

Биолог. журн. Армении, 1-2 (59), 2007

УДК 678:576.8:629.198.3

СПЕЦИФИКА МИКОБИОТЫ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ КОСМИЧЕСКОЙ ТЕХНИКИ

С.А. ГЕВОРГЯН

Центр микробиологии и депонирования микробов НАН РА. 2201, г. Абовян,
microbio@sci.am

Изучена микофлора биоповрежденных образцов полимерных материалов Орбитального комплекса "Мир" и Международной космической станции. Выделены и охарактеризованы культуры плесневых грибов - потенциальных деградантов полимерных материалов. Среди исследованных штаммов доминантными видами являются *Penicillium aurantiogriseum*, *P.melinii*, *Aspergillus versicolor*, *A.fumigatus*, а среди условно-патогенных - *A.fumigatus* и *A.versicolor*.

Դետազոտվել է ուղեծրային «Միր» համալիրի և Միջազգային տիեզերական կայանի վնասված պոլիմերային նմուշների միկոֆլորան: Անջատվել և բնութագրվել են բորբոսասանկերի կուլտուրաներ պոլիմերային նյութերի պոտենցիալ բայթայիչներ: Ուսումնասիրված շտամներից դոմինանտ են հանդիսացել *Penicillium aurantiogriseum*, *P.melinii*, *Aspergillus versicolor*, *A.fumigatus*, իսկ պայմանական պարոզեն - *A.fumigatus* և *A.versicolor*.

The mycobiota of the biodegraded samples of polymeric materials of the Orbital Complex "Mir" and International Space Station has been studied. The fungal cultures as potential degradants of polymeric materials have been isolated and characterized. Among the strains obtained the dominant species are *Penicillium aurantiogriseum*, *P.melinii*, *Aspergillus versicolor*, *A.fumigatus* and conditionally pathogenic - *A.fumigatus* and *A.versicolor*.

**Биоповреждения - грибы-биodeграданты - синтетические полимеры -
космические материалы**

Микроскопические грибы являются ведущей группой биodeградантов и способны колонизировать и повреждать синтетические материалы. Большое внимание уделяется изучению видового состава микроорганизмов, развивающихся на их поверхности [14]. Число видов грибов, обнаруженных на лаках и пластмассах, выросло за последние 30 лет на порядок - с 42 до 400 видов [2, 6, 8, 11].

Микробиологические вопросы имеют первостепенное значение для обеспечения безопасной и надежной эксплуатации обитаемых космических летательных аппаратов [1, 3, 4, 7]. Важно отметить, что среди грибов-деструкторов синтетических пластиков могут быть виды-оппортунисты, токсинообразователи и виды, вызывающие у людей аллергические реакции. что особенно опасно для здоровья космонавтов во время длительных полетов в герметически замкнутых зонах [5, 7].

Данная работа обобщает результаты собственных исследований по выделению и характеристике культур грибов-биodeградантов, распростра-

ненных в биоповреждениях синтетических полимерных материалов, используемых в космической технике.

Материал и методика. В рамках Проекта МНТЦ А-092.2 проведен микробиологический анализ 20 биоповрежденных образцов синтетических полимерных материалов из Орбитального комплекса "Мир" и Международной космической станции. Микрофлору образцов космической техники изучали по схеме тотального микробиологического анализа. Использовали метод накопительных культур с применением широкого набора питательных сред для выделения микроорганизмов различных экологотрофических групп: мезофилов, психрофилов, галофилов и алкалофилов. Для обеспечения инкубирования в широком температурном диапазоне (5 - 70°) использовали градиентный термостат. Микроскопию спор грибов проводили на сканирующем электронном микроскопе CamScan S-2 фирмы Cambridge Instruments с ускоряющим напряжением 20 кВ в режиме регистрации вторичных электронов при диапазоне увеличения 10000-18000 х. Определение митоспорических грибов осуществляли по культурально-морфологическим признакам с использованием определителей, рекомендуемых для конкретной систематической группы [10, 15, 16]. Идентификацию среди выделенных грибов-биодеструкторов условно-патогенных и токсигенных видов проводили по обобщающим публикациям [5, 9, 12, 13].

Результаты и обсуждение. Выделено 205 штаммов микроорганизмов, включая 124 культуры плесневых грибов - потенциальных дестрантов полимерных материалов. На основе комплексной оценки морфологических и физиологических свойств выделенные штаммы идентифицированы как *Aspergillus fumigatus* Fresenius 1863, *A. versicolor* (Vuillemin) Tiraboschi 1926, *Alternaria alternata* (Fries, 1832) Keissler 1912, *Cladosporium macrocarpum* Preuss, 1848, *C. sphaerospermum* Penzig, 1882, *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx 1901, *P. chrysogenum* Thom 1910, *P. melinii* Thom 1930, *Ulocladium botrytis* Preuss 1851 и *Phoma eupyrena* Saccardo, 1879.

Таксономический анализ видового состава выделенных грибов показал, что сравнительно многочисленными являются роды *Penicillium* (3 вида), *Aspergillus* и *Cladosporium* (по 2 вида). По распространению грибы-биодестранты можно расположить в следующем порядке:

P. aurantiogriseum (43 штамма) ← *P. melinii* (20) ← *A. versicolor* (19) ← *A. fumigatus* (13) ← *P. chrysogenum* (3) ← *Alternaria alternata*, *Ulocladium botrytis* (по 2 штамма) ← *Cladosporium sphaerospermum*, *C. macrocarpum*, *Phoma eupyrena* (по 1 штамму) (табл.1)

Данные частично совпадают с аналогичными исследованиями пилотируемых орбитальных комплексов. Так, в своих работах Новикова и Алексова с соавторами также выделили по частоте встречаемости виды родов *Aspergillus*, *Penicillium* и *Cladosporium* [1, 7].

Далее приводятся описания макро- и микроморфологических особенностей некоторых типичных видов микромицетов (рис.1). Исследования велись на агаризованной среде Чапека-Докса при температуре инкубации 28°. *Alternaria alternata* (Fries, 1832) Keissler 1912, РЦДМ-12115 - Радиус роста на 7-е сутки 33мм. Колония пушистая, войлочная, воздушный мицелий грязно-кремовый, ближе к субстрату темно-коричневый. Реверзум: темно-коричневые радиальные кольца.

Гифы ближе к субстрату пигментированные и незначительно шероховатые, воздушные - гиалиновые, 2,4-3,6мкм шириной. Конидиеносцы прямые,

Таблица 1. Видовой состав микромицетов образцов космической техники (число выделенных и изученных штаммов)

Род, вид штаммов	ОК "Мир"	МКС
<i>Alternaria alternata</i>	-	2
<i>Aspegillus versicolor</i>	7	12
<i>Aspergillus fumigatus</i>	5	8
<i>Cladosporium macrocarpum</i>	1	-
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	-	1
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	39	4
<i>Penicillium chrysogenum</i>	3	-
<i>Penicillium melinii</i>	20	-
<i>Phoma eupyrena</i>	1	-
<i>Ulocladium botrytis</i>	1	1

септированные, пигментированные, 3,2-5,2мкм шириной. Конидии - диктиоспоры, шероховатые, цепочками до 5-6, пигментированные, 14,3-32,2х3,8-12,0мкм.

Aspergillus fumigatus Fresenius 1863, РЦДМ-12041 - Радиус роста на 7-е сутки 45мм.

Колония плоская, порошистая, с очень редким гиалиновым вегетативным мицелием, при спороношении грязно-кремовая, в дальнейшем болотно-зеленая. Реверзум: просвечивает белый, лучистый мицелий.

Конидиеносец септирован, гладкий, 240,0-365,0х5,2-11мкм. Везикулы удлиненные, округлые, шириной 15,0-20,0мкм. Фиакиды одноярусные, 3,8-5,2х2,0-2,8мкм. Конидии слабо шероховатые, округлые, 2,0-3,0мкм в диаметре.

Aspergillus versicolor (Vuillemin) Tiraboschi 1926, РЦДМ-12042 - Радиус роста на 7-е

сутки 8мм. Колония ограниченная, плотная, бархатная, в центре холмисто-буристая, рост радиальный, края ровные, более плоские. Вегетативный мицелий белый, при спороношении желто-коричневый, радиальный, с возрастом зеленеет. На 14-е сутки оранжевый, диффундирующий в агар пигмент. Реверзум: кремовый с коричневыми кольцами.

Конидиеносец септирован, гладкий, 210,0-322,0х4,1-7,6мкм. Везикулы округлые, укороченные, гладкие, 2,8-7,0х2,7-3,1мкм. Фиакиды гладкие, 5,9-7,6х2,0-2,8мкм. Конидии округлые, шероховатые, 2,0-2,8мкм в диаметре.

Penicillium aurantiogriseum Dierckx 1901, РЦДМ-12044 - Радиус роста на 7-е сутки

8мм. Колония плотная, бархатистая, после порошистая со слабым складчатым вегетативным белым мицелием, в зоне спороношения зеленая. Края гладкие, вдавленные в агар. Реверзум: кремовый в центре, по краям светло-зеленый.

Веточки редкие, слабо шероховатые, 17,6-24,8х3,0-3,5мкм. Метулы слабо шероховатые, 12,0-16,3х2,8-3,7мкм. Фиакиды бутылевидные, слабо шероховатые, в количестве 3-7 шт., 7,5-8,2х2,0-3,2мкм. Конидии сферические, незначительно шероховатые в длинных сплетающихся цепочках, 3,0-3,9мкм в диаметре.

Penicillium melinii Thom 1930, РЦДМ-12046 - Радиус роста на 7-е сутки 13мм.

Колония плотная, редкая, прозрачная, гиалиновая, после хлопьевидная, в зоне спороношения светло-зеленая. Края плоские, реснитчатые. Реверзум: гиалиновый.

Веточки отсутствуют. Метулы незначительно шероховатые, максимальное количество - две, 13,1-18,0х3,0-3,8мкм. Фиакиды множественные,

* РЦДМ - акроним коллекции культур Республканского Центра детонирования микроорганизмов НАН РА

незначительно шероховатые, 8,6-11,4x2,4-3,5мкм. Конидии сферические, слабо шероховатые в очень длинных цепочках, 3,0-3,9мкм в диаметре.

Ulocladium botrytis Preuss 1851, РЦДМ-12037 - Радиус роста на 7-е сутки 25мм. Колония звездчатая, бархатисто-войлочная, темно-зеленая до черного. Субстратный мицелий хорошо развитый. Края неровные, звездчатые. Реверзум: серо-черный. Часть гиф гиалиновая, часть пигментированная, с утолщениями, 2,8-6,5мкм. Конидиеносец септированный, изогнутый, пигментированный с 1-9 конидиями, 45,0x3,0-5,0мкм. Конидии - диктиоспоры, шероховатые, эллипсоидные, 15,2-24,2x8,3-12,4мкм.

При сравнении с описаниями типовых штаммов соответствующих видов видимых различий в росте и в размерах не обнаружено, за исключением более мелких спор у *Alternaria alternata* 12115.

Электронно-сканирующая микроскопия позволила более детально изучить поверхности спор грибов-деградантов (рис. 1).

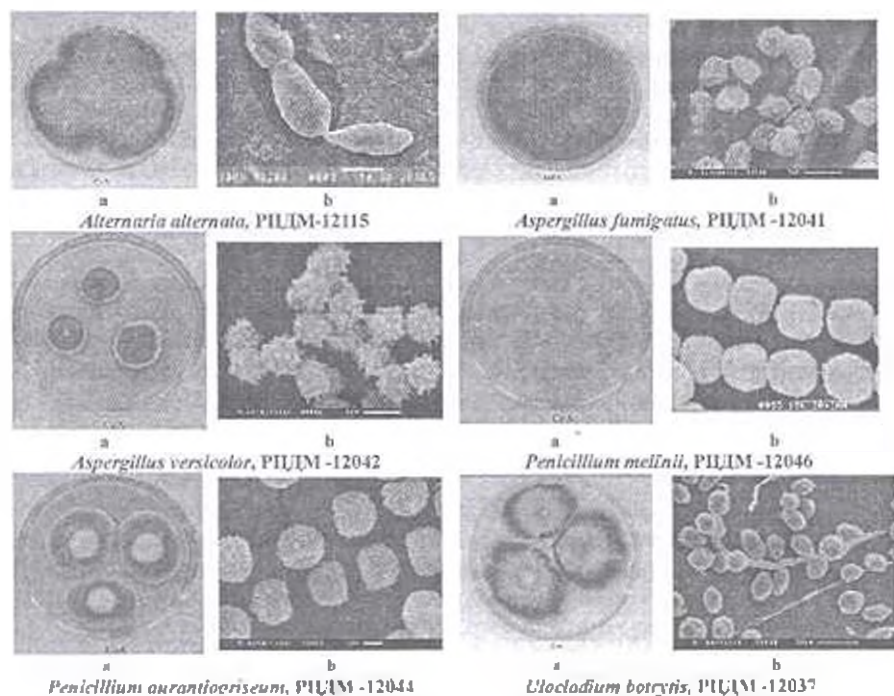


Рис. 1. Культурально-морфологические признаки грибов-деградантов (а - колонии из среды Чапека в чашках Петри (диаметр 9см), б - электронно-сканирующая микроскопия спор)

Более подробная характеристика выделенных культур представлена в книге "Грибные деграданты полимерных материалов: Базы данных и Коллекция культур с Атласом" (Ереван, 2005).

В результате многолетних исследований в нашем Центре было выделено и изучено большое разнообразие грибных деградантов полимерных материалов. Коллекция культур РЦДМ сейчас насчитывает около 1000 штаммов грибов, выделенных из различных классов полимерных материалов

и других субстратов. В табл. 2 приведены наиболее часто обнаруживаемые виды грибов-биодеструктантов.

Таблица 2. Митоспорические грибы, обнаруживаемые в биоповреждениях полимерных материалов

Полимерные материалы	Часто встречаемые виды
Кремниесодержащие материалы	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. tamaris</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>P. aurantiogriseum</i>
Фторопласты	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. candidus</i> , <i>P. aurantiogriseum</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>Alternaria alternata</i>
Полиимиды	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. candidus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Fusarium sp.</i> , <i>Mucor sp.</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>P. aurantiogriseum</i>
Полиимиды	<i>Aspergillus terreus</i> , <i>A. tamaris</i> , <i>Fusarium sp.</i> , <i>A. niger</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>P. aurantiogriseum</i>
Поллифиды	<i>Aspergillus terreus</i> , <i>A. niger</i> , <i>P. aurantiogriseum</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>P. chrysogenum</i>
Резинопластика	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Alternaria sp.</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>A. terreus</i> , <i>Chaetomium olivaceum</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>Fusarium sp.</i> , <i>P. aurantiogriseum</i>
Искусственная кожа	<i>Aspergillus ustus</i> , <i>Aspergillus sp.</i> , <i>Alternaria sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> , <i>Trichoderma viride</i> , <i>Fusarium sp.</i>
Пластмассовые материалы	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>P. aurantiogriseum</i>
Акрилаткани	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i>
Латексы	<i>Aspergillus niger</i> , <i>P. aurantiogriseum</i> , <i>Fusarium sp.</i> , <i>Mucor sp.</i> , <i>Alternaria alternata</i>

Санитарно-эпидемиологический анализ выявленного состава видов грибов-деструкторов полимеров показал широкую представленность среди них условно-патогенных форм. Стоит особо выделить вид *A. fumigatus* как наиболее часто выделяемый при аспергиллезах у людей. Данный вид имеет выраженное микотоксическое свойство и может быть причиной синуситов, кератитов, легочных, церебральных, костных, сердечно-сосудистых, висцеральных, аллергических реакций и редко онихомикозов. Вид *A. versicolor* и виды рода *Penicillium* широко известны своими аллергенными и микотоксическими реакциями.

Работа частично финансировалась МНТЦ (Проект А-092.2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахтова Т.А., Александрова А.А., Новожилова Т.Ю., Лысак Л.В., Загустона Н.А., Бизбородова А.М. Прикл. биохимия и микробиология, 41, 4, 435-443, 2005.
2. Андреев Е.И., Билай В.И., Коваль Э.З., Козлова И.А. Микробная коррозия и ее возбудители. Киев: Наукова Думка, 287 с., 1980.
3. Африкан Э.Г. Материалы 3-го Международного симпозиума: Проблемы биохимии, радиации и космической биологии, Дубна, 24-28 января, 2007.
4. Викторова А.Н., Новикова Н.Д., Дешевая Е.А. Авиакосмическая и экологическая медицина, 3, 41-48, 1992.

5. Елинов Н.П., Митрофанов В.С., Чернопятав Р.М. Проблемы мед. микологии, 4, 1, 4-16. 2002.
6. Лугаускас А.Ю., Микульскене А.И., Шляужене Д.Ю. Каталог микромицетов-биодеструкторов полимерных материалов. М. Наука, 340 с., 1987.
7. Новикова Н.Д. Автореф. док. дисс., М., 50 с., 2002.
8. Пехташева Е.Я. Биоповреждения и защита непродовольственных товаров. М.: Мастерство, 224 с. 2002.
9. Samton Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов. Пер. с англ. М.: Мир, 486 с., 2001.
10. Ainsworth & Bisby's. Dictionary of the Fungi (Ed. Kirk P.M. et al.). 9th ed., CAB International, 655, 2001.
11. Afrikian E.G. (Ed.). Fungal Degradants of Polymeric Materials: databases and culture collection with the atlas. Abovyan, Armenia, 250 p., 2005.
12. Hoog G.S. de, Guarro J., Gene J., Figueras M.J. Atlas of Clinical Fungi. 2nd ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Spain. 1126 p., 2000.
13. Taj-Aldeen S.J., Hilal A.A., Chang-Lopez A. The 7th Intern. Mycological Congress. Book of Abstracts, Oslo, 272-273, 2002.
14. Gu Ji-Dong. International Biodeterioration & Biodegradation. 52. 69-91, 2003.
15. Samson R.A., Pitt J.I. Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus*, Classification. 1st edition, CRC Press. 524 p., 2000.
16. Watanabe T. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: morphologies of cultured fungi and key to species. 2 ed., CRC Press, 504 p., 2000.

Поступила 21.V.2007