі меншою.

Значне збільшення кількості темнозабарвлених видів, а також грибів зі світлим міцелієм, що не дають спороносення, спостерігали А.Б. Кулько і О.Є. Марфеніна [8] у придорожніх зонах міських автомагістралей, забруднених діоксидом вуглецю та важкими металами. З високою частотою трапляння автори виділяли з цих місць *Alternaria alternata* і *Cladosporium cladosporioides*. Ми також зафіксували ці види з високою частотою трапляння в ґрунтах із підвищеним вмістом важких металів (табл. 2).

Коефіцієнт подібності Сьюренсена — Чекановського при порівнянні видового складу стародавнього чистого та забрудненого ґрунтів становив 34,6 %, що свідчить про достовірну відмінність мікобіот. У забруднених ґрунтах значення індексів Шенона та Симпсона досягало 3,3 і 0,042 відповідно, в контрольних — 3,5 і 0,037. На досліджуваних ділянках спостерігали велику різноманітність видів мікроскопічних грибів, яка зменшувалась зі збільшенням забруднення. За О.Є. Марфеніною та Т.Г. Мірчинк [11], величина індексу Шенона, підрахована на основі частоти трапляння видів, у разі антропогенної дії знижується, а індекс Симпсона збільшується, що узгоджується з нашими даними. О.Є. Марфеніна [9] зазначає, що в дерново-підзолистих ґрунтах, забруднених іонами важких металів, індекс Шенона становив 2,0, в контрольних — 2,6, а при дуже високих дозах важких металів може знижуватися в 1,5 і навіть у 2 рази. Низькі значення індексу Шенона ($H = 1,6$)

спостерігали А.В. Зачиняєва та О.В. Лебедєва [4] в епіцентрі забруднення Мончегорського промислового району, на відстані 5 км від епіцентру $H = 1,9$, в контролі $H = 3,8$. У нашому випадку невелику розбіжність значень індексу Шенона між контрольними і дослідними ділянками можна пояснити незначною відстанню між ними (25 м).

За О.Є. Марфеніною [10], з ґрунтів з високою концентрацією іонів важких металів виділяються умовно-патогенні та патогенні гриби, які разом із пилом потрапляють в дихальні шляхи людини і можуть спричинити алергічні симптоми. Найнебезпечнішими збудниками мікозів і мікотоксикозів можуть бути *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Paecilomyces variotii* та ін. Види-індикатори техногенного забруднення, що призводять до алергічних захворювань, домінували у забруднених ґрутах північно-західного регіону Росії [4], зокрема *Cladosporium cladosporioides*, *P. variotii*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *Penicillium aurantiogriseum*. З цих видів у забруднених ґрутах ми виявили *C. cladosporioides*, *A. terreus* і *A. flavus*, які траплялися з частотою 33,3 %. За даними [22], ці види є найнебезпечнішими, а останній сприяє утворенню злюкісних пухлин.

У літературі є лише незначна кількість праць, присвячених вивченю мікроскопічних грибів стародавніх ґрунтів, що підтверджує актуальність нашої роботи. Так, Н.Є. Іванушкіна зі співавт. [21] виділили та ідентифікували гриби із сучасних і стародавніх ґрунтів, серед яких переважно були представники видів роду *Aspergillus*: *A. alliaceus*, *A. ochraceus*, *A. candidus*, *A. versicolor*, *A. terreus* та ін. Ці мікроміцети ми також виділяли із забруднених і контрольних стародавніх ґрунтів. *Aspergillus alliaceus* віднесений до відділу *Ascomycota* під назвою *Petromyces alliaceus* [20].

Дослідження Г.А. Кочкіної зі співавт. [7] чисельності та видової різноманітності мікроорганізмів і мікроскопічних грибів, виділених з ґрунтів Арктики та Антарктики віком 5 тис.—3 млн. років, показали, що в таких екстремальних умовах організми з темнопігментованим міцелієм чи спорами становили 60 %, що узгоджується з нашими даними. Серед грибів, що траплялися у зразках поодиноко, були види родів *Monodictys*, *Papulaspora*, *Aureobasidium*, *Arthrinium*, *Eurothium*, *Fusarium*, *Oidiodendron*, *Ulocladium* та ін. Ми виділили та ідентифікували до видів представників цих же родів: *M. asperospora*, *Apiospora montagnei*, *E. rubrum*, *E. herbariorum*, *A. pullulans*, *O. cerealis*, *U. botrytis* та *U. atrum*, *F. oxysporum* та ін.

Таким чином, ми вперше ідентифікували 62 види з 32 родів мікроскопічних грибів, виділених зі стародавніх ґрунтів історико-археологічного заповідника «Ольвія», та виявили негативний вплив іонів важких металів на мікобіоту ґрунтів цього типу, який зберігає навіть упродовж 2500 років.

Висновки

- За еколо-фізіологічними властивостями ґрутових грибів вдалося оцінити негативну дію іонів важких металів на довкілля навіть через 2500 років.

2. У ґрунтах з підвищеним вмістом іонів важких металів виявлено умовно-патогенні і патогенні гриби, що можуть спричинювати мікози і мікотоксикози.

Автори висловлюють глибоку подяку співробітникам Інституту геохімії навколошнього середовища НАН та МНС України В.Й. Манічеву за надання зразків ґрунту та В.М. Кадошниковоу за допомогу під час визначення вмісту органічного вуглецю у ґрунті.

1. Билай В.И., Коваль Э.З. Аспергиллы. — Киев: Наук. думка, 1988. — 204 с.
2. Жданова Н.Н., Васильевская А.И. Меланинсодержащие грибы в экстремальных условиях. — Киев: Наук. думка, 1986. — 196 с.
3. Жданова Н.Н., Захарченко В.А., Артышкова Л.В. и др. Состояние микобиоты загрязненных радионуклидами почв зоны отчуждения Чернобыльской атомной электростанции через 14 лет после аварии // Микология и фитопатология. — 2001. — № 6. — С. 1—8.
4. Зашинцева А.В., Лебедева Е.В. Микромицеты загрязненных почв северо-западного региона России и их роль в патогенезе аллергических форм микозов // Микология и фитопатология. — 2003. — № 5. — С. 69—74.
5. Земельні ресурси України / Під ред. В.В. Медведєва, Т.М. Лактіонової. — К.: Аграр. наука, 1998. — 148 с.
6. Каширская Н.Н., Хомутова Т.Э., Демкин В.А. Выделение микробной биомассы из подкурганных палеопочв разного возраста // 8-я Пущинская школа-конф. мол. ученых «Биология — наука XXI века» (Пущино, 17—21 мая 2004 г.): Тез. докл. — Пущино, 2004. — С. 175.
7. Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е., Каравеев С.Г. и др. Микромицеты и актинобактерии в условиях многолетней естественной криоконсервации // Микробиология. — 2001. — № 3. — С. 412—420.
8. Кулько А.Б., Марфенина О.Е. Распространение микроскопических грибов в придорожных зонах городских автомагистралей // Микробиология. — 70, № 5. — С. 709—713.
9. Марфенина О.Е. Реакции микроскопических грибов на загрязнение почв тяжелыми металлами // Биол. науки. — 1989. — № 9. — С. 89—93.
10. Марфенина О.Е. Опасные плесени в окружающей среде // Природа. — 2002. — № 11. — С. 36—43.
11. Марфенина О.Е., Мирчинк Т.Г. Микроскопические грибы при антропогенном воздействии на почву // Почтоведение. — 1988. — № 9. — С. 107—112.
12. Методы экспериментальной микологии / Под ред. В.И. Билай. — К.: Наук. думка, 1982. — С. 432.
13. Мирчинк Т.Г. Почвенная микология. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1988. — 220 с.
14. Новое в систематике и номенклатуре грибов / Под. ред. Ю.Т. Дьякова, Ю.В. Сергеева. — М.: Нац. академия микологии, мед. для всех, 2003. — 496 с.
15. Одум Ю. Экология. — М.: Мир, 1986. — Т. 2. — 376 с.
16. Сергійчук М.Г., Губрій О.В. Дослідження мікрофлори ґрунту: Методичні рекомендації до спецпрактикуму «Грунтова мікробіологія» для студентів біол. фак-ту. — К.: Вид-во Київ. ун-ту, 1993. — 20 с.
17. Booth C. The Genus *Fusarium*. — Kew: Common. Mycol. Inst., 1971. — 237 p.
18. Domsh K.H., Gams W. Compendium of soil fungi. — Lnd. etc.: Acad. Press, 1980. — Vol. I. — 839 p.
19. Ellis M.B. Dematiaceous hyphomycetes. — Kew: Common. Mycol. Inst., 1971. — 608 p.
20. Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification / Ed. by R.A. Samson, J.I. Pitt. — Netherlands, Australia, 2000. — 510 p.

21. Ivanushkina N.E., Kochkina G.A., Demkina T.S. *Aspergillus* spp. in paleosoils of archaeological monuments in the steppe zone of the lower Volga // XIV Congr. of Europ. Mycologists (Katsiveli, Yalta, Crimea, Ukraine, Sept. 22–27, 2003): Abstracts. — Kyiv: St Druk, 2003. — P. 44.
22. Linskens H.F., Jorde W. Systematic der allergologisch relevanten Pilze // Allergologia. — 1999. — 22, N 6. — P. 325–329.
23. Ma L.J., Rogers S.O., Catania C., Starmer W.T. Detection and characterization of ancient fungi entrapped in glacial ice // Mycologia. — 2000. — N 92. — P. 286–295.
24. Marfenina O.E., Ivanova A.E., Kislova E.E., Fomicheva G.M. What do we know about fungi of ancient cultural layers? // XIV Congr. Europ. Mycologists. (Katsiveli, Yalta, Crimea, Ukraine, Sept. 22–27, 2003): Abstracts. — Kiev: St Druk, 2003. — P. 49–50.
25. Pirozynski K.A. Fossil Fungi // Ann. Rev. Phytopathol. — 1976. — N 14. — P. 237–246.
26. Ramirez C. Manual and atlas of the *Penicillia*. — Amsterdam, New York: Elsevier. Biomed. press, 1982. — 874 p.
27. Tiffney B.H., Barghoorn E.S. The soil record of the fungi // Occasional Papers of the Farlow Herbarium. — 1974. — N 7. — P. 1–42.

Рекомендую до друку
І.О. Дудка

Надійшла 30.06.2004

C.B. Олишевская, В.А. Захарченко

Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, г. Київ

ВЛІЯНИЕ ІОНІВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА МІКОБІОТУ ПОЧВ ИСТОРИКО-АРХЕОЛОГИЧЕСКОГО ЗАПОВЕДНИКА «ОЛЬВІЯ» (НИКОЛАЕВСКАЯ ОБЛ.)

Вперше проведен аналіз видового складу грибів зі древніх почв історико-археологіческого заповідника «Ольвія». Видеден новий для мікобіоти України вид *Monodictys asperospora* (Cooke et Massee) M.B. Ellis. В місцях розташування древніх плавильних горнов наблюдали промисленну меланізацію мікобіоти, а також наявність умовно-патогенних алергенных грибів: *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus terreus* та *A. flavus*.

S.V. Olyshevska, V.O. Zakharchenko

D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

THE INFLUENCE OF HEAVY METAL IONS ON THE SOIL MYCOBIOTA FROM HISTORICAL-ARCHEOLOGICAL RESERVE «OLVIYA» (NIKOLAEV REGION)

The mycobiota of ancient soil micromycetes from reserve Olviya was analized at first. *Monodictys asperospora* (Cooke et Massee) M.B. Ellis — the new species for Ukrainian mycobiota — was identified. We have been observed the industrial melanization of mycobiota and presence of pathogenic allergenic fungi: *Cladosporium cladosporioides*, *Aspergillus terreus* and *A. flavus* near the ancient smelting forges.