

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«Казанский (Приволжский) Федеральный Университет»
Институт фундаментальной медицины и биологии
Кафедра микробиологии

Направление подготовки: 06.03.01 – Биология

Профиль подготовки: Микробиология и вирусология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА С
ПОВЕРХНОСТИ ОБРАЗЦОВ ОРГАНИЧЕСКОГО ОСТЕКЛЕНИЯ С
МНОГОСЛОЙНЫМ ПОКРЫТИЕМ

Студентка 4 курса
группы 01-803
"31" *май* 2022 г.




(Миронская Е.А.)

Научный руководитель
к.б.н., доцент
"31" *май* 2022 г.



(Яковлева Г.Ю.)

Заведующий кафедрой
микробиологии
д.б.н., профессор
"31" *май* 2022 г.



(Ильинская О.Н.)

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
ВВЕДЕНИЕ	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1 Биоповреждения материалов, вызванные различными факторами	6
1.1.1 Коррозия материалов, вызванная действием микроорганизмов	8
1.1.2 Этапы микробиологической биodeградации полимеров	10
1.2 Микроорганизмы, участвующие в биodeградации	11
1.3 Возможные пути предотвращения биокоррозии	14
1.3.1 Биопленки как защитный механизм от биокоррозии	16
1.4 Разнообразие покрытий и материалов	19
1.4.1 Покрытия на основе эпоксидных смол	19
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	21
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	21
2.1 Объект исследования	21
2.2 Выделение чистых культур микроорганизмов с поверхности образцов композиций органического остекления с многослойным покрытием	21
2.3 Первичная идентификация бактериальных изолятов (окраска по Граму)	22

2.4. Определение видовой принадлежности чистых культур бактерий с помощью MALDI-TOF MS	23
2.5 Идентификация чистых культур микроскопических грибов	24
2.5.1 Секвенирование микромицетов по методу Сэнгера	25
2.6 Определение роста микромицетов на среде Чапека-Докса с различными концентрациями сахарозы	26
2.7 Определение агаролитической активности микроскопических грибов грибов	27
2.8 Статистическая обработка результатов	27
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	28
3.1 Выделение чистых культур микроорганизмов с поверхности образцов композитного органического стекла с многослойным покрытием	28
3.2 Идентификация бактерий, выделенных с образцов композитного органического остекления	29
3.3 Идентификация микроскопических грибов, выделенных с образцов композитного органического остекления	32
3.4 Оценка роста микроскопических грибов на среде Чапека-Докса с различными концентрациями сахарозы	34
3.5 Оценка роста микромицетов на голодном агаре и определение агаролитической активности	42
ВЫВОДЫ	47
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	49

ВВЕДЕНИЕ

Биоповреждения – очень обширная проблема, борьба с которой ведется уже на протяжении многих лет. Объектами биоповреждений являются разнообразные конструкции, материалы и сырье. В течение длительного времени они подвергаются влиянию биологических факторов, и действие их несет за собой такие изменения в структуре и качестве, которые могут привести к частичному или даже полному разрушению конструкции [Семенов с соавт., 2007]. Характерными представителями биоповреждающих агентов являются: бактерии, грибы, лишайники, водоросли, высшие растения, беспозвоночные, а также позвоночные животные [Воробьев с соавт., 2008].

Наиболее агрессивными биодеструкторами материалов являются именно микроорганизмы, и, к сожалению, на данный момент времени не существует такого материала, который мог бы противостоять их разрушительному воздействию [Pozo-Antoniao *et al.*, 2022, Kakakhel *et al.*, 2019].

Многие отрасли промышленности, включая авиацию, не являются исключением и нуждаются в современных разработках, в частности в области производства покрытия для композитного органического остекления. Одной из важнейших характеристик это материала является его светопропускная способность, которая под воздействием метаболитов микромицетов значительно снижается [Danilaev *et al.*, 2019].

Способы решения проблемы биоповреждений должны основываться на биологических, химических и физических законах. Также они не могут быть реализованы без тщательного изучения жизненного цикла биоповреждающих агентов и их экологии.

Целью данной работы является характеристика микробного сообщества, выделенного с поверхности образцов композиционного органического остекления с многослойным покрытием.

В соответствии с поставленной целью, решались следующие задачи:

- 1) Установить методом прямого белкового профилирования MALDI-TOF таксономическую принадлежность бактерий, выделенных с поверхности образцов композиций органического остекления с многослойным покрытием.
- 2) Выделить микроскопические грибы с поверхности образцов композиционного органического остекления с многослойным покрытием и провести идентификацию доминирующих микромицетов по морфологическим признакам и при помощи сиквенс-анализа гена 18S рРНК.
- 3) Оценить способность выделенных микромицетов расти на среде Чапека-Докса с различными концентрациями сахарозы и без сахарозы.
- 4) Определить агаролитическую активность выделенных микромицетов и их возможность расти на голодном агаре.

ВЫВОДЫ

1) С поверхности образцов композиций органического остекления с многослойным покрытием выделили 40 изолятов, из которых 85 % были идентифицированы с использованием метода прямого белкового профилирования MALDI-TOF. Из 34 идентифицированных бактерий 47% принадлежали к роду *Bacillus*, 15% – к роду *Staphylococcus* и 12% – к роду *Acinetobacter*.

2) С поверхности образцов композиционного органического остекления с многослойным покрытием были выделены микроскопические грибы, 81 % из которых принадлежат к родам *Aspergillus* и *Penicillium*, 9 % – к роду *Fusarium* и 8 % – к роду *Alternaria*. С помощью сиквенс-анализа по гену 18S рРНК были определены 3 доминирующих вида: *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium graminearum* и *Aspergillus puulaauensis*.

3) Снижение концентрации сахарозы в агаризованной среде Чапека-Докса в 10 раз не повлияло на рост *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* и *Aspergillus puulaauensis*, и увеличило размер колоний *Fusarium graminearum* в среднем в 2.0 ± 0.3 раза по сравнению с колониями, выросшими на полноценной среде Чапека-Докса. Полное удаление сахарозы из среды Чапека-Докса привело к увеличению диаметра колоний *Aspergillus niger* в среднем 1.2 ± 0.1 раза; *Aspergillus puulaauensis* – в 1.3 ± 0.1 раза; *Fusarium graminearum* – в 1.9 ± 0.3 раза по сравнению с диаметром колоний соответствующих грибов, выросших на полноценной среде Чапека-Докса, и не оказало влияния на рост *Penicillium chrysogenum*.

4) Средняя радиальная скорость роста *Fusarium graminearum* на средах со сниженной концентрацией сахарозы и без нее была в 4.1 ± 0.2 и 4.7 ± 0.4 раза выше средней скорости роста на полноценной среде Чапека-Докса. Средняя радиальная скорость роста *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* и *Aspergillus puulaauensis* достоверно не отличалась во всех вариантах.

5) Диаметр колоний *Penicillium chrysogenum* и *Fusarium graminearum*, выросших на голодном агаре превышал диаметр колоний на полноценной среде Чапека-Докса 1.9 ± 0.1 и 1.8 ± 0.3 раз соответственно; диаметр колоний *Aspergillus niger* достоверно не отличался во всех вариантах; диаметр колоний *Aspergillus puulaauensis* на голодном агаре в 1.4 ± 0.1 раза меньше диаметра колоний микромицета, выросшего на среде Чапека-Докса.

6) Колонии, выросшие на полноценной среде Чапека-Докса и на бедных средах отличались по морфологии. При низкой концентрации сахарозы в питательной среде или ее отсутствии, колонии микромицетов разрастались по среде культивирования в чашках Петри тонким слоем.

7) *Penicillus chrysogenum* и *Fusarium graminearum* обладали агаролитической активностью. У *Aspergillus niger* и *Aspergillus puulaauensis* агаролитическая активность отсутствовала.