

## BIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY

**Тригубович Андрей Михайлович**

научный сотрудник

Институт микробиологии НАН Беларуси,

Республика Беларусь

**Гончарова Инесса Адамовна**

кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник

Белорусский НИИ документоведения и архивного дела,

Республика Беларусь

**Иванов Игорь Викторович**

заведующий научно-экспозиционным отделом

Белорусский государственный музей народной архитектуры и быта,

Республика Беларусь

**Панченко Дмитрий Иванович**

начальник реставрационно-строительной службы

Белорусский государственный музей народной архитектуры и быта,

Республика Беларусь

### **КОЛОНИЗАЦИЯ ПЛЕСНЕВЫМИ ГРИБАМИ ДРЕВЕСИНЫ БЕЛОРУССКОГО СКАНСЕНА В ХОЛОДНОЕ ВРЕМЯ ГОДА**

*Аннотация.* Выявлено, что микромицеты, сформировавшие обширные колонии на антисептированной древесине объектов Белорусского государственного музея народной архитектуры и быта в холодное время года проявляют психрофильные и психротолерантные свойства. Психрофильные агенты плесневого поражения характеризовались повышенной целлюлазной активностью и резистентностью к биоцидам при низких температурах.

*Ключевые слова:* музей, древесина, плесневые грибы, целлюлаза, биоциды.

**Введение.** Белорусский государственный музей народной архитектуры и быта (БГМНАиБ) является скансеном, включающим архитектурно-

ландшафтные комплексы, где собраны памятники архитектуры и предметы этнографии с разных регионов республики. Основным материалом музейных объектов является древесина, которая может служить питательным субстратом для многих живых организмов. В условиях нестабильного температурно-влажностного режима деревянные строения и коллекции музея постоянно подвергаются негативному воздействию микромицетов – микроскопических (плесневых) грибов, отличающихся повышенной устойчивостью к неблагоприятному воздействию климатических факторов. Микромицеты колонизировали исторические деревянные постройки даже в суровых условиях Антарктиды [1].

Колонии плесневых грибов периодически обнаруживаются на объектах белорусского скансена в холодное время года (поздней осенью, ранней весной, при зимних оттепелях). С целью обеспечения сохранности собранных в музее памятников в течение десятилетий систематически использовались различные способы химической обработки, однако действие биозащитных средств часто имело лишь временный характер [2].

**Цель исследования** – изучить свойства микромицетов, колонизирующих древесину в Белгосмузее народной архитектуры и быта при низких температурах.

**Материалы и методы.** Объектами исследования служили микромицеты, выделенные из очагов плесневого поражения, выявленных на деревянных конструкциях БГМНАиБ в зимний период 2017-2020 гг. Пробы с участков плесневого поражения высевали диаметральными штрихами в чашки Петри с агаризованной средой Чапека-Докса с 2% Na-КМЦ в качестве источника углерода (ЧДЦ) и инкубировали в холодильнике при температуре 4°C. Доминирующие грибы выделяли в чистую культуру и определяли линейную скорость роста при температурах от 4 до 28°C. Изоляты с температурным оптимумом не выше 15°C считали психрофильными грибами, выше данного значения – психротолерантными.

Идентификацию грибов - агентов плесневого поражения осуществляли по культурально - морфологическим свойствам и молекулярно-генетическими

методами с использованием универсальных праймеров [3].

Целлюлазную (экзоглюканазную) активность грибов определяли после культивирования в стационарных условиях на жидкой ЧДЦ. Культуральную жидкость с ацетатным буфером (рН 5.0) заливали в пробирки с микрокристаллической целлюлозой (МКЦ) и инкубировали при 50 °С 1 ч., в гидролизатах определяли содержание редуцирующих сахаров. За единицу экзоглюканазной активности принимали такое количество фермента, которое в данных условиях катализирует гидролиз МКЦ с образованием 1 мкМ сахаров [4].

Деградацию древесины под действием грибов – агентов биоповреждения оценивали по потере массы образцов заболони сосны (20x20x5 мм) с гладкой поверхностью после 2 месяцев инкубирования на грибном газоне при температуре 15 °С. Антисептирование древесины осуществляли путем погружения образцов в биоцидный раствор на 1 час.

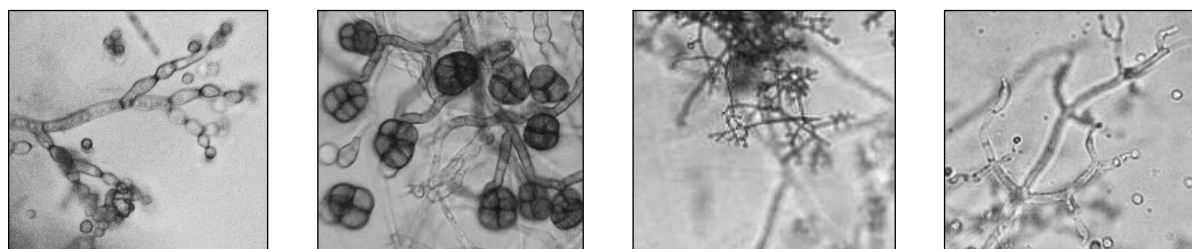
Резистентность к биоцидам оценивали по выходу биомассы с единицы площади газонной культуры. Действующее вещество вносили в расплавленную агаризованную среду непосредственно перед разливом в чашки Петри. Выход биомассы оценивали после отделения мицелия от агаризованной среды путем кипячения в течение 2 мин, горячего фильтрования и высушивания при 90 °С.

**Результаты и обсуждение.** Микологические обследования музея в период с конца ноября по начало марта показали доминирование в большинстве проб, взятых с поверхности объектов с видимыми признаками плесневого поражения, грибов, активно развивающихся при температуре 4°С. Старые деревянные строения в холодный период, были чаще всего подвержены локальной колонизации в местах замочания талыми водами или капиллярного подсоса грунтовой влаги микромицетами одного вида. Грибы *Cladosporium cladosporioides*, *Ulocladium botrytis* и *Trichoderma koningii* (кроме анаморфы данный гриб встречался на глинобитных полах рядом с деревянными конструкциями в виде телеоморфы, известной как *Hypocrea koningii*) проявили психрофильные свойства (рис. 1).

Микромицеты-психрофилы на музейной древесине



Микромицеты-психрофилы под микроскопом



*Cladosporium  
cladosporioides*

*Ulocladium  
botrytis*

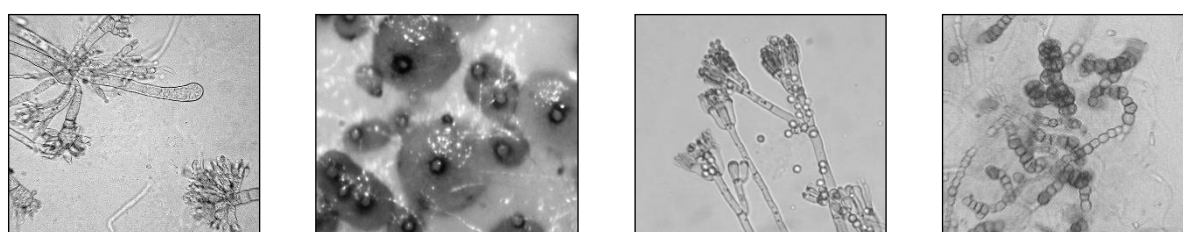
*Trichoderma  
koningii*

*Hypocrea  
koningii*

Очаги поражения древесины ветряной мельницы психротолерантными грибами



Грибы – агенты плесневого поражения мельницы под микроскопом



*Botrytis cinerea*

*Phoma herbarum*

*Penicillium  
chrysogenum*

*Aureobasidium  
pullulans*

Рис.1. Грибы, колонизирующие музейную древесину в холодное время года

Таксономическое разнообразие плесневых грибов выявлено на свежей антисептированной древесине недавно отреставрированных объектов. Так в ветряной мельнице за зиму на центральном валу появился высокий светло

серый налет спороносящего мицелия *Botrytis cinerea*, на стенах – обширные колонии *Phoma herbarum* и *Penicillium chrysogenum*, на досках наружной обшивки мельницы – черные точечные пятна *Aureobasidium pullulans*, развивающегося в толще лакового покрытия. Все эти грибы проявили психротолерантные свойства.

Повреждение древесины микроскопическими грибами обусловлено в первую очередь активностью ферментов целлюлазного комплекса. Целлюлазная активность музейных изолятов значительно варьировала и была наиболее высокой у представителей рода *Trichoderma* / *Hypocrea*, проявивших как психрофильные, так и психротолерантные свойства. Для сравнительного изучения данных грибов, отличающихся высокой линейной скоростью роста, параметром ростовой активности выбрана биомасса с единицы площади чашечной культуры. При культивировании в холодильнике штамм *H. koningii* Т-2 накапливал почти в 3 раза больше биомассы, чем наиболее устойчивый к низким температурам изолят его анаморфы *T. koningii* В-9. Все изоляты *T. viride* проявили психротолерантные свойства. Целлюлазная активность при температурах 4 - 15°C у *H. koningii* Т-2, была выше, чем у анаморфных изолятов данного рода (табл.1).

Таблица 1

**Выход биомассы газонной культуры и целлюлазная (экзогликонозная) активность грибов рода *Trichoderma* / *Hypocrea***

Культура	Выход биомассы, мг/см <sup>2</sup>			Целлюлазная активность, мг гг./мл		
	4°C	15°C	28°C	4°C	15°C	28°C
<i>T. viride</i> С-3	0,15	0,34	1,85	0,07	0,36	1,32
<i>T. koningii</i> В-9	0,31	1,49	1,27	0,15	0,42	0,37
<i>H. koningii</i> Т-2	0,84	1,60	1,12	0,29	0,63	0,32

Деревянные конструкции музеев под открытым небом подвергаются обработке биозащитными средствами и огнезащитными композициями, содержащими фунгитоксичные соединения. Однако снижение их активности под действием климатических факторов и высокая адаптационная

способность позволяет мицелиальным грибам колонизировать поверхность древесины.

Модельная обработка свежей древесины составом Caratox, рекомендованным для защиты различных материалов от плесневого поражения, уменьшила потерю массы образцов во всех вариантах, за исключением *H. koningii* T-2, у которого расщепление древесных волокон при 15°C даже усилилось. Увеличение в пропиточном растворе действующего вещества составом Caratox бензалкониум хлорида с 1,6 до 5,0% снизило агрессивность гриба, но не подавило его жизнеспособность (табл. 2).

Таблица 2

**Влияние температуры на потерю массы (%) образцов заболони сосны, обработанных растворами бензалкониум хлорида (БХ) после 60 суток инкубирования на газоне грибов рода *Trichoderma* /*Hypocrea***

Биоцидный состав	Средняя потеря массы образцов					
	<i>H. koningii</i> T-2			<i>T. koningii</i> B-9		
	4°C	15°C	28°C	4°C	15°C	28°C
Без обработки	4,2	6,5	4,8	0,3	0,8	1,1
Caratox (1,6 % БХ)	1,3	7,5	1,5	0,2	0,6	0,5
5% БХ	1,0	1,2	0,7	0	0	0

Причиной высокой устойчивости *H. koningii* к бензалкониум хлориду, вероятно, является то обстоятельство, что телеоморфа гриба сформировалась на глиняном полу, который был ранее антисептирован 5%-ным раствором медного купороса с добавлением 5% бензалкониум хлорида.

**Заключение.** Проведенное исследование показало, что архитектурно-этнографический комплекс Белорусского государственного музея народной архитектуры и быта подвержен опасности плесневого поражения практически круглогодично. Микромицеты, колонизирующие музейные объекты в холодное время года, не только ухудшают экспозиционный вид, но и разрушают материалы, включая те, что прошли антисептическую обработку без учета способности плесневых грибов адаптироваться к неблагоприятным

факторам внешней среды. Успешное решение данной проблемы возможно только после предварительного лабораторного моделирования вариантов биозащитных мероприятий и испытаний материалов на грибостойкость с использованием грибных штаммов, устойчивых к неблагоприятным факторам внешней среды, включая низкие температуры.

**Список источников:**

1. An Antarctic hot spot for fungi at Shackleton's Historic Hut on Cape Royds / R.A. Blanchette [et al.] // *Microb Ecol.* – 2010. – Vol. 60, № 1. – P. 29-38.
2. Мицкевич, А.Г. Микромицеты в системе экологического мониторинга объектов материального наследия / А.Г. Мицкевич, И.А. Гончарова, А.Н. Капич // *Экологический вестник.* – 2011. – № 2 (16). – С. 19–26.
3. An oligonucleotide barcode for species identification in *Trichoderma* and *Hypocrea* / I.S. Druzhinina [et al.] // *Fungal Genetics and Biology.* – 2005. – Vol. 42, № 10. – P. 813-828.
4. Левина, Е.А. Влияние источников углеродного и азотного питания на биосинтез целлюлаз грибами *Lentinus tigrinus* ВКМ F-3616 D и *Trichoderma viride* DRV F-1131 / Е.А. Левина, Н.А. Атыкян, В.В. Ревин // *Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация.* – 2016, № 1. – С. 85-93.