

Rafał Ogórek^{1*}, Agnieszka Lejman²

¹Zakład Genetyki, Instytut Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Wrocławski

²Katedra Kształtowania Agroekosystemów i Terenów Zieleni, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wpłynęło w grudniu 2014 r.

1. Wstęp. 2. Charakterystyka kompleksu Riese. 3. Metody używane do oceny jakości mikrobiologicznej powietrza. 4. Czynniki środowiskowe wpływające na liczebność grzybów w obiektach podziemnych. 5. Grzyby występujące w powietrzu wybranych obiektów kompleksu Riese. 6. Potencjalny szkodliwy wpływ grzybów wyizolowanych z powietrza wybranych obiektów kompleksu Riese na zdrowie ludzi. 7. Podsumowanie

Speleomycological research in the selected objects of underground Riese complex (Sowie Mountains, Lower Silesia, Poland)

Abstract: The term „speleomycology” was first introduced by Polish scientists in 2014 and it is now used to describe all kinds of investigations which aim at the recognition of cave and underground mycobiota. Microbiological quality of air is estimated by using microscopic or culture methods. In the underground objects, the culture method with a microbiological air sampler (collision technique) is commonly used. Most fungi can be found underground as spores, which entered the objects transported by air or water currents, by animals living in the caves (e.g. bats, arthropods) or by humans visiting the objects. However, the environment surrounding the underground objects and the air currents seem to have the most significant influence on fungi concentrations inside the objects. Riese complex was built between 1943–1945 in the Sowie Mts. (Lower Silesia, SW Poland), but its purpose still remains unclear. Fungi isolated from the air of the studied objects (i.e. Osówka, Rzeczka, Włodarz) can cause allergies and infections in humans. However, fungal spore concentration and number of species in Riese complex do not exceed norms of microbiological quality of air and, thus, do not present a health risk to the tourists.

1. Introduction. 2. Characteristics of the Riese complex. 3. Methods used for assessing the microbiological quality of air. 4. Environmental factors affecting the number of fungi in underground objects. 5. Airborne fungi occurring in the selected objects of underground Riese complex. 6. The potential harmful effect of airborne fungi isolated from the selected objects of Riese complex on human health. 7. Summary

Słowa kluczowe: podziemny kompleks Riese, metody badań, powietrze, speleomikologia

Key words: underground Riese complex, research methods, air, speleomycology

1. Wstęp

Badania mikologiczne obiektów podziemnych prowadzone są od lat sześćdziesiątych ubiegłego stulecia [4, 6, 11]. Jednakże pojęcie „speleomikologia” zostało po raz pierwszy użyte w literaturze światowej przez polskich naukowców w roku 2014. Oznacza ono całość badań naukowych mających na celu poznanie mikroflory jaskiń i innych obiektów podziemnych (sztolnie, kopalnie, bunkry, tunele itp.). Speleomikologia obejmuje badania składu gatunkowego, liczebności zarodników i innych organów tworzących kolonie grzybów zasiedlających skały, wodę, powietrze, materię organiczną oraz czynników wpływających na występowanie grzybów w obiektach podziemnych [57].

Ekosystem obiektów podziemnych w porównaniu do innych środowisk jest bardzo specyficzny i mało korzystny dla rozwoju mikroorganizmów. Panuje w nim stała niska temperatura i mała dostępność materii organicznej oraz światła. Dlatego większość grzybów w obiektach podziemnych występuje w postaci zarodników i rzadko spotykany jest aktywny wzrost grzybów

[15, 49, 53, 56, 57]. Każdy obiekt podziemny można podzielić na trzy strefy w zależności od dostępu światła i panującej temperatury. Pierwsza z nich to strefa mroku, w której występuje zwykle najwięcej grzybów i znajduje się w strefie wejściowej do obiektu. W drugiej strefie zwanej środkową, panuje względna ciemność i zmienna temperatura. Natomiast trzecia strefa zwana ciemną, charakteryzuje się brakiem dostępu światła i stałą niską temperaturą. Zwykle z niej izoluje się najmniej grzybów [29, 53].

W badaniach oceny mikologicznej powietrza wykorzystuje się metodę mikroskopową i hodowlaną. W metodzie mikroskopowej jest możliwość wykrywania w powietrzu żywych i martwych mikroorganizmów oraz można zaobserwować inne zanieczyszczenia biologiczne np. pyłki i roztacza. Jednakże w metodzie tej występują trudności w identyfikacji gatunkowej mikroorganizmów. W metodzie hodowlanej można wykryć tylko mikroorganizmy żywe, ale nie ma trudności w ich identyfikacji gatunkowej [27].

Powietrze atmosferyczne w porównaniu do gleby i wody jest środowiskiem nieprzyjaznym dla życia i roz-

* Autor korespondencyjny: Zakład Genetyki, Instytut Genetyki i Mikrobiologii, Uniwersytet Wrocławski, ul. Przybyszewskiego 63/77, 51-148 Wrocław; tel. 511078318; e-mail: rafal-ogorek@wp.pl

woju mikroorganizmów, jednak zachowują one w nim swój potencjał infekcyjny. Najczęściej jest ono miejscem okresowego ich przebywania [27].

Drobnoustroje w powietrzu występują w postaci bioaerozoli, czyli układów zawierających fazę rozpraszającą w postaci powietrza oraz fazę rozproszoną składającą się z materiałów biologicznych (wirusy, pierwotniaki, komórki bakteryjne, fragmenty komórkowe roślin i zwierząt, fragmenty grzybni grzybów, zarodniki, metabolity wtórne mikroorganizmów) [5, 21]. Bioaerozole stanowią około 5–34% zanieczyszczeń powietrza wewnętrznego, a ich faza rozproszona zazwyczaj jest o średnicy 0,3–100 μm [63]. Przykładowo, pojedyncze komórki i zarodniki przetrwalnikowe bakterii są wielkości od 0,5 do 2,0 μm (*Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Xanthomonas* spp.), zarodniki grzybów mają większe rozmiary, np.: 2,8–3,2 μm *Trichoderma harizanum*, 3,0–4,5 μm *Aspergillus niger*, 3,5–5,0 μm *Aspergillus fumigatus*, 5,0–8,0 μm *Cladosporium macrocarpum*, 7,0–17,0 μm *Penicillium brevicompactum*, a 15,0–25,0 μm *Epicoccum nigrum* [36].

Składniki biologiczne powietrza mogą niekorzystnie wpływać na zdrowie ludzi i zwierząt. Pod względem działania chorobotwórczego, można je podzielić na: czynniki wywołujące choroby zakaźne i inwazyjne (np. wirusy, bakterie, grzyby), alergeny biologiczne (np. cząstki roślinne i zwierzęce), toksyny biologiczne (np. endotoksyna bakteryjna, miktotoksyny), czynniki rakotwórcze (aflatoksyny – toksyny o właściwościach rakotwórczych, wytwarzane głównie przez *Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus*) oraz biologiczne wektory, czyli stawonogi np. kleszcze i komary, przenoszące zarazki chorób transmisyjnych [21].

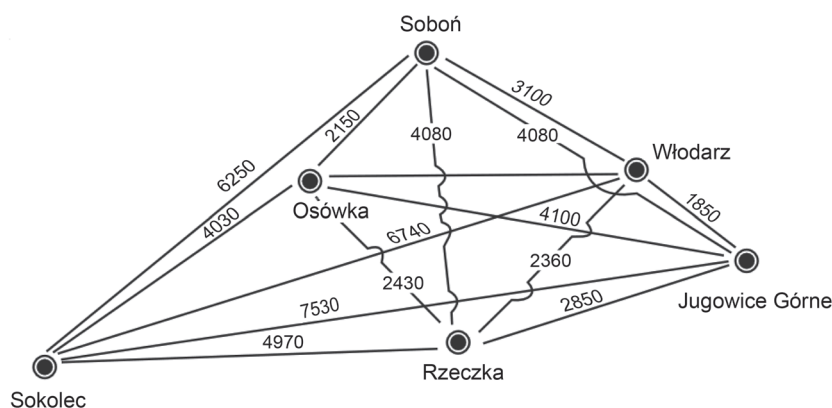
2. Charakterystyka kompleksu Riese

Kompleks Riese znajduje się w Górach Sowich. Łańcuch górski ma długość około 25 km i obejmuje teren na wschód od Wałbrzycha, o powierzchni około

300 km². Najwyższym szczytem tego pasma jest Wielka Sowa (1015 m n.p.m.). Jest to masyw górski o małym zaludnieniu, jedynie na jego obrzeżach znajdują się liczne miasta, wioski i osiedla [68].

Budowę kompleksu Riese rozpoczęto w roku 1943, pod specjalnie zakodowanym symbolem „S3”. Pod tym symbolem figurowały kwatery główne i fabryki broni specjalnego znaczenia. Ponadto, potężne fundamenty żelbetowe w niektórych wyrobiskach wskazują, że prawdopodobnie miały być budowane w nich duże maszyny produkcyjne. Do budowy kompleksu wykorzystywano więźniów, w przeważającej liczbie Żydów, których rychła śmierć miała zapewnić utrzymanie tajemnicy konstrukcyjnej. Byli oni rozmieszczeni w obozach, w pobliżu miejsc pracy. Sieć tych obozów została nazwana kryptonimem Arbeitslager Riese i była częścią sieci podobozów Gross-Rosen. Nadzór nad tajemniczym projektem prowadzili górnicy z Niemiec oraz specjaliści z Włoch, Czech i Ukrainy [30]. Rozmieszczenie obiektów w kompleksie Riese i odległości między nimi przedstawia Rys. 1.

Obecnie dane literaturowe donoszą o badaniach speleomikologicznych w trzech obiektach kompleksu Riese (Osówka, Rzecznka, Włodarz), które są komercyjnie dostępne do zwiedzenia dla turystów [48, 49, 57]. Jednym z nich jest Osówka z niemieckiego Säuerhöhen, która jest drugim najbardziej zaawansowanym pod względem górniczym obiektem z kompleksu Riesen. Całkowita długość tuneli wynosi 1700 m, a kubatura 30 000 m³. Podziemia zawierają m.in. trzy sztolnie, z których najdłuższa ma około 450 metrów. Jedna z nich posiada tamy z cegły, które utrzymują wodę w tunelu [30, 57]. Obiekt Rzecznka z niemieckiego Dorfbach, potocznie zwany także lochami walimskimi, znajduje się między wioską Rzecznka i Walim. Składa się on z trzech wejść wykutych w skałach wschodniego zbocza wzniesienia Ostra, prowadzących do równoległych sztolni oddalonych od siebie o około 45 m. Między nimi usytuowane są duże hale. Długość tuneli kompleksu Rzecznka wynosi 500 m, a kubatura 14 000 m³.



Rys 1. Rozmieszczenie obiektów wchodzących w skład kompleksu Riese i odległości w metrach między nimi

Nad ziemią zbudowano główną centralę telefoniczną, której węzeł był większy niż Wrocławski czy Legnicki [30, 49]. Obiekt Włodarz z niemieckiego Wolfsburg, ma łączną długość tuneli 3 024 m, o kubaturze 42 000 m³. Ten olbrzymi kompleks został wybudowany w masywie góry Włodarz, prowadzą do niego trzy wejścia od strony północno-wschodniej i jedno od strony północnej. Całość kompleksu to duża ilość korytarzy przecinających się pod kątem prostym i tworzących siatkę. Dodatkowo istnieje w nim, jedna z największych, nieukończonych hali. Prawdopodobnie w nieosiągalnej dziś głębi obiektu zamordowano wiosną 1945 roku kilka tysięcy więźniów pracujących przy jego budowie. Około 1/3 obiektu jest zalana wodą [28, 30, 48].

3. Metody używane do oceny jakości mikrobiologicznej powietrza

Historia badań jakości biologicznej powietrza sięga początku XX wieku, kiedy wzrosło zagrożenie związane z użyciem broni mikrobiologicznej [27]. Jednakże już w starożytności Hipokrates napisał w swoim dziele *Corpus Hippocraticum: Gdy powietrze jest zainfekowane zanieczyszczeniami wrogimi dla rasy ludzkiej, człowiek staje się chory* [32]. Obecnie w badaniach jakości mikrobiologicznej powietrza, wykorzystuje się głównie metodę hodowlaną, choć istnieje także metoda mikroskopowa.

W metodzie mikroskopowej używa się filtry membranowe lub szkiełka powleczone substancją lepka do wyłapania mikroorganizmów z powietrza. Jej zaletą w porównaniu do metody hodowlanej jest możliwość wykrywania w powietrzu żywych i martwych mikroorganizmów oraz trudno wzrastających na pożywkach. Dodatkowo można zaobserwować inne zanieczyszczenia biologiczne np. pyłki i roztacza. Jednakże w metodzie tej występują trudności w identyfikacji gatunkowej mikroorganizmów [27].

Metoda hodowlana polega na wyłapaniu mikroorganizmów w sposób bierny lub czynny z powietrza na szalki Petriego z podłożem hodowlanym, które następnie poddaje się inkubacji. Wyrosłe kolonie zlicza się i identyfikuje morfologicznie przy użyciu kluczy diagnostycznych lub genetycznie przez sekwencjonowanie odcinków rDNA ograniczonych np. u grzybów starterami ITS (*Internal Transcribed Spacer* / wewnętrzne sekwencje transkrybowane). Wyniki są podawane w liczbie jednostek tworzących kolonie w 1 m³ powietrza (jtk/m³) z angielskiego colony forming units (CFU/m³) [43, 56]. W metodzie tej, wykrywa się tylko komórki żywe i zdolne do aktywnego wzrostu na danej pożywce [27]. Badany materiał można pozyskiwać z powietrza w sposób bierny przez sedymentację lub czynny przez mechaniczne wyłapanie mikroorganizmów (filtracja,

zderzeniowo, odśrodkowe). W metodzie hodowlanej rodzaj zastosowanego podłoża oraz temperatura inkubacji (mikroorganizmy mają różne temperatury optymalne dla swojego wzrostu i rozwoju) wpływają na liczebność i skład gatunkowy mikroorganizmów. Podłoża Sabourauda (Sabouraud Agar, glukoza 4%, agar 2%, pepton 1%) i PDA (Potato Dextrose Agar) wykazują porównywalną przydatność do izolacji grzybów z powietrza. Natomiast pożywka Czapek-Dox Agar (1,2% agaru) jest najlepsza do izolacji grzybów drożdżakowych, w tym patogenicznych dla ludzi, a na podłożu maltozowym (Malt Extract Agar) uzyskuje się najmniejszą liczebność i skład gatunkowy grzybów [41, 42].

Metoda sedymentacyjna Kocha polega na ekspozycji szalki Petriego z podłożem przez 30 minut na wysokości 1 metra od podłogi. Następnie po inkubacji, mikroorganizmy zlicza się i identyfikuje. Do obliczenia stężenia mikroorganizmów w powietrzu wykorzystuje się założenie, że w ciągu 5 minut na powierzchni równej 1 m² osiada tyle drobnoustrojów, ile znajduje się ich w 1 m³ powietrza (w warunkach bezwietrznych i bez przeciągów) [67]. Można zastosować także wzór [37]: $X = a \times 100 \times 100 / \pi r^2 \times 0,2 \times t$, gdzie: X – ilość kolonii mikroorganizmów w 1 m³ powietrza, πr^2 – pole powierzchni szalki Petriego w cm²; 0,2 – współczynnik przeliczeniowy, uwzględniający, że w ciągu 5 minut na szalkę spadają wszystkie zarodniki z wysokości 1 m; t – czas ekspozycji w minutach. Metoda ta ze względu na samoistne osiadanie cząstek bioareolu na powierzchni pożywki posiada wiele wad. Dla wielu cząstek, nie sprawdza się założenie tej metody, ponieważ szybkość osadzania cząstek zależy od wielu czynników, takich jak: rozmiary, waga, ładunek elektrostatyczny, wilgotność, ruch powietrza np. przy użyciu tej techniki nie wykrywa się najmniejszych składników bioareolu, które osiadają bardzo wolno lub w ogóle nie ulegają sedymentacji. Metodę sedymentacyjną można stosować tylko w obiektach, gdzie nie ma ruchów powietrza, dlatego nie można jej używać np. w pomieszczeniach klimatyzowanych. Metoda ta jest prostota, szybka i mało kosztowana, ze względu na brak w niej specjalistycznych próbników powietrza. Jednakże powinno się ją stosować tylko w badaniach wstępnych [27].

W metodzie mechanicznej, czyli czynnej wykorzystuje się urządzenia pozwalające na mechaniczne oddzielenie zanieczyszczeń z pobranej próbki powietrza. Dzięki temu wzrasta dokładność badań i niweluje się wady metody sedymentacyjnej. Próbki powietrza zawierają praktycznie wszystkie zanieczyszczenia niezależnie od ich właściwości fizykochemicznych oraz warunków panujących podczas prowadzenia pomiarów.

Metoda filtracyjna polega na przepuszczeniu próbek powietrza przez filtr, na którym zatrzymują się zanieczyszczenia mikrobiologiczne. Po przeniesieniu filtra na powierzchnię pożywki w szalce Petriego, poddaje



Rys. 2. Wygląd aparatu podczas badań mikologicznych powietrza w jaskini Driny (Słowacja), próbnik ustawiono na pobór 150 litrów powietrza (fot. R. Ogórek)

się go inkubacji, a następnie zlicza wyrosłe kolonie [27]. Obecnie najczęściej stosowaną techniką jest metoda zderzeniowa z wykorzystaniem specjalnych próbników do poboru próbek powietrza – Rys. 2. Aparaty wymuszają przepływ ustawionej uprzednio objętości powietrza przez otwory w nasadkach, pod którymi znajduje się pożywka w płytce Petriego. Powietrze przepływające z dużą prędkością, uderza w powierzchnię pożywki i zmienia kierunek ruchu. Na skutek tego drobnoustroje wypadają z prądu powietrza i osiadają na powierzchni pożywki [67]. Następnie zainfekowaną pożywkę poddaje się inkubacji i zlicza się liczbę wyrosłych kolonii. Stężenie mikroorganizmów w powietrzu (jtk/m^3 powietrza) oblicza się ze wzoru [47]: $X = (a \times 1000) / V$, gdzie: X – ilość kolonii mikroorganizmów w 1 m^3 powietrza, a – suma kolonii mikroorganizmów, które wyrosły na płytce pobranej próbki powietrza atmosferycznego, V – objętość pobranego powietrza atmosferycznego w litrach. Wadą tej metody jest możliwość zarastania pożywek w przypadku silnego zanieczyszczenia powietrza, a także spadek żywotności drobnoustrojów spowodowany stresem środowiskowym w wyniku nagłego uderzenia mikroorganizmu o pożywkę [27]. Ponadto, w tych samych warunkach środowiskowych przy użyciu kilku mierników różnych producentów można uzyskać różne stężenie drobnoustrojów w powietrzu. Jednakże różnice mogą osiągać maksymalnie 90 jtk w 1 m^3 powietrza i są istotne tylko dla obiektów słabo zanieczyszczonych przez mikroorganizmy np. pomieszczenia szpitalne itp. [31]. Zaletą metody zderzeniowej jest możliwość wykorzystania jej do kontroli powietrza na zawartość wirusów [27]. Ponadto metodą tą, szybko i prosto pobiera się próbki powietrza, co umożliwia wykonanie znacznej liczby badań w ciągu jednego dnia. Aparaty do poboru powietrza są niewielkie, co ułatwia badania wykonywane w trudnych warunkach jakie występują w obiektach podziemnych [67]. Metoda

odśrodkowa polega na nadaniu powietrzu prędkości przez wentylator odśrodkowy, na obwodzie którego znajduje się pożywka w postaci paska z podłożem wychwytyjącym zanieczyszczenia. Następnie zainfekowaną pożywkę poddaje się inkubacji i zlicza się liczbę wyrosłych kolonii [27].

Najlepszym sposobem badań speleomikologicznych jest metoda mechaniczna z wykorzystaniem techniki zderzeniowej z użyciem próbników powietrza. Dlatego, że obiekty podziemne charakteryzują się specyficznymi warunkami mikrolitycznymi (m.in. ruchy powietrza, wilgotność) oraz trudną dostępnością (m.in. wąskie strzeliiny, korytarze).

4. Czynniki środowiskowe wpływające na liczebność grzybów w obiektach podziemnych

Grzyby w obiektach podziemnych występują głównie w postaci zarodników, z powodu specyficznego mikroklimatu panującego w nich i małej dostępności składników organicznych [49, 53, 56, 57]. Rzadko spotykany jest aktywny wzrost grzybów w obiektach podziemnych. Jeżeli już występuje to głównie na martwych lub hibernujących nietoperzach, gryzoniach, stawonogach, odchodach i materii naniesionej z zewnątrz np. osady [26, 33, 38, 66].

Liczebność grzybów w powietrzu na zewnątrz obiektów podziemnych jest większa niż wewnątrz nich – Tabela I. Zarodniki grzybów nanoszone są do wnętrza obiektów podziemnych przez prądy powietrza ze środowiska zewnętrznego, stawonogi, ludzi, nietoperze, wodę i osady przedostające się szczelinami z zewnątrz [7, 26, 33, 39, 43, 48, 49, 54, 56, 57]. Jednakże, najważniejszym czynnikiem wpływającym na stężenie grzybów w obiektach podziemnych jest ich otoczenie zewnętrzne (wysokość położenia obiektu n.p.m., roślinność itp.), pora roku i obecność ruchów powietrza, które przenoszą zarodniki do wnętrza obiektu przez jego otwory np. wejściowe, wyjściowe, kominy wentylacyjne itp. [40, 44, 48, 56, 57]. Z tego powodu najwięcej grzybów z powietrza obiektów podziemnych izoluje się w tzw. strefie mroku, czyli częściach obiektów mających największy

Tabela I

Liczba jednostek tworzących kolonie grzybów w 1 m^3 powietrza, izolowanych z poszczególnych obiektów kompleksu Riese, opracowano na podstawie [48, 49, 57]

Obiekt	Na zewnątrz obiektu	Wewnątrz obiektu – wartość średnia ze wszystkich punktów pomiarowych
Osówka	347,0	114,0
Rzeczka	1332,6	586,9
Włodarz	1115,9	380,8

kontakt ze środowiskiem zewnętrznym (przy wejściach, wyjściach, kominach wentylacyjnych) [48, 49, 57].

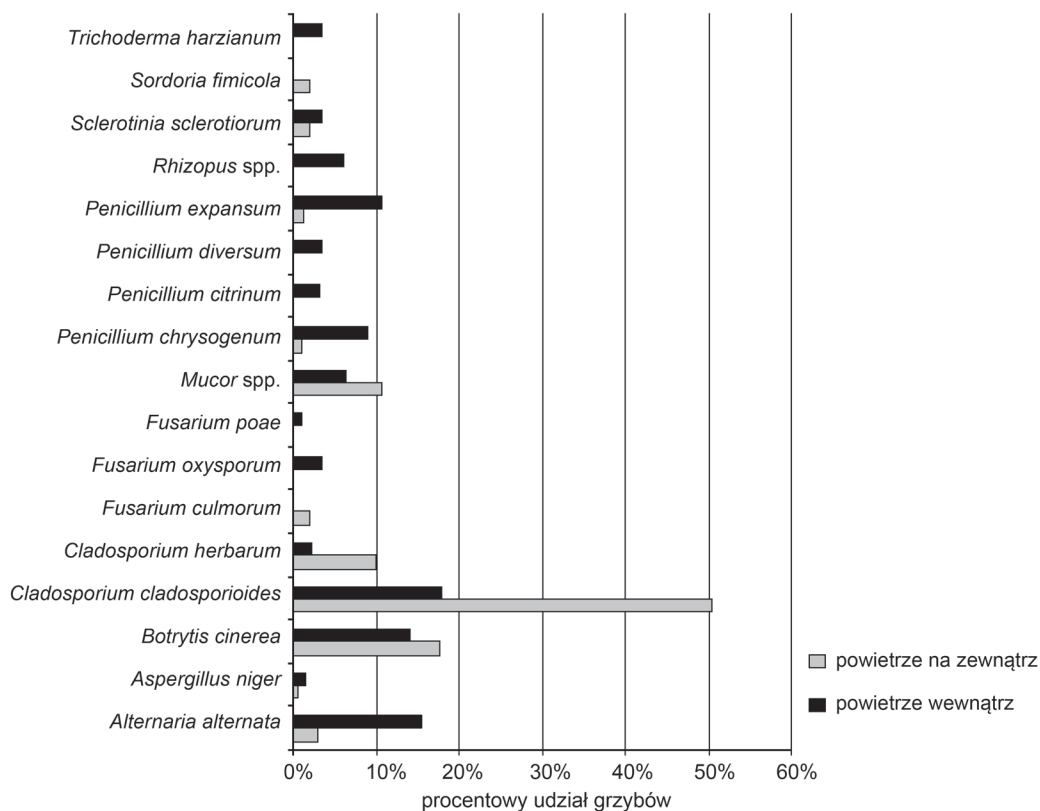
W znacznym stopniu także działalność człowieka zaburza naturalny ekosystem obiektów podziemnych. Może prowadzić do wzbogacania środowiska w materię organiczną i nieorganiczną pozostawioną przez turystów, do zmian pierwotnego mikroklimatu (wzrost temperatury, stężenia dwutlenku węgla), a także do wnoszenia nowych mikroorganizmów i zagęszczenia gleby [7, 8, 54]. W szczególności ważny jest aspekt wnoszenia nowych mikroorganizmów, ponieważ głównie są to patogenne dla ludzi i zwierząt grzyby strzępkowe i drożdżopodobne [7, 16].

5. Grzyby występujące w powietrzu wybranych obiektów kompleksu Riese

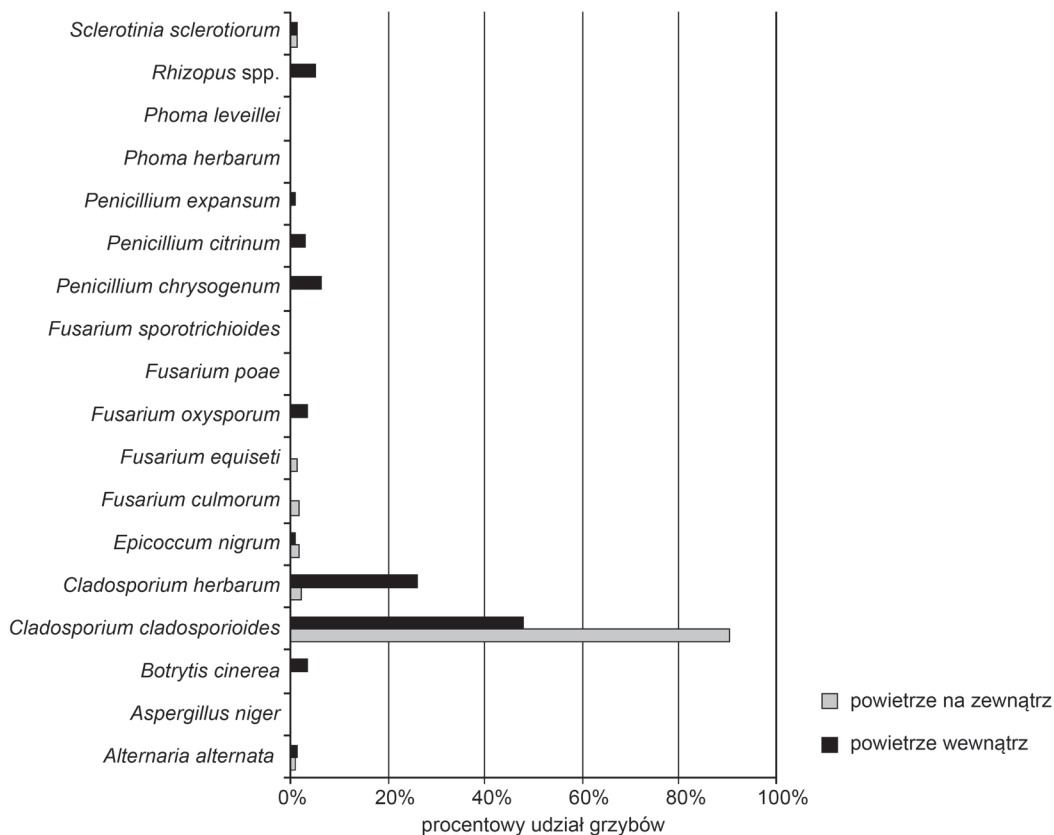
Badania spelomikologiczne w kompleksie Riese zostały przeprowadzone w okresie letnim (czerwiec, lipiec) 2013 roku przy użyciu techniki zderzeniowej z próbnikiem powietrza Air Ideal 3P i podłożem PDA [48, 49, 57]. W sumie z powietrza na zewnątrz i wewnątrz wybranych obiektów (Osówka, Rzecznka, Włodarz) wyizolowano 26 gatunków grzybów. W tym na zewnątrz obiektu Osówka i Rzecznka po 11 gatunków, Włodarz 12, a wewnątrz obiektu Osówka 14 gatunków, Rzecznka 16 i Włodarz 15 – Rys. 3, 4, 5.

Gatunki *Acremonium strictum* i *Fusarium sporotrichioides* były izolowane tylko z powietrza na zewnątrz obiektów, a *F. avenaceum*, *Penicillium diversum*, *P. waksmanii*, *Phoma herbarum*, *P. leveillei* i *Trichoderma harzianum* wyłącznie ze środka obiektów. W przypadku wszystkich obiektów z powietrza na zewnątrz izolowano gatunki: *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *C. herbarum* i *Sclerotinia sclerotiorum*, a wewnątrz obiektów: *Botrytis cinerea*, *C. cladosporioides*, *C. herbarum*, *F. oxysporum*, *P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *Rhizopus* spp. i *S. sclerotiorum*. Natomiast grzyby takie jak: *A. strictum*, *Aspergillus niger*, *Mucor* spp., *P. chrysogenum*, *P. expansum*, *Rhizopus* spp., *Sordaria fimicola* i *Ulocladium alternariae* były izolowane wyłącznie z powietrza na zewnątrz wybranych obiektów, a *F. avenaceum*, *P. waksmanii*, *S. fimicola*, *T. harzianum* i *U. alternariae* tylko z powietrza wewnątrz wybranych obiektów – Rys. 3, 4, 5.

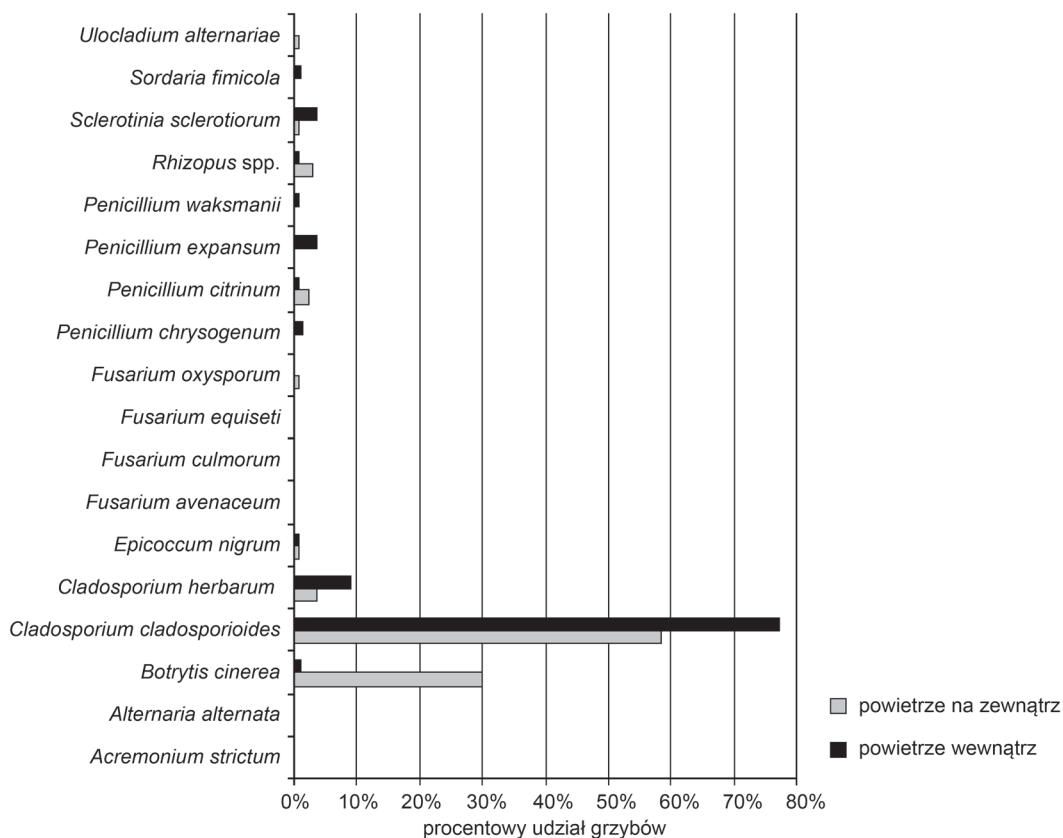
Gatunek *C. cladosporioides* był najliczniej izolowany z powietrza na zewnątrz i wewnątrz wybranych obiektów kompleksu Riese – Rys. 3, 4, 5. Grzyby z rodzaju *Cladosporium*, a w szczególności gatunki *C. cladosporioides* i *C. herbarium* (Rys. 6), dominują w atmosferze na terenie Europy [17, 45, 46, 55]. W warunkach Polskich w zależności od pory roku i rodzaju podłoża hodowlanego w górach można izolować z powietrza od 50 do 85% grzybów z tego rodzaju [40]. Ważną grupą izolowaną z powietrza kompleksu Riese są grzyby



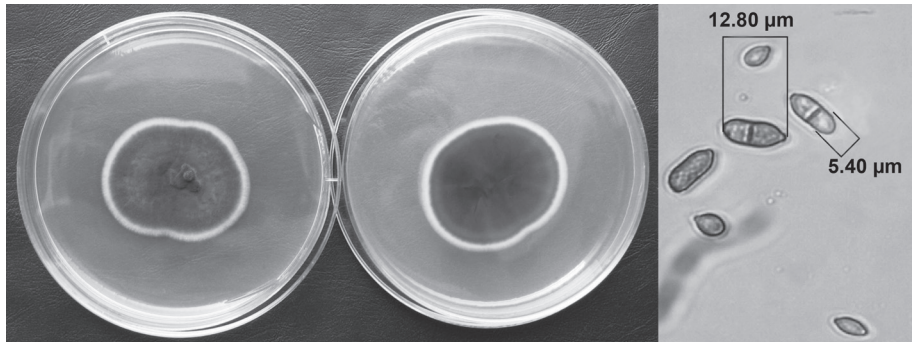
Rys. 3. Skład procentowy grzybów izolowanych z powietrza na zewnątrz i wewnątrz obiektu Osówka, opracowano na podstawie [57]



Rys. 4. Skład procentowy grzybów izolowanych z powietrza na zewnątrz i wewnątrz obiektu Rzecznka, opracowano na podstawie [49]



Rys. 5. Skład procentowy grzybów izolowanych z powietrza na zewnątrz i wewnątrz obiektu Włodarz, opracowano na podstawie [48]



Rys. 6. Hodowla *Cladosporium herbarum* w szalce Petriego z podłożem PDA i wygląd zarodników pod mikroskopem przy powiększeniu 40x (fot. R. Ogórek)

z rodzaju *Penicillium*. Są to mikroorganizmy kosmopolityczne, powszechnie występujące w powietrzu, wodzie, ziemi oraz na zwierzętach i roślinach w wielu częściach świata [24, 61].

6. Potencjalny szkodliwy wpływ grzybów wyizolowanych z powietrza wybranych obiektów kompleksu Riese na zdrowie ludzi

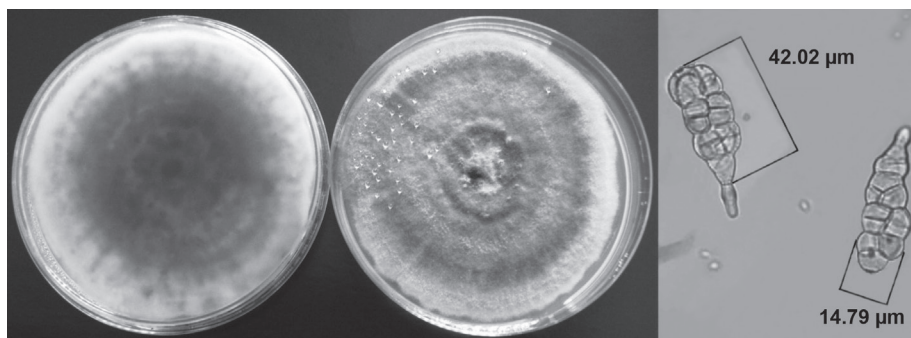
Grzyby podobnie jak inne mikroorganizmy odgrywają w ekosystemie obiektów podziemnych bardzo ważną rolę m.in. destruentów rozkładających materię organiczną [9, 34, 65]. Prawdopodobnie są także pokarmem dla organizmów żyjących w obiektach podziemnych m.in. owadów [38]. Jednakże one i ich metabolity wtórne mogą stwarzać zagrożenie dla zdrowia zwierząt i osób przybywających w obiektach podziemnych [12, 60].

Zarodniki grzybów należą do najliczniej reprezentowanych cząstek biologicznych w powietrzu atmosferycznym, swą liczebnością znacznie przewyższają liczbę ziarn pyłku obecnego w powietrzu. Najczęściej grzyby są przyczyną alergii, które powodowane są przede wszystkim przez wysiew ich zarodników i mogą objawiać się w postaci: alergii pokarmowej, alergii kontaktowej, uczulenia na antybiotyki czy też reakcji o charakterze alergicznym w przypadku istniejących w organizmie ognisk zakażenia grzybiczego [35, 59]. Objawy organizmu ze strony układu oddechowego spowodowane odpowiedzią na alergen grzybowy są znacznie silniejsze niż na inne alergeny powszechnie występujące w środowisku. Najprawdopodobniej spowodowane jest to tym, że grzyby poza alergizującymi białkami, posiadają dodatkową zdolność rozmnażania się i infekowania skóry oraz kolonizowania układu oddechowego [18]. Ponadto mogą syntetyzować różne substancje w postaci: niealergizujących toksyn i enzymów, lotnych związków organicznych oraz niebiałkowych komponentów ścian komórkowych (glukan i chityna) [10, 20, 50]. Dodatkowo mogą występować zwłaszcza u chorych na przewlekłą astmę, krzyżowe

reakcje autoimmunologiczne spowodowane wysoką homologią antygenów grzybów do niektórych ludzkich białek. Uwzględniając wszystkie wymienione mechanizmy, wysunięto hipotezę, że uszkadzające działanie grzybów w drogach oddechowych wiąże się z równoległym indukowaniem zapalenia alergicznego oraz uszkodzeniem komórek nabłonka oddechowego przez działanie niealergizujących białek i toksyn [62].

Wśród grzybów wyizolowanych z powietrza kompleksu Riese, znalazły się zarówno mikroorganizmy wywołujące ciężkie schorzenia, jak i te będące alergenami. Do pierwszej grupy zalicza się przede wszystkim grzyby z rodzajów: *Aspergillus* (aspergiloza płuc, zatok, rogówki, oczodołu, skóry, paznokci, przewodu słuchowego zewnętrznego), *Rhizopus* (mukormikoza płuc, zatok) oraz *Fusarium* (uogólniona fusarioza) [1, 2, 14, 64]. Drugą grupę stanowią patogeny będące alergenami, przynależą tu zarówno grzyby zaliczane do grupy pierwszej, jak i grzyby z rodzajów: *Alternaria*, *Acremonium*, *Cladosporium* oraz *Penicillium* [3, 51]. Ponadto, grzyby te mogą wydzielać różnego rodzaju mikotoksyny, antybiotyki i halucynogeny, które wchodzi w skład bioaerozolu. Wdychanie ich może prowadzić do zaburzeń w działaniu układu immunologicznego, neurologicznego czy też do różnego rodzaju zatruc [13].

Z dostępnych badań epidemiologicznych wynika, iż grzyby z rodzajów *Alternaria* i *Cladosporium*, a w dalszej kolejności *Penicillium* i *Aspergillus* są najczęstszą wśród alergenów grzybowych przyczyną alergii wziewnej. W dalszej kolejności należy wymienić grzyby z rodzaju *Mucor*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Pullularia*, *Curvularia*, *Phoma* i *Rhizopus* [35]. Dlatego najważniejsza dla osób uczulonych jest zawartość w powietrzu grzybów z rodzaju *Alternaria* i *Cladosporium*. W powietrzu na zewnątrz i wewnątrz wybranych obiektów kompleksu Riese dominował gatunek *C. cladosporioides*, natomiast gatunek *A. alternata* (Rys. 7) występował nielicznie. Liczbę zarodników niezbędną do wywołania objawów choroby alergicznego układu oddechowego u większości osób z nadwrażliwością na te alergeny dla populacji polskiej oceniono na 100 zarodników w 1 m³ powie-



Rys. 7. Hodowla *Alternaria alternata* w szalce Petriego z podłożem PDA i wygląd zarodników pod mikroskopem przy powiększeniu 40x (fot. R. Ogórek)

trza dla rodzaju *Alternaria* i na 2800 dla zarodników z rodzaju *Cladosporium* [58]. Przyczyną tych różnic jest najprawdopodobniej żywotność komórek i ich zdolność do uwalniania alergenów. Przypuszcza się, że około 80% konidiów *A. alternata* występujących w powietrzu to komórki żywe, a u rodzaju *Cladosporium* jedynie 20–30% [22]. Ponadto alergeny zarodników *A. alternata* uwalniane są z łatwością. Natomiast u innych gatunków np. *Aspergillus fumigatus*, wymagane jest fizyczne uszkodzenie ściany komórkowej zarodnika, a to ona decyduje o dostępności alergenu dla błony śluzowej po dostaniu się zarodnika do dróg oddechowych [35].

Obecnie nie ma żadnych norm odnośnie czystości mikrobiologicznej powietrza obiektów podziemnych. Jednakże można posłużyć się normami dla pomieszczeń mieszkalnych i użytku publicznego. Według Dutkiewicza i Mołocznika [19] stężenie grzybów do wartości 50 000 jtk w 1 m³ powietrza w pomieszczeniach zamkniętych nie wpływa na zdrowie przebywających tam ludzi. Jednakże Zespół Ekspertów ds. Czynników Biologicznych (ZECB), Międzynarodowej Komisji ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy, sugeruje limit do 5000 jtk [23]. Niektóre oficjalne limity są jeszcze niższe. Według polskiej normy PN-89/Z-04111/03 powietrze nie jest zanieczyszczone grzybami, jeżeli zawiera nie więcej niż 3000 jtk w 1 m³ powietrza [52]. Natomiast Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) uważa, że koncentracja grzybów na poziomie 1500 jtk w 1 m³ powietrza jest dopuszczalna tylko wtedy, gdy jest to mieszanka gatunków [25]. Jakość mikrobiologiczna powietrza obiektów kompleksu Riese (Tabela I) nie stwarza zagrożenia dla zdrowia turystów, ponieważ nie zostały przekroczone wartości wyżej wymienionych norm.

7. Podsumowanie

Badania speleomikologiczne obiektów podziemnych pozwalają zrozumieć funkcjonowanie ich ekosystemu oraz określić ewentualne czynniki wpływające na

zaburzenia jego równowagi. Obecnie coraz więcej ludzi jest alergikami. Dlatego określenie stężenia grzybów i ich składu gatunkowego w powietrzu jest szczególnie istotne w obiektach, które otwarte są do zwiedzania dla turystów.

Najczęściej w obiektach podziemnych do oceny jakości mikrobiologicznej powietrza, wykorzystywana jest technika zderzeniowa z użyciem próbnika powietrza. Jest to jedna z metod hodowlanych, w których bardzo ważnymi aspektami są rodzaj podłoża hodowlanego i temperatura inkubacji, ponieważ one wpływają na liczebność i skład izolowanych grzybów. Standardowo stosuje się w tej metodzie podłoże PDA lub Sabourauda.

Grzyby w obiektach podziemnych występują głównie w postaci zarodników i wiele czynników wpływa na ich zawartość m.in. działalność człowieka, obecność stawonogów i nietoperzy oraz woda i osady przedstawiające się szczelinami ze środowiska zewnętrznego. Najważniejszym czynnikiem jest jednak środowisko otaczające obiekty podziemne i prądy powietrza, które przenoszą zarodniki z zewnątrz do ich środka.

Budowę kompleksu Riese rozpoczęto w roku 1943, jednakże nigdy go nie ukończono. Znajduje się on w Górach Sowich, a jego przeznaczenie do dzisiaj nie jest znane i istnieją tylko na ten temat przypuszczenia. Zwiedzanie obiektów w kompleksie Riese, zwanego także podziemnym miastem to niezwykle przeżycie, mimo jego strasznej historii powstawania. W powietrzu badanych obiektów (Osówka, Rzecznica, Włodarz), występowały grzyby, które mogą być przyczyną alergii jak i infekcji u ludzi. Jednakże stężenie ich zarodników nie przekraczało dopuszczalnych norm dla jakości mikrobiologicznej powietrza, dlatego nie stwarzają one zagrożenia dla zdrowia zwiedzających kompleks Riese ludzi.

Piśmiennictwo

1. Adamski Z., Henke K., Zawirska A., Kubisiak-Rzepczyk H.: Grzybyce narządowe (w) Mikologia – co nowego? red. E. Baran. Cornetis, Wrocław, 2008, s. 189–202

2. Adamski Z., Henke K., Zawirska A., Kubisiak-Rzeczyczyk H.: Grzybnice błon śluzowych (w) Mikologia – co nowego? red. E. Baran. Cornetis, Wrocław, 2008, s. 174–187
3. Adamski Z., Henke K., Zawirska A., Kubisiak-Rzeczyczyk H.: Rola grzybów w etiopatogenezie chorób alergicznych (w) Mikologia – co nowego? red. E. Baran. Cornetis, Wrocław, 2008, s. 30–42
4. Al-Doory Y., Rhoades E.R.: Isolation of *Histoplasma capsulatum* from a Texas cave. *Mycopathol. Mycol. Appl.* **35**, 201–207 (1968)
5. An H.A., Mainelis G., Yao M.: Evaluation of a high-volume portable bioaerosol sampler in laboratory and field environments. *Indoor Air*, **14**, 385–393 (2004)
6. Balabanoff V.A.: Comparative studies of dermatophytes isolated from caves and stables in Bulgaria. *Mycopathol. Mycol. Appl.* **32**, 237–248 (1967)
7. Barton H.A.: Introduction to cave microbiology: a review for the non-specialist. *J. Cave Karst. Stud.* **68**, 43–54 (2006)
8. Barton H.A., Northup D.E.: Geomicrobiology in cave environments: past, current and future perspectives. *J. Cave Karst. Stud.* **69**, 163–178 (2007)
9. Bastian F., Jurado V., Novakova A., Alabouvette C., Saiz-Jiménez C.: The microbiology of Lascaux Cave. *Microbiology*, **156**, 644–652 (2010)
10. Beijer L., Thorn J., Rylander R.: Mould exposure at home related to inflammatory markers in blood. *Eur. Respir. J.* **2**, 317–322 (2003)
11. Brashear D., Wiseman R.F., Barr Jr T.C.: A psychrophilic yeast from Mammoth Cave, Kentucky. *Int. J. Speleol.* **2**, 403–404 (1967)
12. Cabral J.P.: Can we use indoor fungi as bioindicators of indoor air quality? Historical perspectives and open questions. *Sci. Total. Environ.* **408**, 4285–4295 (2010)
13. Charkowska A. Zanieczyszczenia w instalacjach klimatyzacyjnych i metody ich usuwania. IPPU MASTA, 2003, s. 1–60
14. Colladoa C., Medinaa L., Zorraquinoa A., Baezaa T., Ferrer B.C., Plazasa J., Francisca Colom M.: Cutaneous fusariosis by a species of the *Fusarium dimerum* species complex in a patient with acute myeloblastic leukemia. *Rev. Iberoam Micol.* **30**, 119–121 (2013)
15. Culver D.C. Cave Life, Evolution and Ecology. Cambridge, Massachusetts and London, England: Harvard University Press, 1982, s. 189
16. Cury G.C., Filho A.D., Cruz A.G.C., Hobaika A.B.S.: Surto de histoplasmose em Pedro Leopoldo, Minas Gerais, Brasil. *Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, **34** (5): 483–486 (2001)
17. D'Amato G, Spiekma FThM: Aerobiologic and clinical aspects of mould allergy in Europe. *Allergy*. **50**, 870–877 (1995)
18. Denning D.W., O'Driscoll B.R., Hogaboam C.M., Bowyer P., Niven R.M.: The link between fungi and severe asthma: a summary of the evidence. *Eur. Resp. J.* **27**, 615–626 (2006)
19. Dutkiewicz J., Mołocznik A.: Pyły organiczne pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. Dokumentacja proponowanych wartości dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego. *Podst. Met. Oceny Środ. Pr.* **18**, 151–183 (1998)
20. Fogelmark B., Thorn J., Rylander R.: Inhalation of beta-D-glucan causes airway eosinophilia. *Mediators Inflamm.* **10**, 13–19 (2001)
21. Gołofit-Szymczak M., Skowron J.: Zagrożenia mikrobiologiczne w pomieszczeniach biurowych. *Bezpieczeństwo Pracy*, **3**, 29–31 (2005)
22. Govi V.: Aerial diffusion of phytopathogenic fungi. *Aerobiologia*, **8**, 84–93 (1992)
23. Górny R.L.: Aerozole biologiczne – rola normatywów higienicznych w ochronie środowiska i zdrowia. *Medycyna Środowiskowa*, **13**, 41–51 (2010)
24. Hesseltine C.W.: Genera of *Mucorales* with notes on their synonymy. *Mycologia*, **47**, 344–363 (1955)
25. Indoor Air Quality: Biological contaminants (1988) report on a WHO meeting, Rautavaara, 29 August-2 September 1988. WHO Regional Publications, European Series No. 31. Copenhagen, WHO Regional Office for Europe (1988)
26. Jurado V., Laiz L., Rodriguez-Nava V., Boiron P., Hermosin B., Sanchez-Moral S., Saiz-Jimenez C.: Pathogenic and opportunistic microorganisms in caves. *Int. J. Speleol.* **39**, 15–24 (2010)
27. Kaiser K., Wolski A.: Kontrola czystości mikrobiologicznej powietrza. *Technika Chłodnicza i Klimatyzacyjna*, **4**, 158–162 (2007)
28. Kasza D.: Możliwości wykorzystania aplikacji GIS do prac związanych z kartowaniem geologicznym na przykładzie podziemnego obiektu „Włodarz” w Górach Sowich. *Prace Naukowe Instytutu Górniczo-Politechniki Wrocławskiej*, **135**, 23–35 (2012)
29. Koilraj J.A., Marimuthu G.: Algal flora in the cave soils. *Curr. Sci.* **75**, 1111–1113 (1998)
30. Kosmaty J.: Roboty górnicze prowadzone w Górach Sowich w ramach programu „Riese” w okresie II wojny światowej. *Prace Naukowe Instytutu Górniczo-Politechniki Wrocławskiej*, **117**, 145–161 (2006)
31. Krajewska-Kułak E., Łukaszuk C., Gniadek A., Kraszyńska B., Macura A.B., Kędzior-Kornatowska K., Kornatowski T.: Porównanie wyników badań zanieczyszczenia powietrza grzybami pomieszczeń oddziału opieki długoterminowej z wykorzystaniem aparatów SAS SUPER 100 i AIR IDEAL. *Mikol. Lek.* **17**, 221–227 (2010)
32. Krajewska-Kułak E., Łukaszuk C., Gniadek A., Macura A.B., Van Damme-Ostapowicz K., Lewko J., Rolka H., Rozwadowska E., Guzowski A.: Zanieczyszczenie powietrza w pomieszczeniach mieszkalnych, ze szczególnym uwzględnieniem roli grzybów. *Mikol. Lek.* **17**, 177–181 (2010)
33. Kubátová A., Dvorák L.: Entomopathogenic fungi associated with insect hibernating in underground shelters. *Czech Mycol.*, **57**, 221–237 (2005)
34. Laiz L., Pinar G., Lubitz W., Saiz-Jimenez C.: Monitoring the colonization of monuments by bacteria: Cultivation versus molecular methods. *Environ. Microbiol.* **5**, 72–74 (2003)
35. Lipiec A.: Grzyby w etiologii chorób alergicznych. *Alergol. Współcz.* **1**, 10–14 (2002)
36. Menetrez M.Y., Foarde K.K., Dean T.R., Betancourt D.A., Moores A.: An evaluation of the protein mass of particulate matter. *Atmospheric Environ.* **4**, 8264–8274 (2007)
37. Muszyński A., Czerwińska A., Chruślińska I.: Ocena jakości powietrza wewnętrznego pod względem mikrobiologicznym w pomieszczeniach dydaktycznych wydziału Inżynierii Środowiska PW. Problemy jakości powietrza wewnętrznego w Polsce 2005, Inst. Ogrzewnictwa i Wentylacji, Warszawa, 2005, s. 141–150
38. Nováková A.: Microscopic fungi isolated from the Domica Cave system (Slovak Karst National Park, Slovakia). A review. *Int. J. Speleol.* **38**, 71–82 (2009)
39. Ogórek R.: Mycological air pollutions in Gold Mine (Gertruda's Adit) in Złoty Stok. *Proceedings of the 36th Conference of Agricultural Students and Veterinary Medicine with International Participation*. Serbia, Nowy Sad, **36**, 100–107 (2012)
40. Ogórek R.: Fungi in the mountain trails of Czarna Góra Massif. Preliminary study. *Mikol. Lek.* **19**, 147–153 (2012)
41. Ogórek R., Kalinowska K., Płaskowska E., Baran E., Matkowski K.: Zanieczyszczenia powietrza grzybami na różnych podłożach hodowlanych w wybranych pomieszczeniach kliniki dermatologicznej. Część 2. *Mikol. Lek.* **18**, 83–90 (2011)
42. Ogórek R., Kalinowska K., Płaskowska E., Baran E., Moszczyńska E.: Zanieczyszczenia powietrza grzybami na różnych podłożach hodowlanych w wybranych pomieszczeniach kliniki dermatologicznej. Część 1. *Mikol. Lek.* **18**, 30–38 (2011)
43. Ogórek R., Lejman A., Matkowski K.: The fungi isolated from the Niedźwiedzia Cave in Kletno (Lower Silesia, Poland). *Int. J. Speleol.* **42**, 161–166 (2013)

44. Ogórek R., Lejman A., Matkowski K.: Influence of the external environment on airborne fungi isolated from a cave. *PJoES*, **23**, 435–440 (2014)
45. Ogórek R., Lejman A., Płaskowska E., Bartnicki M.: Fungi in the mountain trails of Śnieżnik Massif. *Mikol. Lek.* **19**, 57–62 (2012)
46. Ogórek R., Lejman A., Pusz W., Miłuch A., Miodyńska P.: Characteristics and taxonomy of *Cladosporium* fungi. *Mikol. Lek.* **19**, 80–85 (2012)
47. Ogórek R., Płaskowska E.: Analiza mikologiczna powietrza wybranych pomieszczeń użytku publicznego. Doniesienie wstępne. *Mikol. Lek.* **18**, 24–29 (2011)
48. Ogórek R., Pusz W., Lejman A., Uklańska-Pusz C.: Microclimate effects on number and distribution of fungi in the underground complex in the Owl mountains (Góry Sowie), Poland. *J. Cave Karst. Stud.* **76**, 146–153 (2014)
49. Ogórek R., Pusz W., Matkowski K., Płaskowska E.: Assessment of abundance and species composition of filamentous fungi in the underground Rzecznica complex in Sowie Mountains (Lower Silesia, Poland). *Geomicrob. J.* **10**, 900–906 (2014)
50. Papuas G.P., Herbert R.J., Henderson W.: The respiratory effects of volatile organic compounds. *Int. J. Occup. Environ. Health*, **6**, 1–8 (2000)
51. Plomer-Nieżgoda E., Baran E., Maj J., Czarnecka A., Hrynczewicz-Gwóźdź A.: Patogenność grzybów z rodzaju *Alternaria*, *Cladosporium* i *Chrysosporium*. *Mikol. Lek.* **5**, 187–190 (1998)
52. PN-89 Z-04111/03. Ochrona czystości powietrza. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie liczby grzybów w powietrzu atmosferycznym przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedymentacyjną (1989)
53. Poulson T.L., White W.B.: The cave environment. *Science*, **165**, 971–981 (1969)
54. Pulido-Bosch A.: Human impact in a tourist karstic cave (Araucena, Spain). *Environmental Geology*, **31**, 142–149 (1997)
55. Pusz W., Kita W., Dancewicz A., Weber R.: Airborne fungal spores of subalpine zone of the Karkonosze and Izerskie Mountains (Poland). *J. Mt. Sci.* **10**, 940–952 (2013)
56. Pusz W., Ogórek R., Knapik R., Kozak B., Bujak H.: The occurrence of fungi in the recently discovered Jarkowicka cave in the Karkonosze Mts. (Poland). *Geomicrob. J.* **32**, 59–67 (2015)
57. Pusz W., Ogórek R., Uklańska-Pusz C., Zagożdżon P.: Speleomycological research in underground Osówka complex in Sowie Mountains (Lower Silesia, Poland). *Int. J. Speleol.* **43**, 27–34 (2014)
58. Rapiętko P., Lipiec A., Modrzyński M.: Threshold pollen concentration necessary to evoke allergic symptoms. *Int. Rev. Allergol. Clin. Immunol.* **10**, 91–94 (2004)
59. Rokugo M., Tagami H., Usuba Y., Tomita Y.: Contact sensitivity to pityrosporum ovale in patients with atopic dermatitis. *Arch. Dermatol.* **126**, 627–632 (1990)
60. Rusca S., Charrière N., Droz P.O., Oppliger A.: Effects of bio-aerosol exposure on work-related symptoms among Swiss saw-mill workers. *IAOEH*, **81**, 415–421 (2008)
61. Samson R.A., Yilmaz N., Houbraken J., Spierenburg H., Seifert K.A., Peterson S.W., Varga J., Frisvad J.C.: Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. *Stud. Mycol.* **70**, 159–183 (2011)
62. Semik-Orzech A., Barczyk A., Pierzchała W.: Wpływ występowania nadwrażliwości na alergeny grzybów na rozwój i przebieg chorób alergicznych układu oddechowego. *Pneumonol. Alergol. Pol.* **1**, 29–36 (2008)
63. Srikanth P., Sudharsanam S., Steinberg R.: Bio-aerosols in Indoor Environment: composition, health effects and analysis. *Indian J. Med. Microbiol.* **26**, 302–312 (2008)
64. Stevens D.A., Kann V.L., Judson M.A., Morrison V.A., Dummer S., Denning D.W., Bennett J.E., Walsh T.J., Patterson T.F., Pankey G.A.: Practice guidelines for diseases caused by *Aspergillus*. *Clin. Infect. Dis.* **30**, 696–709 (2000)
65. Sustr V., Elhottova D., Kristufek V., Lukesova A., Novakova A., Tajovsky K., Triska J.: Ecophysiology of the cave isopod *Mesoniscus graniger* (Frivaldszky 1865) (Crustacea: Isopoda). *Eur. J. Soil Biol.* **41**, 69–75 (2005)
66. Voyron S., Lazzari A., Riccucci M., Calvanna M., Varese G.C.: First mycological investigation on Italian bats. *Hystrix It. J. Mamm.* **22**, 189–197 (2011)
67. Wiejak A.: Ocena stopnia skażenia powietrza zarodnikami grzybów pleśniowych jako czynnik ekspertyzy mikologicznej. *Prace Instytutu Techniki Budowlanej*, **3**, 3–12 (2011)
68. Żelaźniewicz A.: Tektoniczna i metamorficzna ewolucja Gór Sowich. *ASGP*, **57**, 203–348 (1987)