

использования межвидовых гибридов, полученных на основе диких видов, в улучшении культурного томата. Усложненные присмы скрещиваний ($F_1 \times F_1$, $F_1 \times$ переп. гибр.) способствуют широкому разбросу признаков и отбору генотипов с благоприятным сочетанием полезных свойств. Кроме того, они ускоряют селекционный процесс и практический выход новых сортов с высоким качеством плодов.

Созданы и предлагаются производству для столового потребления и переработки сложные гибриды 350₉₋₂, 448₃₋₂, 347_{6к}, (скороспелые), 295/5, R-3, 449, Гандзак 451 (среднепоздние). Они отличаются транспортабельностью, высокой жаростойкостью и устойчивостью к заболеваниям.

Родоначалником новых сортов является сорт Лия, полученный на основе *L. hirsutum* H. et B. и гибридных линий. Надежность зародышевой плазмы и использование эффекта гетерозиса в сложных скрещиваниях обеспечили успех селекции томата на повышение качества плодов в сочетании с высокой продуктивностью и устойчивостью к заболеваниям.

ЛИТЕРАТУРА

1. Даскалов Х. Вопросы продуктивности и качества культур. София, 1967.
2. Доспехов Б.Л. Практикум по агрохимии. М., 1954.
3. Жученко А.А. Генетика томатов. 632, Штинца, Кишинев, 1973.
4. Петербургский А.В. Практикум по агрохимии. М., 1954.

Поступила 10.VI.1997

Биолог. Журн. Армении, 1-2 (51), 1998

УДК 576.8;541.6;620.193.8

МИКОФЛОРА БИООБРАСТАНИЯ ФТОРСОДЕРЖАЩИХ ПОЛИМЕРОВ

Л.А.ПИВАЗЯН, С.А.ДАВТЯН, Н.С.ХАЧАТУРЯН,
А.Е. АРУТЮНЯН, С.М. ПЕТРОСЯН, Э.К. АФРИКЯН

Республиканский центр депонирования микробов
и Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г.Абовян

Исследовалась микофлора фторсодержащих полимеров. С применением микробиологических, биохимических, физико-химических методов отобраны наиболее агрессивные по отношению к фторсодержащим полимерам штаммы. На их основе предложен набор штаммов для оценки биостойкости фторполимеров.

Անսումնասիրվել է ֆտոր պարունակող պոլիմերների միկոֆլորան: Մանրէաբանական, կենսաքիմիական, ֆիզիկո-քիմիական մեթոդների կիրառությամբ ընտրվել են ֆտորպոլիմերների նկատմամբ առավել ագրեսիվ շտամներ: Նրանց հիման վրա առաջարկվել է շտամների խումբ ֆտորպոլիմերների կենսակայունությունը գնահատելու նպատակով:

The microflora of fluorine containing polymers has been analyzed. The most ag-

aggressive strains to fluorine containing polymers were selected by microbiological, bio-chemical and physico-chemical methods. The kit of strains for evaluation of bioresistance of fluorine polymers has been proposed.

Фторсодержащие полимеры - грибы-биоразрушители - биостойкость

Методы и критерии отбора культур-биоразрушителей основаны преимущественно на массовой проверке большого числа коллекционных и оригинальных штаммов на способность проявлять агрессивные свойства, т.е. повреждать или разрушать те или иные полимеры [7, 10, 12, 15]. В результате такого подхода авторам в основном удается констатация факта микробного обрастания или разрушения полимерных материалов с учетом количества микроорганизмов, выделенных в чистые культуры [9, 13]. Подобная практика отбора стимулировала попытки установить видовую специфику воздействия микроорганизмов на полимеры с использованием в целях отбора культур-биоразрушителей любых физиолого-биохимических групп [11]. Однако физиолого-биохимическая характеристика микроорганизмов - потенциальных биоразрушителей не может быть полноценной, если не будет сделано заключение о способности их к использованию полимерного материала в качестве единственного источника углерода и соответственно о биостойкости полимера.

Целью настоящей работы было изучение микофлоры фторсодержащих полимеров и отбор агрессивных штаммов для оценки их биостойкости.

Материал и методика. Объектами исследований служили 100 штаммов грибов - представителей 10 родов, выделенных с фторсодержащих полимеров.

Использованы фторсодержащие полимеры 18 наименований разного композиционного состава.

Количественную оценку обрастания и биоповреждения проводили способом, описанным ранее [6]. Способ предусматривает количественную оценку и отбор агрессивных тест-культур микроорганизмов-биоразрушителей по выделению двуокиси углерода, определяемой хроматографически, и основан на анализе "равновесного пара" [3].

Активность полифенолоксидаз определяли по описанным методам: в качестве субстрата для определения полифенолоксидазной активности использовали тирозин, L-нафтол [5], ванилин [4], танин [14]. Характеристическую вязкость 0.3%-ных ацетоновых растворов фторсодержащих полимеров измеряли при температуре 37° на вискозиметре Убеллоде с висязим уровнем метолом одной исходной концентрации [2]. Легколетучие органические кислоты определяли методом восходящей бумажной хроматографии [1]. Грибы выращивали на жидкой и агаризованной средах Чапека-Докса. Источником углерода в среде служили сахара или соответствующий фторсодержащий полимер.

На первом этапе исследований была проверена адаптированность каждого штамма к полимерному материалу, с которого он был выделен. Адаптированность каждого штамма к материалу-хозяину определяли по его способности сохраняться, развиваться на полимере, и выделять в результате роста двуокись углерода. В качестве единственного источника углерода в испытаниях служили фторсодержащие полимеры. Для каждого из исследуемых штаммов проводились два контрольных опыта. В одной серии экспериментов выделение двуокиси углерода определяли при росте культур на среде с сахарозой в качестве углеродного питания (контроль физиологической активности культуры). В другой - на среде без источника углерода за счет возможного лизиса клеток испытуемых микроорганизмов.

Результаты и обсуждение. Исследования по микофлоре фторсодержащих полимеров показали, что несмотря на численное превосходство штаммов грибов, выделяемых с фторсодержащих полимеров,

по сравнению с таковыми бактерий и дрожжей [8], число культур, способных сохраняться на материале-хозяине и использовать его в качестве единственного источника углерода, среди бактериальной флоры превалировало и составляло 38% против 28% грибных. С поверхности фторсодержащих полимеров 14 наименований было выделено 82 штамма бактерий и дрожжей, 31 из которых способен не только сохраняться на материале-хозяине, но и использовать его в качестве единственного источника углерода.

С фторопластов было выделено 100 штаммов грибов. В основном преобладают представители родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*; одним-тремя штаммами представлены роды *Alternaria*, *Scopulariopsis*, *Oidiodendron*, *Oospora*, *Trichoderma*, *Mucor*. Представители родов *Aspergillus* и *Penicillium* составляли соответственно 43 и 27% от общего числа штаммов. Практически 62 штамма грибов из 100 выделенных не способны сохраняться и расти на средах с фторсодержащими полимерами в качестве единственного источника углерода в силу разных причин. У одних культур это обусловлено их слабой физиологической активностью, у других - нахождение на материале-хозяине, видимо, чисто случайное (табл.1). Например, пленка Ф-4НА, пленка фторопласт 10 и ткань фторлоновая при одинаковой обсемененности грибами неадекватно служили источником питания для штаммов грибов.

Несмотря на большой процент штаммов родов *Aspergillus* и *Penicillium*, в число активных по способности расти на материале-хозяине попали представители тех родов, которые были представлены небольшим количеством штаммов, такие, как *Oospora* и *Mucor*.

20 наиболее активных из них были проверены на способность использовать в качестве единственного источника углерода фторсодержащие полимеры 10 наименований.

Данные о выделении двуокиси углерода представлены в табл. 2, согласно которой *Scopulariopsis brevicaulis* var *globra* шт.8330, *A.niger* шт.8331 и 8396, *Fusarium* sp. шт.8377, *P.oxalicum* шт.8379, *Aspergillus* sp. шт.8397 используют только материалы, с которых они выделены, и шнур технический фторлоновый ШТФТ-1.5—1.5 ТУ 123-79, используемый практически всеми исследованными штаммами.

A.tamaris шт.8176, *A.phoenicis* шт.8336, *Aspergillus* sp. шт.8407 используют, кроме материала-хозяина, ограниченное число фторполимеров. Однако общее количество двуокиси углерода, выделяемое при росте на этих материалах, существенно выше опять-таки за счет использования легкообрастаемого материала - шнура технического фторлонового. Наиболее агрессивными как по спектру действия, так и по количеству выделяемой двуокиси углерода оказались *P.verrucosum* var *cyclopium* шт.8359, *P.chrysogenum* шт.8386, *P.funiculosum* шт.8387, *P.raciborski* шт.8398, *Mucor* sp. шт.шт.8375, 8391, *A.terreus* шт.8392, *T.lyngorum* шт.8334.

Из испытанных полимеров наиболее стойкие - пленки из фторопласта 10, из фторопласта 4МБ марки А, ткань техническая полифеновая. Несколько ниже биостойкие свойства ленты липкой на основе пленки фторопласта 4 марки Ф-4-30-ЭА/1, фторопласта 400.

Таблица 1. Характеристика адаптированности грибов к фторсодержащим полимерам, с которых они выделены (по выделению двуокси углерода, время инкубации 10 сут, 28°)

Наименование полимеров	Штаммы грибов	Количество выделяемой CO ₂ , мл/мг x 10 ⁻³ субстрата	Полифенол-оксидазная активность
Ткань техническая полифеновая	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> шт. 8330*	7	-
	<i>Aspergillus tamaritii</i> шт. 8176	10	+
	<i>A. niger</i> шт. 8331	10	-
	<i>A. terreus</i> шт. 8332	25	+
	<i>A. phoenicis</i> шт. 8336	7	+
	<i>Trichoderma lygnotum</i> шт. 8334	10	+
	<i>T. lygnotum</i> шт. 8335	4	+
Ткань фторлоновая	<i>Penicillium chrysogenum</i> шт. 8358	4	-
	<i>P. verrucosum</i> var. <i>cyclopium</i> шт. 8359	6	+
Пленка фторопласта 4 МБ марки А	<i>Aspergillus</i> sp. шт. 8368	2	-
	<i>A. ustus</i> шт. 8374	30	+
Лакоткань ФЛТ-4НА	<i>Aspergillus</i> sp. шт. 8378	5	-
	<i>Mucor</i> sp. шт. 8375	5	-
	<i>Fusarium</i> sp. шт. 8377	21	-
	<i>Penicillium oxalicum</i> шт. 8379	6	+
Ткань высокообъемная "Богатырь" СТБО-98 с антистатической пропиткой	<i>P. chrysogenum</i> шт. 8386	8	+
	<i>P. funiculosum</i> шт. 8387	13	+
	<i>P. verrucosum</i> var. <i>globra</i> шт. 8389	2	-
	<i>A. niger</i> шт. 8388	2	-
Ткань фторопласт 10	<i>Aspergillus</i> sp. шт. 8390	5	-
	<i>Mucor</i> sp. шт. 8391	12	+
Лента техническая полифеновая ЛТПФ-15 40	<i>A. terreus</i> шт. 8392	38	+
Пленка Ф-4НА	<i>Aspergillus</i> sp. шт. 8393	2	-
	<i>A. niger</i> шт. 8394	3	+
Лента липкая на основе пленки фторопласта марки Ф-4-30-ЭА/1	<i>A. niger</i> шт. 8396	16	+
	<i>Aspergillus</i> sp. шт. 8397	10	+
	<i>Penicillium raciborski</i> шт. 8398	13	+
Шнур технический фторлоновый ШТФТ-1,5-15	<i>Aspergillus</i> sp. шт. 8407	37	-

*Примечание: Нумерация штаммов представлена по Коллекции культур микроорганизмов Республиканского Центра депонирования микробов НАН Армении.

Таким образом, результаты исследований дают основание заключить, что для объективной оценки биостойкости фторсодержащих полимеров следует применять культуры, агрессивные к наиболее стойким фторсодержащим

полимерам. Такими, по нашим экспериментальным данным, оказались *P.chrysogenum* шт. 8386, *T.lygnorum* шт. 8334.

Таблица 2. Образование двуокиси углерода при росте культур грибов на фторсодержащих полимерах* (мл/мг $\times 10^{-3}$ субстрата, срок инкубации 10 сут в среде Чапека-Докса, 28°)

Фторполимеры Штаммы грибов	A	B	C	D	E	F	G
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> шт. 8330	5	0	0	0	0	0	22
<i>A.tamarii</i> шт. 8176	12	34	0	0	0	0	59
<i>A. niger</i> шт. 8331	4	0	0	0	0	0	6
<i>A. terreus</i> шт. 8332	5	40	2	20	17	16	4
<i>A. phoenicis</i> шт. 8336	3	30	15	0	0	0	85
<i>T. lygnorum</i> шт. 8334	4	22	20	0	23	27	9
<i>P. verrucosum</i> var. <i>cyclopium</i> шт. 8359	0	2	13	0	0	6	8
<i>A. ustus</i> шт. 8374	12	7	20	8	113	93	1
<i>Mucor</i> sp. шт. 8375	0	0	14	10	16	7	4
<i>Fusarium</i> sp. шт. 8377	0	0	0	0	0	0	1
<i>P. oxalicum</i> шт. 8379	0	0	4	0	0	0	5
<i>P.chrysogenum</i> шт. 8386	0	11	8	11	0	10	20
<i>P.funiculosum</i> шт. 8387	21	0	3	6	0	0	15
<i>Aspergillus</i> sp. шт. 8390	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mucor</i> sp. шт. 8391	0	10	10	10	27	14	21
<i>A. terreus</i> шт. 8392	13	0	16	0	15	0	28
<i>A. niger</i> шт. 8396	0	0	0	0	0	0	6
<i>Aspergillus</i> sp. шт. 8397	0	0	0	0	0	0	6
<i>P. raciborski</i> шт. 8398	4	5	7	0	0	30	25
<i>Aspergillus</i> sp. шт. 8407	0	0	0	0	39	0	7

Примечание: * А - ткань техническая полифеновая. В - пленка фторопласта 4МБ марки А. С - ткань высокообъемная "Богатырь" СТБО-98 с антистатической пропиткой. D - ткань фторопласт 10, E - фторопласт 400, F - лента липкая на основе пленки фторопласта марки Ф-4-30-ЭА/1, G - шнур технический фторопластовый ШГФТ 1.5-15.

Для фторсодержащих полимеров характерно значительное содержание атомов фтора, поэтому условия нахождения на таких полимерах являются экстремальными. И если для микроорганизмов, участвующих в обрастании фторопластов, трудно установить ферментные системы, ответственные за это, то полифенолоксидазная активность может лежать в основе сохранения жизнеспособности отобранных культур на фторсодержащих полимерах благодаря возможной детоксигирующей роли полифенолоксидаз. Подобная концепция применима и к отобранным нами микроорганизмам, так как большинство штаммов характеризовалось полифенолоксидазной активностью (табл.1).

Для полной характеристики наиболее перспективных штаммов отобранные культуры были проверены на агрессивность по отношению к фторопластам после года хранения на среде Чапека-Докса с сахарозой при температуре 4-6°. Установлено, что у большинства культур агрессивность либо утрачена, либо значительно снижена. Хороший уровень активности сохранили *A.tamarii* шт. 8176, *P.chrysogenum* шт. 8386, *A.terreus* шт. 8332, *A. phoenicis* шт. 8336 и *T.lygnorum* шт. 8334, которые отличаются и по спектру действия. Некоторые штаммы, такие, как *A.ustus* шт. 8374, *Mucor* sp. шт. 8375,

сохранили свою узкую специфичность к определенному материалу. Большинство остальных штаммов не колонизировали даже тот материал, с которого были выделены и по отношению к которому были агрессивны. Это свидетельствует о том, что поддержание агрессивных свойств культур, используемых для оценки биостойкости полимеров, обязательно следует проводить в условиях контакта с полимерами того же класса.

Вышеуказанные 5 штаммов отличались также по спектру действия, что дало возможность использовать их в наборе. Результаты исследования сравнительной агрессивности нового набора и набора по ГОСТ 9.049.75 представлены на рис. 1. Как видно, спектр фторсодержащих полимеров, поражаемых нашим набором штаммов, значительно шире, чем набора по ГОСТ 9.049.75. Предлагаемый нами набор агрессивен по отношению к 11 материалам из 13. Здесь же представлены результаты изучения агрессивности набора с исключением того или иного штамма. Оказалось, что исключение штаммов *A.tamarii* шт. 8176, *P.chrysogenum* шт. 8386 или *A.terreus* шт. 8332 резко снижает агрессивность набора. Суммарное количество двуокиси углерода, выделяемой при росте культур рекомендуемого набора на фторсодержащих полимерах, составляет 0,043 мл, при исключении штаммов

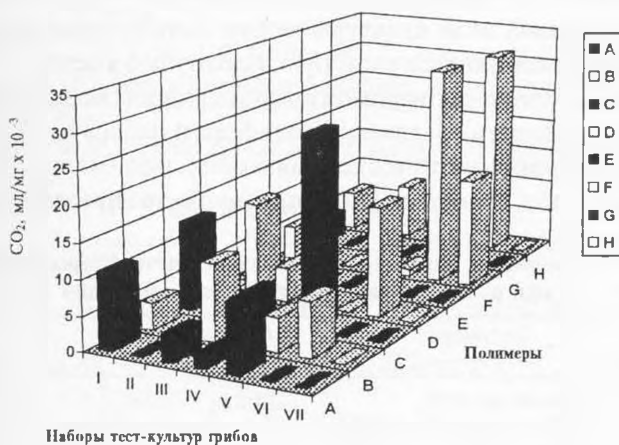


Рис 1. Образование двуокиси углерода при испытании фторсодержащих полимеров на биостойкость к наборам тест-культур (мл/мг × 10⁻³ субстрата, срок инкубации 10 сут, в среде Чапека-Докса, 28°).

Условные обозначения:

Наборы тест-культур

- I - Новый набор (*A. tamarii* шт. 8176, *A. terreus* шт. 8332, *T. lignorum* шт. 8334, *A. phoenicis* шт. 8336, *P. chrysogenum* шт. 8386)
- II - Новый набор с исключением *A. tamarii* шт. 8176
- III - Новый набор с исключением *P. chrysogenum* шт. 8386
- IV - Новый набор с исключением *A. terreus* шт. 8332
- V - Новый набор с исключением *T. lignorum* шт. 8334
- VI - Новый набор с исключением *A. phoenicis* шт. 8336
- VII - Набор по ГОСТ 9.048-75 (*A. flavus* шт. ВКМ F-747, *A. niger* шт. ВКМ F-33, *A. terreus* шт. ВКМ F-1025, *A. viride* шт. ВКМ F-1117, *P. chrysogenum* ВКМ F-245, *P. cyclopium* шт. ВКМ F-265, *P. tuniculosum* шт. ВКМ F-1115, *Ch. globosum* шт. ВКМ F-109, *Paecilomyces v. variotii* шт. ВКМ F-220).

Фторсодержащие полимеры

А - пленка фторопласта 4МБ марки А, В - латекс ФЛТ-4МА, С - ткань высокообъемная "Богатырь" СТБ0-98 с антистатической пропиткой, Д - фторопласт 400, Е - лента липкая на основе пленки фторопласта марки Ф-4-30-ЭА/1, Ф - пленка фторопласта 50, Г - пленка фторопласта 4 марки Ф4ЭО, Н - пленка фторопласта 4Ф, конденсаторная ГОСТ - 19525-75.

8176, 8386, 8332 это количество снижается до 0,016; 0,036; 0,002 мл соответственно.

Изучение физиолого-биохимических характеристик указанных культур показало, что они активно используют различные источники углерода. *A.phoenicis* шт.8336 использует 13 из 18 наименований углеводов и спиртов. Хорошо усваивает уксусную, молочную, винную кислоты. *A.terreus* шт. 8332, кроме указанных, усваивает валерьяновую, изовалерьяновую, молочную кислоты. *A.tamarii* шт. 8176 из изученных сахаров не использует только лактозу, усваивает уксусную, масляную, валерьяновую, молочную, винную кислоты. При такой активности культуры могут на первом этапе колонизации фторполимеров использовать примеси, пластификаторы, консерванты, кроме того, являясь продуцентами оргкислот, могут создавать условия для развития других штаммов ассоциации. Так, *P.chrysogenum* шт.8386 продуцирует (г/л культуральной жидкости): 0,12 - муравьиной, 0,08 - уксусной, 0,12 - яблочной, 0,5 - янтарной, 0,1 -молочной, 0,04 - фумаровой кислот.

Результаты, представленные на рис. 1, показывают, что исключение этого штамма снижает активность набора. Еще ниже активность при испытании набора с исключением *A.tamarii* шт. 8176, который продуцирует (г/л): 0,05 - уксусной кислоты, 0,1 - яблочной, 0,05 - молочной и т.д. Следовательно, продукты метаболизма этой культуры могли быть использованы *A.terreus* шт.8332, активно усваивающего уксусную и молочную кислоты.

На четырех образцах растворимых фторсодержащих полимеров проверена сравнительная активность предлагаемого набора и набора по ГОСТ-9.049-75 по изменению характеристической вязкости полимеров. Результаты, представленные в табл. 3, подтверждают преимущества предлагаемого набора.

Таблица 3. Изменение характеристической вязкости фторсодержащих полимеров* (η) при росте наборов культур (срок инкубации 15 сут, 28°)

Наборы грибов \ Полимеры	А	В	С	Д
Новый набор (<i>A.tamarii</i> шт.8176, <i>A.terreus</i> шт.8332, <i>A.phoenicis</i> шт.8336, <i>T.lygnorum</i> шт.8334, <i>P.chrysogenum</i> шт.8386)	0,2627	0,3904	0,1773	0,1049
Набор по ГОСТ 9.049.75	0,3829	0,2377	0,1049	0,1049
Контроль (материалы в среде без культур)	0,3829	0,2545	0,1049	0,1142

Примечание*: А - ткань фторлоновая, В - лента техническая из фторлоновых нитей. С - пленка Ф-26 марки А, Д - локоткань ФЛТ-4НА.

Следует отметить еще одно существенное, на наш взгляд, обстоятельство. В набор вошли 5 штаммов грибов, 4 из которых выделены с одного и того же полимерного материала, т.е. эта группа находилась в ассоциации уже в естественных условиях. Это *A.tamarii* шт. 8176, *A.terreus* шт. 8332, *T.lygnorum* шт. 8334, *A. phoenicis* шт. 8336, выделенные с ткани технической полифеновой.

Создана База данных по характеристическим свойствам микробных

культур и исследованных образцов несинтетических полимеров. На основе указанных Баз разрабатываются методические подходы для прогнозирования биостойкости материалов.

Результаты исследований позволяют сделать заключение, что для объективной оценки биостойкости фторсодержащих полимеров следует применять культуры, агрессивные к наиболее стойким фторсодержащим полимерам, причем нахождение культуры на полимере не всегда означает его агрессивность и адаптированность к данному субстрату.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов А.А., Зезина Т.В., Смирнов Н.Ф., Чадаева Н.И. Биохим., биофиз. микроорганизмов, сер. биол., 85-90, Горький, 1977.
2. Берлин А. ВМС, 8, 1336, 1966.
3. Витенберг А.Г., Иоффе Б.В. Газовая экстракция в хроматографическом анализе. 280 с., Л., 1982.
4. Дроздова Т.Г., Белова Н.В. Микол. и фитопатол., 16, 1, 33-36, 1982.
5. Методы экспериментальной микологии, 1982.
6. Сафарян З.С., Пивазян Л.А. АС СССР N1300942, 1985.
7. Сизова Т.П., Торопова Е.Г., Белоусова А.А., Матюша Г.В. Микол. и фитопатол., 18, 3, 1984.
8. Хачатурян Л.С., Пивазян Л.А., Асланян С.Г., Аракелян Р.Н., Мирзоян М.А., Нерсисян Д.Ш. Сб.: Микробное повреждение материалов. Изд-во АН Арм. ССР, Ереван, 1985.
9. Ceo C.W., Yamada Y., Takida N., Okada H. Appl. and Environ. Microbiol., 45, 2, 522-525, 1983.
10. Dale R., Rubige T., Williams G.R. Int. Biodetn. Bull., 18, 1, 25-26, 1982.
11. Henneken L., Nortremann B., Hempel D.C. Appl. Microbiol. and Biotechnol., 44, 1-2, 177-185, 1995.
12. Ogbonna C.I.C., Rugh G.I.P., Eggins H.O.W. Int. Biodetn. Bull., 18, 1, 23-24, 1982.
13. Radwan S.S., Sorkhoh N.A., Fardoun T., Al-Hasan R.H. Appl. Microbiol. and Biotechnol., 44, 1-2, 265-271, 1995.
14. Taylor J.B. Annals of Appl. Biol., 85, 2, 167-170, 1977.
15. Tiehm A., Fritzsche C. Appl. Microbiol. and Biotechnol., 42, 6., 964-969, 1995.

Поступила 25.XI.1997