

УДК [576.5:667.6:535.39](262.5)

КОМПЛЕКСЫ ГРИБОВ НА ПЛАСТИНАХ, ПОКРЫТЫХ ПРОТИВООБРАСТАЮЩЕЙ КРАСКОЙ, МОДИФИЦИРОВАННОЙ НАНОЧАСТИЦАМИ

© 2023 г. Н. И. Копытина^{a, *}, Н. А. Андреева^{b, c}, О. С. Сизова^{b, c}, А. А. Мосунов^b, В. П. Евстигнеев^b, Е. А. Бочарова^d

^aИнститут биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук, пос. Борок, Некоузский р-н, Ярославская обл., Россия

^bСевастопольский государственный университет, Севастополь, Россия

^cИнститут природно-технических систем, Севастополь, Россия

^dИнститут биологии южных морей им. А.О. Ковалевского Российской академии наук, Севастополь, Россия

*e-mail: kopytina_n@mail.ru

Поступила в редакцию 08.09.2022 г.

После доработки 15.02.2023 г.

Принята к публикации 28.03.2023 г.

В Севастопольской бухте (Черное море) осенью 2021 г. исследованы комплексы грибов на пластинах из оргстекла, окрашенных противобрастающей эмалью Биопласт-52 (контроль) и покрытиях на ее основе, модифицированных наночастицами (НЧ) Zn-FeO, ZnO и Fe-CuO. Идентифицированы 16 видов грибов, относящиеся к семи родам, пяти семействам, пяти порядкам и трем классам отдела Ascomycota. В видовом составе доминировали представители родов *Aspergillus* (семь видов) и *Alternaria* (четыре вида). Количество видов грибов, выделенных на субстратах, изменялось от четырех (с НЧ ZnO) до восьми (Биопласт-52 и с НЧ Zn-FeO), по времени экспозиции – от 3 (14-е сут) до 14 видов (61-е сут). На покрытии, модифицированном НЧ Fe-CuO, отсутствовали представители родов *Aspergillus* и *Alternaria*. На покрытии с НЧ ZnO обнаружены только виды рода *Aspergillus*. На этих покрытиях выявлены наименьшие численность и количество видов грибов. Наночастицы Fe-CuO и ZnO усиливали противобрастающие свойства эмали Биопласт-52.

Ключевые слова: обрастание, наночастицы металлов, грибостойкость, видовая структура микокомплексов, Черное море

DOI: 10.31857/S0320965223040137, **EDN:** RWFRTA

ВВЕДЕНИЕ

Среди проблем оптимального природопользования в Мировом океане одна из важнейших – управление процессами обрастания и коррозии. В прошлом веке было предложено и апробировано большое количество методов защиты металлов от обрастания. Экологическая опасность в большинстве случаев определяется наличием применяемого биоцида и его типом в лакокрасочном покрытии. Выщелачиваясь в окружающую среду, биоциды препятствуют оседанию и/или прикреплению обрастателей (Карпов и др., 2007). В противокоррозионных красках применяют биоактивные металлы Ag, Cu, Zn и оксиды ZnO, CuO, Cu₂O, V₂O₅, Al₂O₃, MgO, TiO₂, Co₃O₄. Оксиды металлов применяют более широко, поскольку их токсичность ниже.

Сокращения. НЧ – наночастицы; БП – пластины, покрытые эмалью Биопласт-52 (контрольные).

Для микроорганизмов в качестве микроэлементов необходимы металлы с низкой (Fe, Mo и Mn) и высокой токсичностью (Zn, Ni, Cu, V, Co, W и Cr). Микроэлементы в естественной концентрации участвуют в образовании ферментов, гормонов, витаминов, а также в ряде физиологических функций. В повышенных концентрациях Zn или Ni, и особенно Cu (II) приводят к гибели организмов вследствие блокирования ферментативных систем, денатурации белков и т.д. (Багаева и др., 2013).

Известно, что представители родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* способны к деградации большого числа различных материалов: вызывают коррозию металлов и сплавов, повреждают полимерные и лакокрасочные материалы, масла, смазки, нефть, стекло, кожу, ткани, бумагу и другие (Артемчук, 1981; Семенов и др., 2008; Egofeev et al., 2012; Сахно и др., 2018). Грибы способны продуцировать органические кислоты: щавеле-

левую, молочную, уксусную, фосфорную, глицериновую, лимонную, глюконовую, фумаровую, яблочную и янтарную. Большой спектр кислот синтезируют грибы сем. *Aspergillaceae* (рода *Aspergillus* и *Penicillium*) (Барина и др., 2010). Разработаны ГОСТы для выполнения испытаний на устойчивость к воздействию плесневых грибов таких материалов, как лакокрасочные покрытия,¹ технические изделия,² полимерные материалы³ и другие.

Под воздействием бактерий и микромицетов на поверхности металлов физико-химические процессы, начинают проявляться уже на начальном этапе и зависят от природы металла и вида микроорганизма. В опытах с культурами бактерий и грибов, через одни–пять суток с начала экспозиции на торцах металлов происходит накопление прозрачной жидкости (экссудата) с рН 8–11. В воде под воздействием химических реакций с участием активных форм кислорода (механизм изложен в работе (Карташов и др., 2013)) происходит образование O_2^- . Он становится главным реагентом процесса, а после разрушения оксидной пленки способен хемосорбироваться на поверхности металла и вызывать его разрушение. Образующийся в результате жизнедеятельности микроорганизмов O_2^- переходит во внешнюю среду. Установлено, что существует связь между способностью микроорганизма секретировать супероксидный анион-радикал O_2^- и степенью коррозионного разрушения различных металлов (Челнокова, 2011; Карташов и др., 2013). В лабораторных экспериментах микромицеты *Aspergillus niger* Tiegh. 1867, *A. flavus* Link 1809 и *Penicillium chrysogenum* Thom 1910, *P. aurantiogriseum* Dierckx 1901 (= *P. cyclopium*), *Talaromyces funiculosus* (Thom) Samson, N. Yilmaz, Frisvad & Seifert 2011 (= *P. funiculosum* Thom 1910) и *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. 1912 уже на начальных сроках экспозиции активно разрушают цинк, сталь 12хН10Т и оцинкованную сталь Ст 10 (Челнокова, 2011).

Применение биметаллических НЧ, содержащих два металла, с разделенными компонентами на уровне одной частицы со структурой “ядро–оболочка” или “янус”–наночастицы, позволяет совмещать биологическую активность металлов. Выявлены противоопухолевые и антимикробные

свойства биметаллических НЧ (Бакина и др., 2018; Ложкомоев и др., 2018).

В настоящем исследовании выдвинута гипотеза о потенциальной эффективности биметаллических НЧ для использования их в составе противообрастающих покрытий.

Цель работы – изучить динамику численности и особенности видового состава микромицетов на пластинах, покрытых противообрастающей краской, модифицированной НЧ, в прибрежной зоне Черного моря.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В Севастопольской бухте Черного моря в период с 26.09. по 25.11.2021 г. проводили исследования грибов в сообществах перифитона. Акватория бухты подвержена значительной антропогенной нагрузке: недалеко от места установки пластин находится корабельная стоянка, причал городских катеров, выпуск сточных вод без очистки и “дикий” пляж.

В эксперименте использовали пластины из оргстекла (полиметилакрилат) размером 10.0 × 15.0 × 0.3 см, окрашенных эмалью Биопласт-52, модифицированной наночастицами Zn-FeO, ZnO и Fe-CuO, которые обладают антибактериальными и фунгицидными свойствами (Al-Fori et al., 2014; Lozhkomoev et al., 2018; Aldalbahi et al., 2020; Сенаторова и др., 2021). БП служили контролем. Противообрастающая эмаль Биопласт-52 содержит пониженное количество токсинов и представляет собой суспензию неорганических соединений меди (пигмент) в растворе винилового пленкообразователя, модифицированного эпоксидной и акриловой смолами, в органических растворителях. Покрытие на основе эмали, нанесенное одним слоем толщиной 100–120 мкм по антикоррозионному покрытию, обеспечивает защиту от обрастания в течение не менее полутора лет. Скорость выщелачивания меди 10–20 мг/см² в сутки.^{4,5} В документе не указаны массовая доля (%), формы соединений меди и их соотношения.

В эмаль Биопласт-52 в режиме постоянного перемешивания добавляли навеску наночастиц небольшими порциями до достижения 5%-ной массовой доли исследуемого вещества. Полученное покрытие кистью наносили на пластины и высушивали на воздухе при комнатной температуре не менее двух суток. Исследование скорости выщелачивания не проводили. Биметаллические НЧ металлов получены от коллег из Института

¹ ГОСТ 9.050-75 Группа Т99. Межгосударственный стандарт. Единая система защиты от коррозии и старения покрытия лакокрасочные. Методы лабораторных испытаний на устойчивость к воздействию плесневых грибов.

² ГОСТ 9.048-89 Единая система защиты от коррозии и старения. Изделия технические. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов.

³ ГОСТ 9.049-91 Единая система защиты от коррозии и старения. Материалы полимерные и их компоненты. Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов.

⁴ Эмаль “Биопласт-52”. 2017. Технические условия. ТУ 20.30.12.130-002-03218320-2017. Дата введения 05.09.2017 г.

⁵ Свидетельство о государственной регистрации 2018. ВУ.70.06.01.008.Е.001139.18 от 26.03.2018. Евразийский экономический Союз. Минск.

физики прочности и материаловедения СО РАН, г. Томск.

Пластины устанавливали в рамку на расстоянии 1 см друг от друга и погружали на глубину от 1.5 м перпендикулярно поверхности воды. Пластины, рамки и крепежную проволоку обрабатывали 96%-ным этанолом для уничтожения микроорганизмов на их поверхностях. Субстраты извлекали из воды на 3-и, 14, 21 и 61-е сутки экспозиции. Всего изучено 16 образцов. В период исследования температура воды понизилась от 23.5 до 16.6°C, соленость варьировала от 16.6 до 18.1‰, рН от 8.2 до 8.5.

После поднятия из воды каждую пластину упаковывали в стерильный полиэтиленовый пакет, образцы доставляли в лабораторию в сумках-холодильниках. Пленку микрообрастаний снимали стерильной палочкой-тампоном в заранее подготовленные пробирки с 5 мл стерильной морской воды. Грибы выделяли на средах Сабуро с глюкозой (производитель компания Биотехновация, г. Электрогорск) и Чапека (производитель ООО «НПЦ Биокомпас – С», г. Углич), приготовленных на морской воде. Для подавления роста бактерий в 1 л среды добавляли 1 мл 3%-ного спиртового раствора левомецетина. В чашки Петри вносили по 0.2 мл суспензии с обростом, материал засевали по две повторности на каждую среду и инкубировали в термостате при температуре 18–20°C. Колонии грибов подсчитывали на 10–14-е сут. Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) грибов рассчитывали на 1 см² поверхности пластин по формуле, предложенной авторами:

$$M = AV_1/V_2S, \quad (1)$$

где M – количество микромицетов, КОЕ/см²; A – среднее количество колоний, выросших на чашке Петри; V_1 – объем исходной суспензии со взвесью оброста; V_2 – объем высеваемой суспензии; S – площадь поверхности исследуемого объекта (см²).

Грибы идентифицировали по “морфолого-культуральным признакам”, используя определители грибов (Билай, Коваль, 1988; De Hoog et al., 2000; Pathogenic..., 2002 и др.) Современные названия и таксономическая принадлежность видов грибов соответствуют электронной международной базе данных Index Fungorum.⁶ Микропрепараты грибов исследовали с применением светового биологического микроскопа Levenhuk 74-T при увеличении ×400.

Экологический анализ микокомплексов (группа видов грибов, занимающих одно местообитание) проведен по следующим структурным

показателям: число колониеобразующих единиц (КОЕ/см²), количество видов в комплексах, видовой состав (видовая структура).

Данные обрабатывали с помощью программы MS Excel и пакета статистических программ PRIMER® 5.2.8 (Clarke et al., 2014). Для таксономической характеристики комплексов грибов применяли индексы таксономического разнообразия – индекс средней таксономической отличительности (или таксономического своеобразия) Δ^+ (Average Taxonomic Distinctness index, AvTD) и индекс вариабельности Λ^+ (Variation in Taxonomic Distinctness index, VarTD) (функция TAXDTEST) (Clarke, Warwick, 2001; Clarke et al., 2014). Индексы вычисляли на основании данных о наличии или отсутствии вида с учетом родственных отношений между видами, представленными в виде филогенетического древа (от вида до отдела) в каждой пробе. Это позволило дать статистическое обоснование родства структуры в пределах сообщества. Индекс Δ^+ – средняя длина связей в ряду видов таксономического древа и отражает вертикальные связи, рассчитан по формуле:

$$\Delta^+ = [\sum \sum_{i < j} \omega_{ij}] / [n(n-1)/2], \quad (2)$$

где n – количество видов в выборке, и ω_{ij} – мера таксономического различия, заданная длиной пути, который связывает виды i и j в иерархической классификации Линнея.

Индекс Λ^+ – это дисперсия парных длин родственных связей, воспроизводит горизонтальную пропорцию сообщества (число таксонов на каждом уровне иерархического древа:

$$\Lambda^+ = [\{\sum \sum_{i < j} \omega_{ij}^2\} / \{n(n-1)/2\}] - [\Delta^+]^2, \quad (3)$$

обозначения такие же, как в формуле (2).

Преимущество использованного метода: значения индексов не зависят от размера проб; числа взятых проб; численности и количества видов в образце; имеется возможность сравнивать с архивными данными, представленными списком видов. Данные, представленные в виде таблицы с указанием количества таксонов разного ранга и их соотношениями, не показывают общности филогенетической структуры. Графики таксономических индексов визуально отображают различия структуры таксонов, а также позволяют получить статистически надежную оценку филогенетической структуры в условиях влияния различных экологических факторов (Clarke, Warwick, 2001; Clarke et al., 2014).

Сходство видового состава микокомплексов грибов вычислено по коэффициенту Брея-Кёртеца (функция Similarity) (Clarke, Warwick, 2001; Clarke et al., 2014).

⁶ Электронная международная база данных Index Fungorum [Электронный ресурс]. – URL: <https://indexfungorum.org/Names/Names.asp> (Дата обращения 01.08.2022).

Таблица 1. Видовой состав грибов в разные сроки экспозиции на пластинах с различным покрытием

Вид гриба	Время экспозиции, сут				Варианты покрытия пластин			
	3	14	21	61	БП	Zn-FeO	ZnO	Fe-CuO
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl. 1912 ^a	–	–	+	+	–	+	–	–
<i>Al. arborescens</i> E.G. Simmons 1999	–	–	+	–	–	+	–	–
<i>Alternaria</i> spp.	–	–	+	+	–	+	–	–
<i>Al. tenuissima</i> (Kunze) Wiltshire 1933	–	–	+	+	–	+	–	–
<i>Aspergillus carbonarius</i> (Bainier) Thom 1916	–	–	–	+	+	–	–	–
<i>A. flavus</i> Link 1809 (= <i>A. oryzae</i> (Ahlb.) Cohn 1883) ^c	–	–	–	+	–	–	+	–
<i>A. fumigatus</i> Fresen. 1863	–	–	–	+	–	–	+	–
<i>A. granulatus</i> Raper & Thom 1944	–	–	–	+	+	–	–	–
<i>A. niger</i> Tiegh. 1867 ^{a, b, c}	+	–	–	+	+	+	+	–
<i>Aspergillus</i> spp.	+	–	–	+	+	–	+	–
<i>A. terreus</i> Thom 1918 ^{a, b, c}	–	–	–	+	+	–	–	–
<i>Cladophialophora</i> spp.	–	+	–	+	+	–	–	+
<i>Cladosporium</i> spp.	–	+	–	+	–	+	–	+
<i>Penicillium citrinum</i> Thom 1910	+	–	–	–	–	–	–	+
<i>Sarocladium ochraceum</i> (Onions & G.L. Barron) Summerb. 2011	+	–	–	–	+	+	–	+
<i>Stachybotrys chartarum</i> (Ehrenb.) S. Hughes 1958	+	–	–	–	+	+	–	+
Светлый мицелий	+	+	+	+	+	+	+	–
Темный мицелий	–	–	–	+	–	–	–	+

Примечание. “+” – вид присутствует; “–” – вид отсутствует; Виды грибов, указанные как обязательные при выполнении испытаний на устойчивость к воздействию плесневых грибов: “^a” – ГОСТ 9.050-75. Покрытия лакокрасочные; “^b” – ГОСТ 9.048-89. Изделия технические; “^c” – ГОСТ 9.049-91. Материалы полимерные и их компоненты.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В воде первичную пленку обрастания образуют микроскопические организмы различных таксономических групп: бактерии, цианобактерии, микроводоросли, микроскопические грибы.

Всего идентифицировано 16 видов грибов, относящихся к семи родам, пяти семействам, пяти порядкам, трем классам отдела Ascomycota, также выделены стерильные светлый и темный мицелии. В видовом составе доминировали представители родов *Aspergillus* (семь видов) и *Alternaria* (четыре вида) (табл. 1).

Грибы обнаружены в 68.8% проб. Средняя численность микромицетов на всех субстратах за время экспозиции была низкой – 0–6.4 КОЕ/см². Общее число видов, выделенных на субстратах, изменялось от четырех (ZnO) до восьми (БП и Zn-FeO). В анализе таксономической структуры присутствие мицелия не учитывали как вид микромицета. Динамика численности и количества видов грибов показаны на рис. 1.

Общая тенденция динамики численности грибов на субстратах сводилась к понижению численности и уменьшению количества видов к 21-м

суткам экспозиции, за исключением поверхности с НЧ Zn-FeO.

Видовому составу грибов уделяют особое внимание при испытаниях на стойкость к воздействию плесневых грибов большого числа материалов (ГОСТ 9.050-75; ГОСТ 9.048-89; ГОСТ 9.049-91). Видовая структура комплексов грибов контрольных пластин (БП) имела наибольшее сходство с микокомплексами всех вариантов покрытия – от 40.0% (Fe-CuO) до 44.4% (Zn-FeO). По восемь видов отмечено на покрытиях Zn-FeO. На них обнаружены три общих вида, что объясняет их максимальное сходство. В комплексах покрытий ZnO и Fe-CuO не было общих видов грибов, сходство структуры было 0.0%.

Для выявления различий таксономических структур микокомплексов, развивающихся на покрытиях, построены графики таксономических индексов (рис. 2).

Минимальное значение Δ^+ (рис. 2а) зарегистрировано на пластинах с ZnO ($\Delta^+ = 16.67$) – под нижней границей доверительной воронки. В микокомплексе присутствовали только представители рода *Aspergillus* (сем. Aspergillaceae). Сгруп-

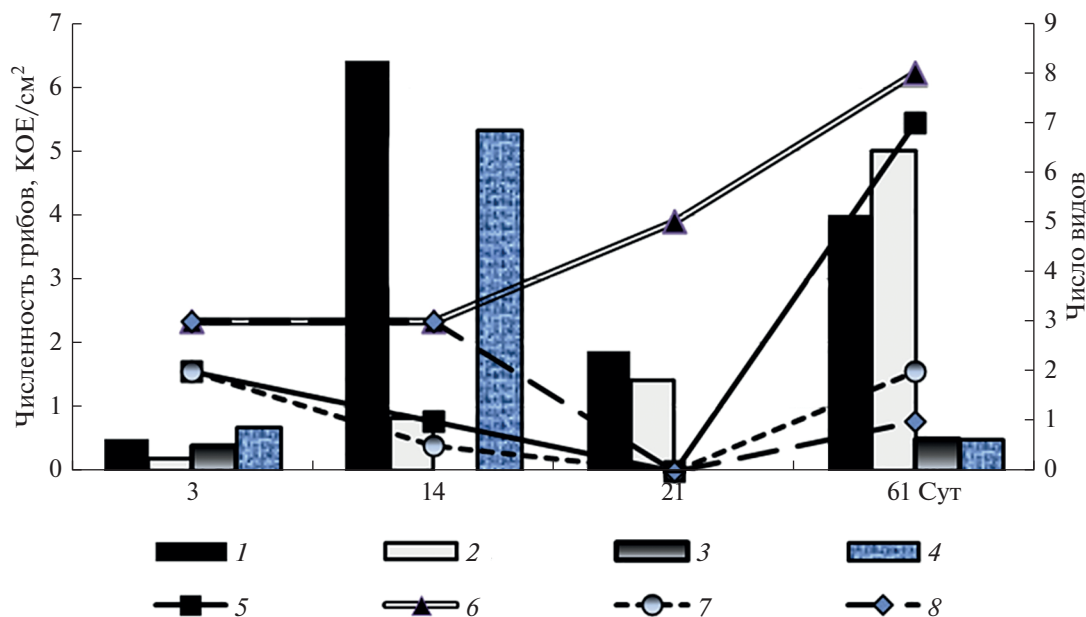


Рис. 1. Динамика численности (1–4) и количества видов грибов (5–8) в течение эксперимента на пластинах с покрытиями. 1, 5 – БП (контроль); 2, 6 – Zn-FeO; 3, 7 – ZnO; 4, 8 – Fe-CuO.

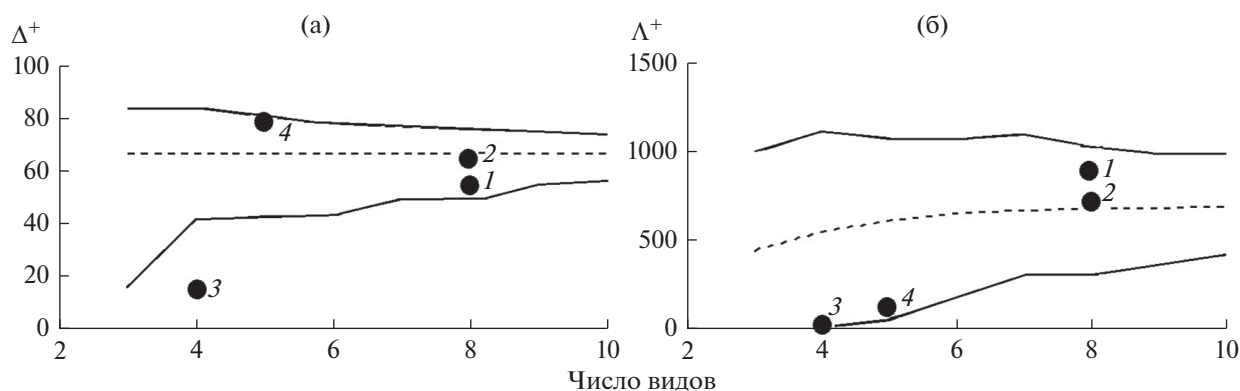


Рис. 2. Значения таксономических индексов Δ^+ (а) и Λ^+ (б) для микокомплексов на пластинах с различным покрытием, рассчитанных согласно списку видов, обнаруженных на всех субстратах. Здесь и на рис. 3, сплошной линией обозначена воронка 95%-ной вероятности, пунктирной – средняя величина индекса, ● – значения индексов Δ^+ и Λ^+ для микокомплексов на пластинах БП: 1 – контроль; 2 – с Zn-FeO; 3 – ZnO; 4 – Fe-CuO.

пированность видов по небольшому числу родов происходит при воздействии неблагоприятных условий (Clarke, Warwick, 2001). Максимальное значение индекса ($\Delta^+ = 78.33$) получено на пластинах с Fe-CuO (на верхней границе доверительной воронки). В составе комплекса обнаружено пять видов грибов, соотношение вид/род равно 1, минимальное в рассматриваемых микокомплексах, и соответствует большему таксономическому разнообразию. Видовой состав микокомплексов других покрытий наиболее выровнен по вертикальной таксономической структуре, соотношение вид/род равно 1.6–2.0.

Значение индекса $\Lambda^+ = 0$ было на пластинах с покрытием с ZnO (рис. 26) – случай, когда все виды относятся к одному роду (Clarke, Warwick, 2001). Низкое значение индекса для пластин с Fe-CuO ($\Lambda^+ = 113.89$) обусловлено максимальной равномерностью распределения низших таксономических рангов по высшим.

По времени экспозиции число видов грибов изменялось от 3 (14-е сутки) до 13 (61-е сутки). Частота встречаемости видов микромицетов была очень низкой, сходство видового состава по срокам экспозиции колебалось от 18.2 (3-и и 14-е сут) до 42.1% (21-е и 61-е сут). Не выявлены виды гри-

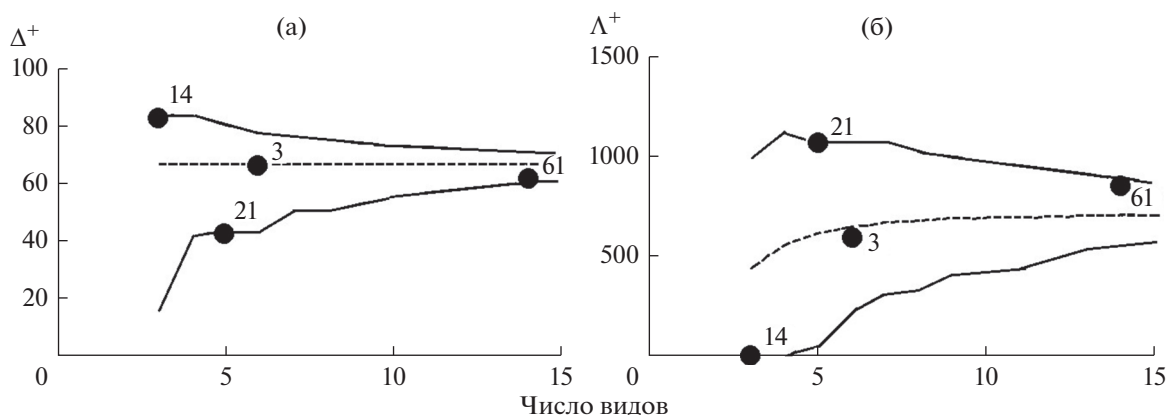


Рис. 3. Значения Δ^+ (а) и Λ^+ (б) для микокомплексов, выделенных в различные сроки экспозиции и рассчитанных согласно списку видов, обнаруженных на всех субстратах, ● — значения индексов Δ^+ и Λ^+ на 3-и, 14, 21, 61-е сутки экспозиции пластин.

бов, присутствующие во все сроки экспозиции (табл. 1).

Получены таксономические индексы, отражающие особенности структуры микокомплексов в зависимости от срока погружения пластин в море (рис. 3). Минимальное значение индекса Δ^+ (43.33) было на 21-е сутки. Выявлено четыре вида грибов из рода *Alternaria*. Следовательно, в этот период сформировались неблагоприятные условия для развития микобиоты. Максимальное значение индекса Δ^+ (83.33) зафиксировано на 14-е сутки — виды *Cladophialophora* sp., *Cladosporium* sp., соотношение вид/род = 1. Два вида принадлежат к двум семействам из двух отделов, что соответствует высокому таксономическому разнообразию.

Значение индекса Λ^+ равно нулю — наибольшая горизонтальная выравненность таксонов по родам — получено на 14-е сутки (рис. 3б). На 21-е сутки его значение было максимальным ($\Lambda^+ = 1066.67$), что указывает на большую сгруппированность видов в одном роде (зеркальное отображение индекса Δ^+).

На 14-е и 21-е сутки зарегистрировано три и пять видов соответственно, а на 21-е сутки экспозиции на всех субстратах выявлено понижение численности грибов (рис. 1). В период исследования происходила перестройка видовой структуры комплексов: на 14-е сутки из состава микобиоты выпали виды *Penicillium citrinum*, *Sarocladium ochraceum* и *Stachybotrys chartarum* (случайные виды); не выявлены представители рода *Aspergillus*; на 21-е сутки впервые обнаружены представители рода *Alternaria* (табл. 1). На 61-е сутки зафиксировано максимальное число видов, что, вероятно, связано с увеличением общей биомассы оброста и накоплением различных загрязнений на пластинах.

Наиболее выраженными свойствами грибоустойкости обладали покрытия с ZnO и с Fe-CuO.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Молекулярно-филогенетические данные, полученные для облигатно морских микромицетов (в частности, родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Coprinus*, *Exidia*, *Penicillium* и некоторых других), свидетельствуют об их наземном происхождении (Richards et al., 2012; Jones et al., 2015; 2019; Amend et al., 2019).

В нашем исследовании обнаружены виды *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, входящие в список обязательных, при испытании различных материалов на грибоустойкость (табл. 1). Так из семи видов рода *Aspergillus* на БП обнаружены пять (в том числе, *A. niger*, *A. terreus*), на покрытии с ZnO — четыре (*A. flavus*, *A. niger*), Zn-FeO — один (*A. niger*), Fe-CuO — 0. Виды рода *Alternaria* выявлены только на покрытии с Zn-FeO — четыре (в том числе *A. alternata*). Следовательно, исследуемые покрытия так же поражаются грибами, которые разлагают лакокрасочные материалы. Виды *Aspergillus* и меланинсодержащие микромицеты (в нашем случае, представители родов *Alternaria*, *Cladophialophora*, *Cladosporium*, *Stachybotrys*) известны как индикаторы нефтяного, коммунально-бытового, ливневого, а также загрязнения тяжелыми металлами (Терехова, 2007; Al-Dossary et al., 2019; Копытина, 2020). Следовательно, одной из причин развития активных редуцентов на исследуемых субстратах можно считать загрязнение поверхностей в результате высокой антропогенной нагрузки, о чем свидетельствует увеличение числа видов грибов на 61-е сутки эксперимента.

Исследования лакокрасочных композиций выявили, что их фунгитоксичные свойства, в основном, определяют пигменты (Мартинкевич, Прокопчук, 2014; Сабадаха, Прокопчук, 2014; Сабадаха и др., 2016), поэтому различия структуры

микокомплексов на поверхностях субстратов также могут быть обусловлены свойствами НЧ.

На покрытии с НЧ Fe-CuO не обнаружены виды родов *Aspergillus* и *Alternaria*, вероятно, это обусловлено повышенным присутствием ионов Cu^{2+} , которые относятся к токсичным элементам (Багаева и др., 2013). Известно, что ионы меди снижают скорость роста и спорообразование клинических штаммов *Aspergillus niger*. Отмечено, что при высоких концентрациях ионы Cu^{2+} могут оказывать ингибирующее действие на липолитическую активность некоторых штаммов *A. niger* (Баязитова и др., 2015). В обрастании медных рам, погруженных в Черное море в районе г. Севастополя сроком на 2 года, не обнаружили представителей родов *Aspergillus* и *Alternaria*, однако на стальных конструкциях выделили виды из родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* и некоторых других, но не *Alternaria* (Артемчук, 1981). В Оманском заливе исследована противообрастающая самополирующая краска Interspeed® BRA640 (International Paint, Гейтсхед, Великобритания), которая содержит ~25–50% закиси меди (Cu_2O) по массе, средняя скорость выщелачивания меди 3.8 мг/см^2 в сутки. После шести месяцев экспозиции на поверхности этой краски молекулярными методами обнаружены виды *Aspergillus tubingensis* Mosseray 1934, *A. terreus*, *A. niger*, *Cladosporium halotolerans* Zalar, de Hoog & Gunde-Cim. 2007, *Alternaria* sp. (Dobretsov et al., 2021). В нашем эксперименте на покрытии с Fe-CuO, содержащем максимальную концентрацию меди, также выявлено шесть видов грибов, но не из родов *Aspergillus* и *Alternaria*. Исходя из динамики численности и видового состава микромицетов на покрытии с НЧ Fe-CuO (табл. 1, рис. 1), можно предположить, что данная композиция НЧ усиливает противообрастающие свойства эмали БП.

Минеральные и деревянные поверхности от биообрастаний хорошо защищает ZnO, если он составляет от 15.0 до 80.0% объемной концентрации пигмента (Сабадаха, Прокопчук, 2014; Сабадаха и др., 2016). Оксид цинка, полученный из водного экстракта растения *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. (1934), в лабораторных условиях ингибирует рост грибов *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. 1881, *Alternaria alternata* и *Helmenthosporium* sp. (Al-dalbahi et al., 2020).

Наши исследования показали, что НЧ ZnO, добавленные в состав эмали БП, в общем повышают устойчивость покрытия в морской среде, но не препятствуют развитию грибов рода *Aspergillus* (табл. 1, рис. 1).

По защитным свойствам пигменты делятся на группы: 1) ингибитивные (свинцовый сурик, основной хромат цинка, цинковый крон, цинковая пыль, алюминиевая пудра); 2) нейтральные (барит, некоторые оксиды железа); 3) стимуляторы

коррозии (некоторые оксиды железа) (Мартинкевич, Прокопчук, 2014). Вероятно, свойство НЧ FeO как стимулятора коррозии проявилось в покрытии с НЧ Zn-FeO.

Выводы. В осенний период на пластинах с противообрастающими покрытиями идентифицировано 16 видов грибов, относящихся к семи родам, пяти семействам, пяти порядкам, трем классам отдела Ascomycota. Грибы выделены в 68.8% проб. Средняя численность микромицетов на всех субстратах и по срокам экспозиции была низкой — от 0 до 6.4 КОЕ/см^2 . Число видов на субстратах изменялось от четырех ZnO до восьми (БП и Zn-FeO). По срокам экспозиции число видов грибов варьировало от 3 (14-е сутки) до 14 (61-е сутки). Выявлено влияние наночастиц на видовую структуру микромицетов: на покрытии, модифицированном НЧ Fe-CuO, не развивались грибы из родов *Aspergillus* и *Alternaria*; на покрытии с НЧ ZnO обнаружены только представители рода *Aspergillus*, а численность и количество видов грибов на этих покрытиях были наименьшие. Наночастицы Fe-CuO и ZnO усиливали противообрастающие свойства эмали БП. Необходимо продолжить исследование лакокрасочных композиций с НЧ в другие сезоны года, чтобы убедиться в перспективе их использования в качестве биоцидов в составе антикоррозионных красок.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работы по синтезу НЧ, изготовлению модифицированных покрытий и организации эксперимента выполнены за счет гранта РФФ 21-13-00498, <https://rscf.ru/project/21-13-00498>. Исследование микромицетов проведено за счет государственных заданий: Института биологии внутренних вод РАН “Роль прокариотных и эукариотных микроорганизмов и вирусов в структуре и функционировании водных экосистем”, № 121051100102-2 и ФИЦ Института биологии южных морей РАН “Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса”, № 121030300149-0.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Артемчук Н.Я. 1981. Микофлора морей СССР. М.: Наука.
- Багаева Т.В., Ионова Н.Э., Надеева Г.В. 2013. Микробиологическая ремедиация природных систем от тяжелых металлов. Казань: Казанск. ун-т.
- Бакина О.В., Глазкова Е.А., Сваровская Н.В. и др. 2018. Магнитные наночастицы Cu/Fe с противоопухолевой активностью // Сиб. онкол. журн. Т. 17. № 1. С. 19. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2018-17-1-19-25>
- Баранова К.В., Власов Д.Ю., Шупарев С.М. и др. 2010. Органические кислоты микромицетов, изолиро-

- ванных с каменистых субстратов // Микология и фитопатология. Т. 44. Вып. 2. С. 137.
- Баязитова А.А., Глушко Н.И., Лисовская С.А. и др. 2015. Влияние солей Cu^{2+} на ферментативную активность клинических изолятов *Aspergillus niger* // Уч. зап. Казанск. ун-та. Серия: Естественные науки. Т. 157. Кн. 4. С. 39.
- Билай В.И., Коваль Э.З. 1988. Аспергиллы. Определитель. Киев: Наукова думка.
- Карпов В.А., Ковальчук Ю.Л., Полтаруха О.П., Ильин И.Н. 2007. Комплексный подход к защите от морского обрастания и коррозии. М.: Тов-во науч. изд. КМК.
- Карташов В.Р., Челнокова М.В., Калинина А.А. и др. 2013. Генерация O_2 микроорганизмами и его роль в биологической коррозии металлов // Тр. Нижегород. гос.-техн. ун-та им. Р.Е. Алексеева. № 1(98). С. 242.
- Копытина Н.И. 2020. Микобиота пелагиали Одесского региона северо-западной части Черного моря // Вестн. Томск. гос. ун-та. Биология. № 52. С. 140. <https://doi.org/10.17223/19988591/52/8>
- Ложкомоев А.С., Бакина О.В., Глазкова Е.А. и др. 2018. Закономерности формирования антимикробных микро/нанокмозитов при окислении биметаллических наночастиц Al/Zn // Журн. физ. химии. Т. 92. № 12. С. 1958. <https://doi.org/10.1134/S0044453718120270>
- Мартинкевич А.А., Прокопчук Н.Р. 2014. Пигменты для современных лакокрасочных материалов. Минск: Белорус. гос. тех. ун-т.
- Сабадаха Е.Н., Прокопчук Н.Р. 2014. Разработка биозащитного лакокрасочного материала для внутренних работ по минеральной поверхности // Тр. Белорус. гос. тех. ун-та. Химия, технология орган. веществ и биотехнол. № 4. С. 26.
- Сабадаха Е.Н., Прокопчук Н.Р., Шутова А.Л. 2016. Принципы снижения экологической нагрузки при окрашивании деревянной поверхности биозащитным лакокрасочным материалом // Тр. Белорус. гос. тех. ун-та. № 4. С. 225.
- Сахно О.Н., Селиванов О.Г., Чухланов В.Ю. 2018. Биостойкость полимерных материалов и методы ее оценки. Учебное пособие. Владимир: Изд-во Владимир. гос. ун-та.
- Семенов С.А., Гумаргалиева К.З., Заиков Г.Е. 2008. Характеристики процессов и особенности повреждения материалов техники микроорганизмами в условиях эксплуатации // Вестник МИТХТ. Т. 3. № 2. С. 3.
- Сенаторова Д.Д., Никиян А.Н., Давыдова О.К. 2021. Визуализация и антимикробная активность синтезированных наночастиц металлов в отношении бактерий *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* // Шаг в науку. № 3. С. 21.
- Терехова В.А. 2007. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. М.: Наука.
- Челнокова М.В. 2011. Стимулированная микромицетамии коррозия металлов: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. Нижний Новгород. 25 с.
- Aldalbahi A., Alterary S., Almoghim R.A.A. et al. 2020. Greener synthesis of zinc oxide nanoparticles: characterization and multifaceted applications // Molecules. № 25(18). P. 4198. <https://doi.org/10.3390/molecules25184198>
- Al-Dossary M.A., Abood S.A., AL-Saad H.T. 2019. Biodegradation of crude oil using *Aspergillus* species // J. Biol. Agriculture and Healthcare. V. 9. № 4. P. 60. <https://doi.org/10.7176/JBAH/9-4-09>
- Al-Fori M., Dobretsov S., Myint M.T., Dutta J. 2014. Anti-fouling properties of zinc oxide nanorod coatings // Biofouling. № 30(7). P. 871. <https://doi.org/10.1080/08927014.2014.942297>
- Amend A., Burgaud G., Cunliffe M. et al. 2019. Fungi in the marine environment: open questions and unsolved problems // Ecol. and Evolution. Sci. V. 10(2). e01189-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.01189-18>
- Clarke K.R., Gorley R.N., Somerfield P.J., Warwick R.M. 2014. Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. Plymouth: PRIMER-E.
- Clarke K.R., Warwick R.M. 2001. A further biodiversity index applicable to species lists: Variation in taxonomic distinctness // Mar. Ecol. Progr. Ser. № 216. P. 265. <https://doi.org/10.3354/MEPS216265>
- De Hoog G.S., Guarro J., Gene J., Figueras M.J. 2000. Atlas of clinical fungi. Utrecht: Reus.
- Dobretsov S., Al-Shibli H., Maharachchikumbura S.S.N., Al-Sadi A.M. 2021. The Presence of Marine Filamentous Fungi on a Copper-Based Antifouling Paint // Appl. Sci. V. 11. P. 8277. <https://doi.org/10.3390/app11188277>
- Erofeev V.T., Bogatov A.D., Bogatova S.N. et al. 2012. Influence of the operational environment on biological firmness of building composite // Magazine of Civil Engineering. № 33(7). P. 23. <https://doi.org/10.5862/MCE.33.3>
- Jones E.B.G., Pang K.-L., Abdel-Wahab M.A. et al. 2019. An online resource for marine fungi // Fungal Diversity. № 96. P. 347. <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00426-5>
- Jones E.B.G., Suetrong S., Sakayaroj J. et al. 2015. Classification of marine Ascomycota, Basidiomycota, Blastocladiomycota and Chytridiomycota // Fungal Diversity. № 73(1). P. 1. <https://doi.org/10.1007/s13225-015-0339-4>
- Lozhkomoiev A.S., Lerner M., Pervikov A. et al. 2018. Development of Fe/Cu and Fe/Ag bimetallic nanoparticles for promising biodegradable materials with antimicrobial effect // Nanotechnologies in Russia. V. 13(1–2). P. 18. <https://doi.org/10.1134/S1995078018010081>
- Pathogenic fungi in humans and animals. 2002. New York: CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203909102>
- Richards T.A., Jones M.D., Leonard G., Bas D. 2012. Marine fungi: their ecology and molecular diversity // Ann. Rev. Mar. Sci. № 4. P. 495. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120710-100802>

Communities of Fungi on Plates Coated with Antifouling Paint Modified by Nanoparticles

N. I. Kopytina^{1, *}, N. A. Andreeva^{2, 3}, O. S. Sizova^{2, 3}, A. A. Mosunov³,
V. P. Evstigneev³, and E. A. Bocharova⁴

¹*Papanin Institute for Biology of Inland Waters Russian Academy of Sciences,
Borok, Nekouzskii raion, Yaroslavl oblast, Russia*

²*Sevastopol State University, Sevastopol, Russia*

³*Institute of Natural and Technical Systems, Sevastopol, Russia*

⁴*Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, Sevastopol, Russia*

*e-mail: kopytina_n@mail.ru

In the Sevastopol Bay (Black Sea), in the autumn period of 2021, fungal complexes were studied on plexiglass plates painted with anti-fouling enamel Bioplast-52 (control) and coatings based on it modified with nanoparticles (NP) Zn-FeO, ZnO and Fe-SiO. 16 species of fungi belonging to seven genera, five families, five orders, three classes of the Ascomycota division have been identified. The species composition was dominated by representatives of the genera *Aspergillus* (7 species) and *Alternaria* (4 species). The total number of fungal species isolated on substrates varied from 3 (with ZnO NP) to 8 (Bioplast-52) and with Zn-FeO NP), and by exposure time – from 3 (fourteenth day) to 14 species (sixty-first day). There were no representatives of the genera *Aspergillus* and *Alternaria* on the coating modified with Fe-CuO NP; only species of the genus *Aspergillus* were found on the coating with ZnO NP, the smallest number and number of fungal species were found on these coatings. Fe-CuO and ZnO nanoparticles enhanced the antifouling properties of Bioplast-52 enamel.

Keywords: fouling, metal nanoparticles, fungus resistance, species structure of communities of fungi, Black Sea