

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

КРИВУШИНА
Анастасия Александровна

МИКРОМИЦЕТЫ В АВИАЦИОННОМ ТОПЛИВЕ

Специальность 03.02.12 – микология

Автореферат на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2012

Работа выполнена на кафедре микологии и альгологии Биологического факультета Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова и в Федеральном государственном унитарном предприятии «Всероссийский научно-исследовательский институт авиационных материалов» (ФГУП «ВИАМ»)

Научный руководитель

кандидат биологических наук
Чекунова Лидия Николаевна

Официальные оппоненты

доктор биологических наук
Феофилова Елена Петровна
кандидат биологических наук
Семёнова Татьяна Александровна

Ведущая организация

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г. К. Скрыбина РАН,
отдел "Всероссийская коллекция микроорганизмов" (ИБФМ РАН, ВКМ)

Защита диссертации состоится 13 апреля 2012 года в 15:30 на заседании диссертационного совета Д 501.001.46 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата биологических наук при Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, МГУ имени М. В. Ломоносова, Биологический факультет (аудитория М-1)

Тел./факс: (495) 939-39-70

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Биологического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова

Автореферат разослан 12 марта 2012 года

Учёный секретарь

диссертационного совета,
кандидат биологических наук

М. А. Гусаковская

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Изучение микроскопических грибов, растущих в авиационном топливе, является крайне актуальной темой, поскольку они могут быть причиной сбоев в работе авиационной техники, и постоянный контроль их необходим для обеспечения надежности авиаперевозок (Gaylarde et al., 1999; Hamme et al., 2003; Bento et al., 2005; Семенов и др., 2008 и др.). Особую значимость данная проблема приобрела в последние годы, в связи с увеличением поставок российской техники в страны с влажным тропическим и субтропическим климатом (Емельянов, 2008), где в условиях повышенной температуры и влажности наиболее велик риск возникновения биоповреждений авиационного топлива (Кондратюк и др., 2007). Кроме того, исследование микромицетов, растущих в авиационном топливе, важно для понимания изменения метаболических процессов микроорганизмов при адаптации к новым субстратам и к постоянно меняющимся условиям.

Многочисленными исследованиями установлено, что в топливных баках самолетов могут присутствовать различные виды микроорганизмов, однако наибольшую опасность представляют мицелиальные грибы (Кондратюк и др., 2007). В результате развития микромицетов происходит засорение топливных систем (баков, фильтров, насосов) мицелиальной биомассой, следствием чего может быть выход из строя двигателей. Случаи засорения топливных фильтров неоднократно происходили при выполнении полетов таких типов самолетов, как Ил-76, Ту-154, Ту-134, М-17 и др. (Семенов и др., 2008). Образование агрессивных продуктов жизнедеятельности микромицетов, кислот и ферментов, ведет к усилению коррозии металлов, разрушению неметаллических материалов и к нарушению герметичности баков, что также может стать причиной аварии (Martel, 1987; Коваль, Сидоренко, 1989; Ferrari et al., 1998; Van Hamme et al., 2003; Rauch et al., 2006 и др.).

В результате процесса адаптации к новым субстратам в топливе могут появляться виды грибов, ранее здесь не отмеченные. Некоторые применяемые средства борьбы с биоповреждениями топлив могут оказаться не эффективными по отношению к новым видам. Поэтому очень важно постоянное и всестороннее изучение микромицетов, повреждающих различные виды топлива, а также процессов их жизнедеятельности.

Цели и задачи исследования. Цель работы – изучение видового состава и физиологических особенностей мицелиальных грибов, способных развиваться в авиационном топливе. Для её достижения были поставлены следующие задачи:

- выделить микромицеты из образцов топлива, взятого в баках самолетов, из топливозаправочных и после экспозиции на экспериментальных площадках;
- определить видовой состав выделенных грибов;
- изучить их способность расти в топливе, выявить среди них наиболее активных деструкторов;
- изучить способность роста выделенных микромицетов на различных углеводородах нефти, входящих в состав топлив;
- изучить влияние температуры на рост и жизнеспособность микромицетов в топливе;
- изучить морфологические особенности наиболее активных деструкторов топлива при росте в авиационном топливе и на питательных средах;
- оценить способность различных модификаций отечественной биоцидной присадки к топливу подавлять рост выделенных микромицетов и выбрать наиболее эффективную.

Научная новизна. Результаты исследования имеют большое значение для совершенствования методов контроля и обеспечения безопасности полетов. Полученные данные о видовом разнообразии микромицетов, обитающих в такой специфической среде как авиационное топливо, имеют также важное теоретическое значение для дальнейших исследований микроорганизмов, способных развиваться за счет нефтепродуктов. Впервые совместно были изучены микромицеты, обитающие в топливных баках самолетов, в топливозаправочных, а также грибы из природных местообитаний, способные поражать топливо. В результате исследований выявлено 32 вида мицелиальных грибов, относящихся к 13 родам, 11 морфологических типов мицелия без спороношений. Однако также показано, что большинство выделенных видов не причастны к процессам деструкции. Впервые было предложено разделять выделенные из топлива микромицеты на три группы по активности роста в топливе: (1) активные деструкторы, (2) потенциальные деструкторы и (3) частично адаптированные к среде и случайные виды.

Из авиационного топлива впервые выделен вид *Monascus floridanus* и показана его способность к росту в топливе и на различных углеводородах нефти. Для него отмечены морфологические признаки, не описанные для типового штамма: наличие ребровидной выпуклой полосы (ростковой щели) на одной из сторон аскоспор, образование наряду с известными конидиями типа *Basipetospora* второго *phialophora*-подобного спороношения.

Научно-практическая значимость. Получены штаммы микромицетов, которые активно развиваются в авиационном топливе за счет использования углеводов. Культуры данных грибов будут использованы для проведения испытаний на грибостойкость различных видов топлива и материалов топливных систем, для проведения испытаний эффективности биоцидных присадок, дезинфицирующих средств и других способов защиты топливных систем самолетов от биоповреждений. Впервые выделенный штамм вида *Monascus floridanus*, активно растущий в топливе, передан во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов при Институте Биохимии и Физиологии Микроорганизмов имени Г. К. Скрыбина РАН (№ВКМ F-4444). Полученная в ходе проведения данной работы нуклеотидная последовательность исследуемого штамма была размещена в генбанке NCBI (№FR827895).

Была изучена способность 18-ти новых модификаций отечественной биоцидной присадки к топливу «БИКАИР» подавлять рост активных микромицетов-деструкторов. Выбраны наиболее эффективные модификации и их минимальные концентрации, которые могут быть использованы для защиты авиационного топлива от микробиологических повреждений.

Апробация работы. Результаты работы были доложены на международном конгрессе «XV Congress of European Mycologists» (Санкт-Петербург, Россия, 2007), 2-м Съезде микологов России (Москва, 2008), на молодежной научно-технической конференции «Молодежь в авиационном материаловедении» (Москва, 2008), на межотраслевой научно-технической конференции «Композиционные материалы в авиакосмическом материаловедении» (Москва, 2009), на международной конференции, посвященной 180-летию со дня рождения выдающегося физиолога И.М. Сеченова, «IV International Young Scientists conference. «Biodiversity. Ecology. Adaptation. Evolution» (Одесса, Украина, 2009), на Московской международной научно-практической конференции «Биотехнология: экология крупных городов» (Москва, 2010), на VIII научной конференции по гидроавиации «Гидроавиасалон-2010» (Геленджик, 2010), на международной молодежной конференции по материаловедению «Junior Euromat 2010» (Лозанна, Швейцария, 2010), на международном конгрессе «XVI Congress of European Mycologists» (Халкидики, Греция, 2011).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 14 работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендуемых ВАК.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка цитируемой литературы и приложения. Работа изложена на 182 страницах, содержит 20 таблиц и 36 рисунков, а также приложения, содержащие 14 таблиц. Список литературы включает 120 источников, из них 56 на английском языке.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

В данной главе приведены литературные сведения о проблеме биоповреждений нефтепродуктов, в том числе авиационного топлива, об особенностях микромицетов, способных развиваться в топливе, и об их видовом составе. Представлены литературные данные о влиянии внешних факторов на биоповреждения нефтепродуктов, рассмотрены механизмы расщепления углеводов топлива микромицетами. Проведен анализ способов защиты авиационного топлива от биоповреждений.

Глава 2. Материалы и методы исследования

Образцы авиационного топлива. Для выделения и изучения микромицетов были использованы образцы авиационного реактивного топлива ТС-1 различного происхождения. Все исследуемые образцы топлива ТС-1 были предоставлены Всероссийским Институтом Авиационных Материалов (ФГУП «ВИАМ»). **К первой группе** относились четыре образца топлива, извлеченные непосредственно из кессон-баков эксплуатирующихся самолетов, совершивших аварийные посадки по причине забивки фильтров. Образцы «Китай», «Краснодар» и «Ульяновск» содержали топливо, воду из отстойной зоны баков и темноокрашенные слизистые сгустки на границе раздела фаз. Образец «Иран» содержал топливо, а позже небольшой мицелиальный сгусток, образовавшийся в емкости после нескольких месяцев хранения образца в лаборатории. **Ко второй группе** относились пять образцов топлива, выставленные на экспозицию в закрытых чашках Петри с добавлением минеральной среды на экспериментальных площадках в г. Батуми и г. Сочи. Чашки ежемесячно открывали сроком на 1 час, топливо и минеральную среду добавляли по мере испарения. Образец «Батуми-1» находился на экспозиции 18 месяцев, образец «Батуми-2» - 24 месяца. Образец «Сочи-1» находился на экспозиции 13 месяцев, образец «Сочи-2» - 15 месяцев, «Сочи-3» - 25 месяцев. За указанные периоды в чашках Петри образовались хлопьевидные образования и небольшие сгустки. **К третьей группе** относились 3 образца топлива ТС-1, не имеющие видимых признаков микробиологического поражения. Образец «Внуково» получен из топливохранилища аэродрома Внуково, образец «МНПЗ» взят из

хранилища Московского Нефтеперерабатывающего Завода, образец «Хабаровск» - с Хабаровского Нефтеперерабатывающего Завода.

Выделение микромицетов и определение их видовой принадлежности.

Для выделения грибов использовали метод прямого посева и метод серийных разведений (Дудка и др., 1982) на среду Чапека и агаризованное сусло. Метод серийных разведений использовали для образцов с поражениями, т. е. содержащих слизистые сгустки, метод прямого посева использовали для всех типов образцов. Определение грибов вели с помощью следующих определителей: Raper, Fennell, 1965; Raper et al., 1968; Ellis, 1971; Kendrick, 1973; Gams, Holubova – Jechova, 1976; Билай, 1977; Booth, 1977; Domsch et al., 1980, 2007; Лугаускас и др., 1987; Watanabe, 1994; De Hoog et al., 2000; Gams, 2000 и др.

Изучение способности роста выделенных грибов в топливе. В пробирки с 3 мл стерильного топлива ТС-1 и 3 мл минеральной среды вносили по 0,3 мл споровой суспензии штамма гриба, пробирки встряхивали и помещали в термостат с температурой +28°C. Контроль роста грибов осуществляли через каждые 5 суток в течение месяца. Признаки роста оценивали визуально, в баллах: 0 баллов – нет роста; 1 балл – мутный раствор, очень мелкие хлопья; 2 балла – хлопья средней величины, легко различимы визуально; 3 балла – крупные хлопья; 4 балла – небольшие сгустки; 5 баллов – крупные сгустки. В случае образования крупных мицелиальных сгустков их фильтровали через бумажные фильтры, высушивали в сушильном шкафу и взвешивали.

Изучение способности роста микромицетов на различных углеводородах нефти. В эксперименте использовали предельные углеводороды с длиной углеродной цепи от 6 до 17-ти: гексан (C_6H_{14}), гептан (C_7H_{16}), октан (C_8H_{18}), декан ($C_{10}H_{22}$), додекан ($C_{12}H_{26}$), гексадекан ($C_{16}H_{34}$), гептодекан ($C_{17}H_{36}$). Опыт проводили на шести активных штаммах микромицетов разных видов: *Hormoconis resinae* №UI-1, *Monascus floricola* №K-1, *Alternaria alternata* №Bat-30, *Aspergillus ustus* №K-92, *Fusarium solani* №Bat-15, *Geotrichum candidum* №Kr-2. Методика эксперимента та же, что и в предыдущем пункте, но вместо топлива ТС-1 в пробирки добавляли соответствующий углеводород.

Изучение влияния температуры на рост и жизнеспособность микромицетов в топливе. Готовили пробирки с топливом и суспензией спор, как описано ранее. За признаками роста наблюдали визуально, по окончании

эксперимента проводили высев инокулята из пробирок на питательные среды. **Для изучения влияния температуры на рост активных и потенциальных деструкторов топлива** были использованы 10 наиболее активных штаммов микромицетов. Пробирки помещали в холодильники и термостаты с температурами: -20 °С, +9 °С, +18 °С, +28 °С, +36 °С сроком на 21 сутки. **Для изучения влияния экстремальных температур на рост и жизнеспособность *Hormosconis resinae* и *Monascus floridanus*** вместо топлива использовали жидкое сусло в целях пожарной безопасности. Пробирки помещали в термостаты с температурами +40 °С, +45 °С, +50 °С, +55 °С, +60 °С и +70 °С и в холодильник с температурой -57 °С сроком на 1, 3 и 7 суток. После все пробирки помещали в термостат с температурой +28 °С и проверяли на наличие роста грибов через каждые 3-4 дня в течение двух недель. **Для изучения влияния перепадов температуры на рост и жизнеспособность *H. resinae* и *M. floridanus*** пробирки с топливом, минеральной средой и суспензией помещали в холодильную камеру с температурой -60 °С на 3 часа, после чего переносили в термостат с температурой +60 °С также сроком на 3 часа, далее помещали в термостаты и холодильники со следующими температурами: +5 °С, +15 °С, +25 °С, +35 °С, +45 °С сроком на 8 недель.

Изучение особенностей штаммов *Hormosconis resinae*. Для изучения **морфологических особенностей** использовали питательные среды Чапека, агаризованное сусло и топливо ТС-1, штаммы выращивали при +25 °С. При приготовлении препаратов для сканирующей микроскопии фрагменты среды с мицелием фиксировали 1 час в глутаральдегиде (2,5%), далее промывали три раза в фосфатном буфере по 15 минут, обезжизняли с помощью спиртов (30%, 50%, 70%, 80%, 96%), помещали в ацетон. Образцы высушивали при критической точке, наклеивали на столики, напыляли платино-палладиевой смесью (ионный распылитель Goko IB-3) и наблюдали на сканирующих электронных микроскопах CamScan S2 и Jeol JSM-6380. **Для изучения способности роста в топливе штаммов *H. resinae* из разных мест обитания** были использованы 5 штаммов *H. resinae*, выделенных нами из исследуемых образцов, и 7 штаммов *H. resinae* из других коллекций, выделенные с различных субстратов и из разных географических зон: штаммы №№ F-1700, F-1701, F-1962 и F-1963 предоставлены Всероссийской Коллекцией Микроорганизмов, штаммы №№ 76, 79 и 801 Ждановой Н. Н. (Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного, Киев, Украина).

Изучение особенностей штамма *Monascus floridanus*. Генетическую идентификацию штамма проводили на основе анализа нуклеотидной

последовательности D1/D2 домена большой субъединицы (LSU) рДНК. ДНК выделяли из 6-ти суточной культуры с помощью стеклянной дробы (300-500 мкм), инкубации при 65⁰С в течение 1 час в лизирующем буфере (Tris Base 50mM, NaCl 250mM, ЭДТА 50mM, SDS 0.3%, pH 8) и замораживания культуры. Амплификацию региона рДНК проводили с использованием праймеров ITS1f, NL4 и смеси для ПЦР ScreenMix (ЗАО «Евроген», Москва). Очистку и подготовку к анализу ПЦР-продукта проводили с использованием набора BigDye XTerminator Purification Kit («Applied Biosystems», USA). Для секвенирования использовали праймер NL4. Секвенирование фрагмента рДНК проводили с помощью набора реактивов BigDye XTerminator Purification Kit («Applied Biosystems», USA) с последующим анализом продукта реакции на секвенаторе Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer в Научно-производственной компании «Синтол» (Москва). Для филогенетического анализа полученного результата использовали пакет программ MAFFT 6 и MEGA4. Нуклеотидные последовательности для построения филогенетического дерева были использованы по данным из статьи (Park, Jong, 2003). **Для изучения активности роста штамма *M. floridanus*** были использованы следующие среды: среда Чапека с дрожжевым экстрактом и без него, агаризованное сусло с пептоном и глюкозой и без них, картофельно-декстрозный агар с молочной кислотой и без нее, среда Чапека-Докса без сахарозы, среда на основе овощного сока «8 овощей», азотно-глицериновая среда. Культуры выращивали при +25⁰С в течение 35 суток, диаметр колоний измеряли на 7-е и 35- сутки роста. **Для изучения морфологических особенностей штамма *M. floridanus*** выращивали культуру и готовили образцы также как и в случае с *H. resinae*.

Изучение эффективности модификаций биоцидной присадки к топливу «БИКАИР» проводили в соответствии с ГОСТ 9.023-91. В эксперименте были использованы 10 наиболее активных штаммов микромицетов. Были протестированы 18 модификаций отечественной биоцидной присадки к топливу «БИКАИР» производства НПОАО «СинтезПав», которые отличались между собой содержанием катионных поверхностно активных веществ (КПАВ), относящихся к классу алкилимидазолинов, этилцеллозольва и ряда других компонентов. Присадки были испытаны в трех концентрациях 0,005%, 0,01% и 0,3%. Также была испытана отечественная присадка «ПВКЖ» на основе этилцеллозольва в концентрации 0,3%.

Глава 3. Результаты и обсуждение

1. Микромицеты в топливных баках самолетов

Из четырех образцов пораженного топлива, взятого в баках самолетов, было выделено 27 культур микромицетов, относящихся к 18 видам и 8 родам. Среди них 1 голоморфный вид аскомицетов (отдел Ascomycota): *Monascus floridanus* P. F.Cannon et E.L.Barnard. Остальные 17 видов относятся к анаморфам аскомицетов: *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Aspergillus fumigatus* Fresen., *A. niger* Tiegh., *A. ustus* (Bainier) Thom et Church, *Botryotrichum piluliferum* Sacc. et Marchal, *Cladosporium bruhnei* Linder, *C. cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries, *C. macrocarpum* Preuss, *Geotrichum candidum* Link, *Hormoconis resinae* (Lindau) Arx et G.A. de Vries, *Penicillium adametzii* K.M. Zalessky, *P. aurantiogriseum* Dierckx, *P. brevicompactum* Dierckx, *P. corylophilum* Dierckx, *P. spinulosum* Thom, *P. tardum* Thom, *P. verrucosum* Dierckx. Кроме того, выделено 5 морфологических типов мицелия без спороношений.

Во всех четырех образцах топлива из баков самолетов присутствовал гриб *Hormoconis resinae*. В образце «Краснодар» *H. resinae* значительно преобладал по численности, в образце «Ульяновск» он оказался единственным выделенным видом. Образец «Иран» изначально представлял собой только слой топлива без видимых загрязнений. Но после нескольких месяцев хранения образца на дне емкости образовался небольшой мицелиальный сгусток диаметром несколько миллиметров, который при рассеве оказался видом *H. resinae*. Однако в четвертом образце «Китай», помимо *H. resinae*, доминировал ещё один вид - *Monascus floridanus*. Если о способности *H. resinae* усваивать углеводороды авиационного топлива известно уже давно, то литературных данных о росте в топливе вида *M. floridanus* найдено не было. Выделение большинства остальных видов грибов в данных образцах носило единичный характер.

Для определения способности выделенных микромицетов к росту в топливе, мы проводили **повторную инокуляцию стерильного топлива** выделенными грибами. По результатам эксперимента исследуемые 27 штаммов были разделены на три группы: (1) активные деструкторы (5 баллов), (2) потенциальные деструкторы (4 балла), (3) частично адаптированные к среде и случайные микромицеты (3 и менее баллов). К первой группе были отнесены выделенные из разных образцов 4 штамма *Hormoconis resinae* (№№ K-68, Kr-42, Ul-1, Ir-12) и штамм *Monascus floridanus* №K-1 (образец «Китай»). Как и ожидалось, они показали наиболее активный рост при повторной инокуляции стерильного топлива. Ко второй группе были отнесены два штамма *Aspergillus ustus* №K-92 (образец «Китай») и *Geotrichum candidum* №Kr-2 (образец «Краснодар»). Потенциальные деструкторы, или микромицеты второй группы, несомненно, представляют интерес для дальнейшего изучения. Возможно,

при наличии определенных условий, например, при отсутствии в среде таких конкурентов как *H. resinae*, данные грибы могут проявить себя как активные деструкторы топлива. Большинство штаммов грибов, выделенных из топливных баков самолетов, были отнесены к третьей группе, которая объединяет слабо растущие и не растущие в топливе грибы.

2. Микромицеты в топливе на экспериментальных площадках

Данное исследование проводилось с целью выявления микромицетов, обитающих в естественных условиях на природных субстратах, которые смогут начать свое развитие при попадании в авиационное топливо.

Из пяти образцов топлива, находящихся на экспозиции на экспериментальных площадках, была выделена 21 культура микромицетов, относящихся к 12 видам и 7 родам анаморфных аскомицетов: *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Aspergillus niger* Tiegh., *A. sydowii* (Bainier et Sartory) Thom et Church, *A. ustus* (Bainier) Thom et Church, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Hormoconis resinae* (Lindau) Arx et G.A. de Vries, *Neoscytalidium dimidiatum* (Penz.) Crous et Slippers, *Penicillium corylophilum* Dierckx, *P. funiculosum* Thom, *P. miczinskii* K.M. Zalesky, *P. tardum* Thom, *Phialophora europaea* de Hoog, Mayser et Haase. Также выделено 5 морфологических типов мицелия без спороношений.

В двух образцах «Батуми» количественно доминировал вид *Hormoconis resinae*. В образце «Сочи-1» чаще других встречены виды *Aspergillus niger* и *Fusarium solani*. Выделение микромицетов в образцах «Сочи-2» и «Сочи-3» носило единичный характер.

Наиболее активный рост при вторичной инокуляции топлива показали штаммы вида *Hormoconis resinae* (№Bat-1, Bat-29), выделенные из образцов топлива «Батуми» и соответственно отнесенные к группе активных деструкторов. Ко второй группе были отнесены штамм *Alternaria alternata* №Bat-3, встреченный в одном образце «Батуми-2», и 2 штамма *Fusarium solani* №Bat-15 и №A-8, встреченные в образцах «Батуми-1» и «Сочи-1» соответственно. Остальные штаммы грибов, выделенные из топлива после экспозиции на экспериментальных площадках, были отнесены к группе слабо растущих и не растущих в топливе (частично адаптированных и случайных) микромицетов.

3. Микромицеты в топливозаправочных баках

Микромицеты, способные развиваться в баках самолетов, попадают туда на разных стадиях эксплуатации топлива: при транспортировке, хранении, заправке самолетов. Особую опасность представляет развитие грибов в топливе при

нарушениях правил хранения, например, при нарушении герметичности резервуаров и попадания в них влаги. В этом случае топливо, содержащее в себе микромицеты-деструкторы, может быть использовано неоднократно для заправки техники и стать причиной целого ряда аварийных ситуаций. Данное исследование проводили с целью выявления микромицетов в топливе, находящемся на хранении в специальных резервуарах в отдельно взятых топливозаправках, а также изучения их способности роста в топливе.

Из трех образцов топлива, взятых в топливозаправках, было выделено 14 культур микромицетов, относящихся к 12 видам и 5 родам. Все 12 видов относятся к анаморфам аскомицетов: *Aspergillus chevalieri* Thom et Church, *A. fumigatus* Fresen., *A. niger* Tiegh., *A. pulvinus* Kwon-Chung et Fennell, *Chromelosporium fulvum* (Link) McGinty, *Cladosporium oxysporum* Berk. et M. A. Curtis, Hennebert et Korf, *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx, *P. chrysogenum* Thom, *P. citrinum* Thom, *P. funiculosum* Thom, *P. lanosum* Westling, *Phoma eupyrena* Sacc. Кроме того, выделено 2 морфологических типа мицелия без спороношений.

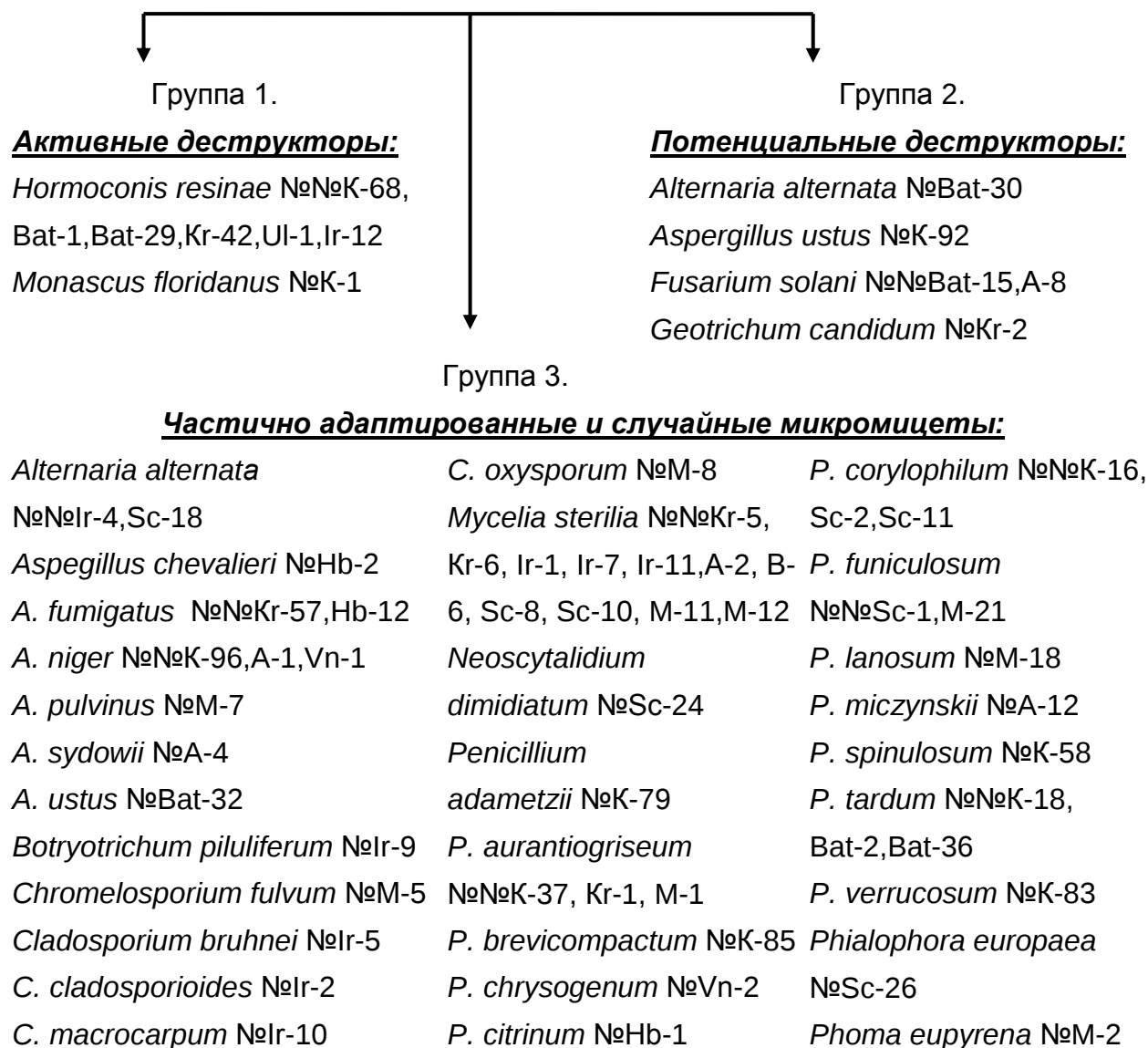
Среди трех исследованных образцов топлива наибольшее содержание спор грибов отмечено в топливе, взятом из хранилища Хабаровского нефтеперерабатывающего завода – 19,7 КОЕ/мл. В образце топлива, взятом из хранилища Московского нефтеперерабатывающего завода, это значение составило 7,5 КОЕ/мл, из образца топлива, взятом в хранилище аэродрома Внуково – 4,4 КОЕ/мл.

Ни один из штаммов, выделенных из топливозаправок, не проявил активности при искусственной инокуляции топлива. Все грибы, выделенные из образцов топлива в хранилищах, были отнесены к группе частично адаптированных и случайных микромицетов. Таким образом, на момент исследования топливо из данных хранилищ не содержало в себе потенциальных микромицетов-деструкторов, и угрозы возникновения биоповреждения в резервуарах с топливом не было. Слабые показатели роста в топливе в данном случае свидетельствуют об отсутствии таковой способности в настоящее время, но и не исключают ее появления в будущем. Поэтому необходим строгий контроль условий хранения и состояния резервуаров, в которых хранится топливо.

4. Рост микромицетов в авиационном топливе и на различных углеводородах

По результатам предыдущих исследований способности роста в топливе микромицетов из разных образцов были выявлены причастные к процессам деструкции и случайные штаммы (схема).

Распределение изученных 63 штаммов грибов по способности их роста в топливе



Далее была проведена **оценка активности роста в топливе активных и потенциальных деструкторов** по значению накопления биомассы после месяца выращивания. Наибольший вес мицелия отмечен для всех штаммов *H. resinae* (№№K-68, Bat-1, Bat-29, Kr-42, Ul-1, Ir-12) и штамма *M. floridanus* №K-1. Самое большое значение биомассы отмечено для штамма *H. resinae* №Ul-1, выделенного из бака самолета, оно составило 0,4084 грамм/100 мл. Среди пяти штаммов второй группы наибольшее значение биомассы отмечено для штамма *A. ustus* №K-92 – 0,1 грамм/100 мл, наименьшее для *G. candidum* №Kr-2 – 0,05 грамм/100 мл. Разница в весе мицелия между двумя штаммами *F. solani* №A-8 и №Bat-15, выделенными с двух разных экспериментальных площадок в Сочи и Батуми оказалась несущественной – 0,017 грамм/100 мл (при стандартном отклонении $\pm 0,01$).

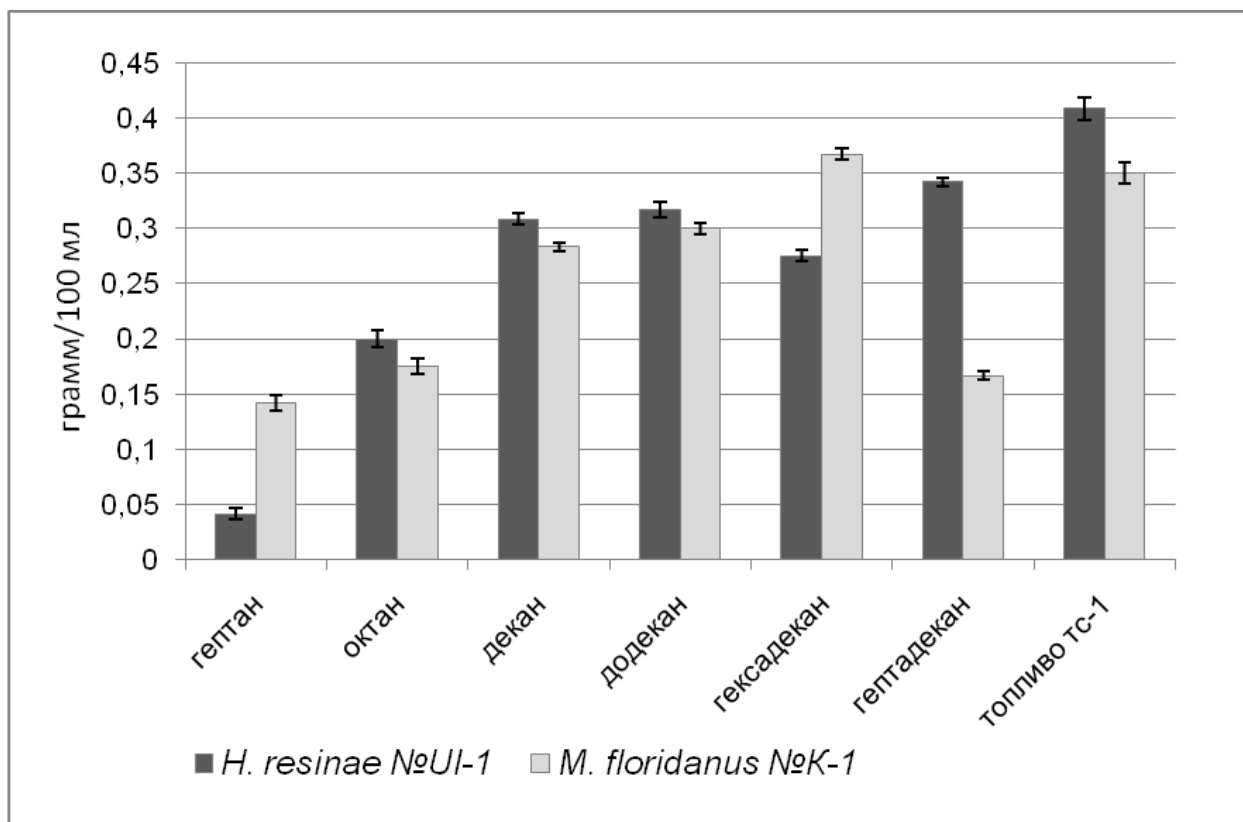


Рис. 1. Биомасса активных деструкторов после месяца роста на углеводородах ($\pm$ стандартное отклонение, $n=5$).

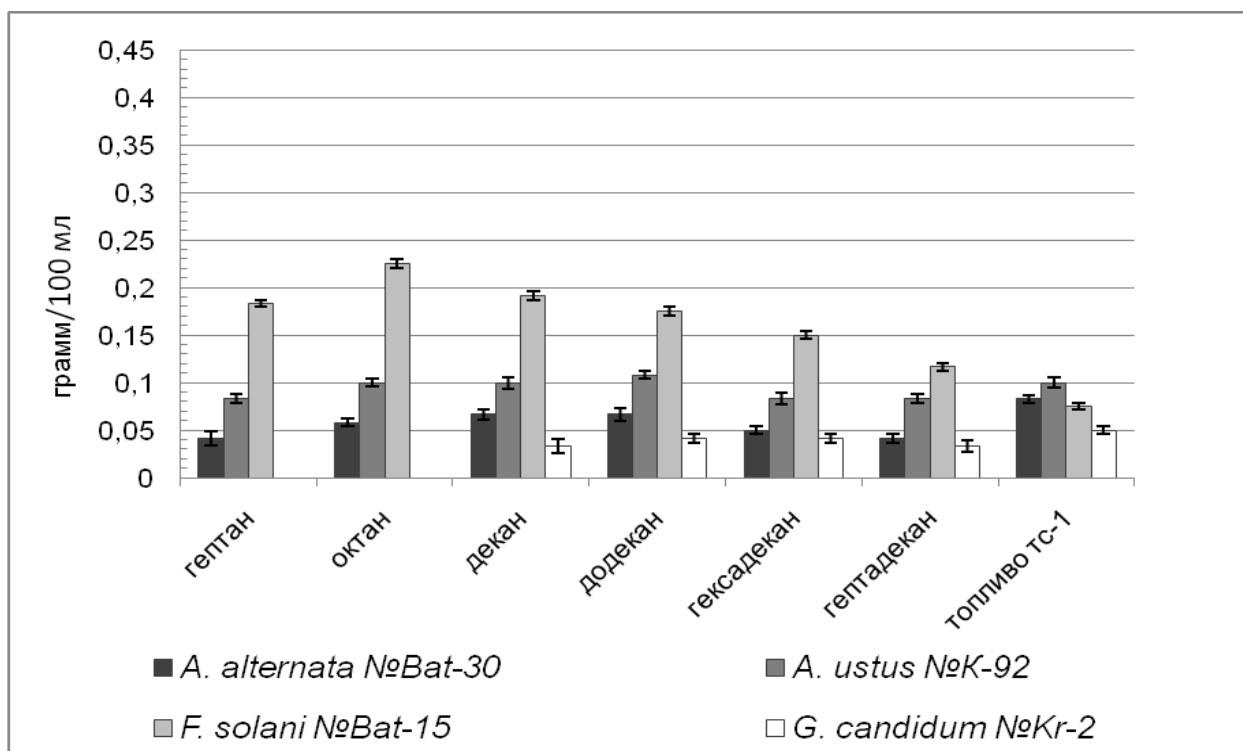


Рис. 2. Биомасса потенциальных деструкторов после месяца роста на углеводородах ($\pm$ стандартное отклонение, $n=5$).

Известно, что авиационное топливо, или авиакеросин, на 20-60% состоит из предельных углеводородов. В состав авиационного бензина входят алканы с длиной углеродной цепи преимущественно C_6 - C_{10} , в состав различных дизельных топлив – C_{10} - C_{18} . Топливо ТС-1 состоит на 50% из углеводородов парафинового ряда, на 36,4% и 13,6% из ациклических и ароматических углеводородов соответственно (Дубовкин и др., 1985). Далее была изучена **способность роста активных и потенциальных деструкторов на различных углеводородах нефти**, входящих в состав топлив.

Показано, что микромицеты растут на всех испытанных жидких углеводородах, кроме гексана, что подтверждают и литературные данные (Walker, 1973; Teh, 1975). Для *H. resinae* №UI-1 и *M. floridanus* №K-1 отмечена тенденция к росту на углеводородах с более длинными углеродными цепочками (C_{10} - C_{17}), что также неоднократно отмечено в литературе (Walker et al., 1973; Siporin, Cooney, 1975; Teh, 1975; Лёвкина, Ребрикова, 1976; Hamme et al., 2003). Наибольшее значение прироста биомассы у *H. resinae* №UI-1 отмечено на гептадекане ($C_{17}H_{36}$), *M. floridanus* №K-1 на гексадекане ($C_{16}H_{34}$) (рис. 1). Накопление биомассы при росте на данных углеводородах приближается к значению при росте в авиационном топливе. Всё это говорит о том, что штаммы *H. resinae* №UI-1 и *M. floridanus* №K-1 способны поражать и другие авиационные дизельные топлива, которые содержат в своей основе углеводороды с длиной углеродной цепи C_{10} - C_{17} .

Микромицеты второй группы растут на предельных углеводородах приблизительно с той же активностью, что и в авиационном топливе. Исключение составляет штамм *F. solani* №Bat-15, для которого отмечен наиболее активный рост на испытанных углеводородах среди микромицетов второй группы (рис. 2), особенно на углеводородах с более короткой углеродной цепью (C_7 - C_{10}) в отличие от микромицетов из первой группы. Накопление биомассы данного штамма при росте на октане в 3 раза превышает это значение при росте в топливе. Такие штаммы как *F. solani* №Bat-15 могут быть причиной биоповреждений различных бензинов, содержащих углеводороды с длиной цепи C_7 - C_{10} .

5. Влияние температуры на рост и жизнеспособность микромицетов в топливе

Было изучено **влияние температуры на рост активных и потенциальных деструкторов топлива**. Среди испытанных температур наиболее благоприятной для роста всех исследуемых штаммов микромицетов была температура +28°C, что также подтверждает литературные данные (Благник, Занова, 1965; Atlas, 1975). Наибольшую активность проявил штамм *Monascus floridanus* №K-1.

При +9°C и при +36°C признаки роста отмечены лишь у данного вида. Все пять штаммов *Hormoconis resinae* показали практически одинаковые результаты при всех испытанных температурах. Кроме того, двухнедельное нахождение в водно-топливной среде при температуре -20 °C не повлияло на скорость прорастания спор при высеве на питательные среды у всех исследуемых микромицетов.

Было исследовано **влияние экстремальных температур на рост и жизнеспособность *Hormoconis resinae* и *Monascus floricola***. Показано, что нахождение исследуемых штаммов при температуре -57 °C в течение 1, 3, 7 суток не повлияло на скорость прорастания спор при высеве на питательную среду. Верхней температурной границей для штамма *H. resinae* №UI-1 оказалась температура +60 °C. После нахождения при данной температуре в течение 1 и 3-х суток споры прорастали в новый мицелий, при выдерживании пробирок в течение 7 суток споры полностью погибали. Для штамма *M. floricola* №K-1 верхняя температура граница составила +55°C. Только после суточного выдерживания споры гриба прорастали в единичные колонии при высеве на питательную среду.

Было изучено **влияние перепадов температуры на рост и жизнеспособность *H. resinae* и *M. floricola***. Процедура теплового шока проводилась для имитации резких перепадов температур при перелетах и кратковременных стоянках самолетов, а выдерживание пробирок в термостатах с разными температурами после теплового шока для имитации условий длительной стоянки самолетов в условиях различных климатических зон. После резких перепадов температур оба штамма остались жизнеспособными, но по-разному проявили себя при перенесении в термостаты с определенными температурами. Однако удивительным оказалось то, что температурный шок почти никак не повлиял на активность обоих штаммов. Как и в предыдущих опытах наиболее благоприятной температурой оказалась +25°C, а штамм *M. floricola* №K-1 опережал *H. resinae* №UI-1 по интенсивности роста в начале эксперимента. Проведенное исследование касается физиологических свойств только исследуемых двух штаммов: *Hormoconis resinae* (№UI-1, «Ульяновск») и *Monascus floricola* (№K-1, «Китай»). Однако на их примере можно увидеть, насколько высока жизнеспособность микромицетов, растущих в топливе, при экстремальных температурах и при их резких изменениях. Поэтому можно сделать вывод, что физические методы борьбы с биоповреждениями топливных систем, такие как прогревание, эффективны только в сочетании с другими способами, например, с химическими методами.

6. «Керосиновый гриб» *Hormoconis resinae*

Были исследованы морфологические особенности выделенных штаммов *Hormoconis resinae* (№№K-68, Bat-1, Kr-42, Ul-1, Ir-12) при росте на питательных средах и в авиационном топливе. Ни у одного штамма не была найдена половая стадия. Также было показано, что у штаммов *H. resinae* при развитии в топливе образуются точно такие же конидиальные структуры, как и при росте на питательных средах (рис. 3-4).



Рис. 3. Спороношения *H. resinae*: а,б,в – световой микроскоп.

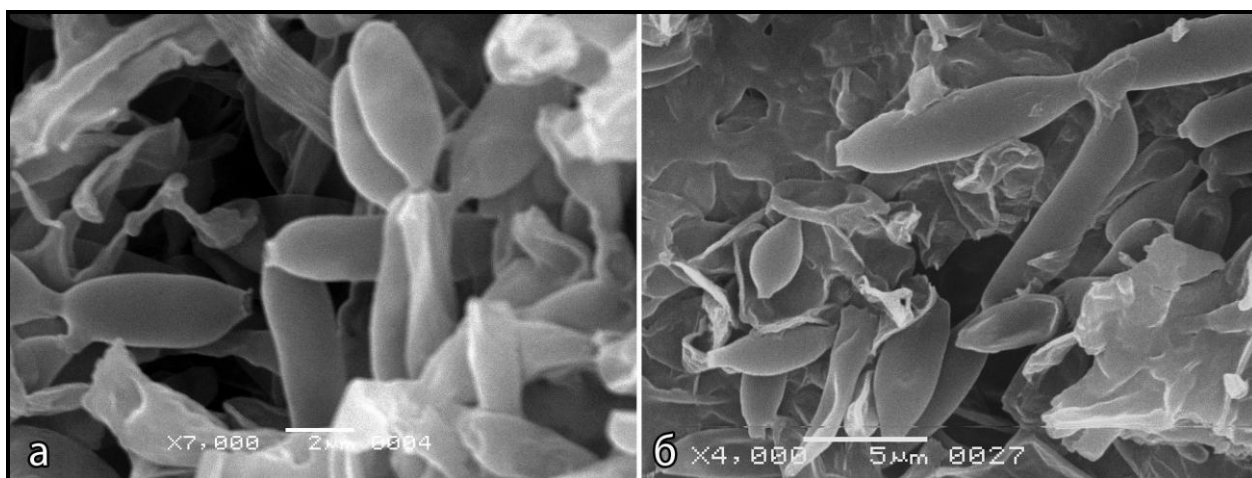


Рис. 4. Спороношения *H. resinae*: а,б – сканирующий электронный микроскоп.

Была исследована способность к росту в топливе штаммов *H. resinae*, выделенных нами из авиационного топлива и выделенных ранее другими исследователями из природных местообитаний, авиационного топлива и зоны аварии Чернобыльской АЭС. Среди испытанных штаммов оказались штаммы как способные к развитию за счет углеводов авиационного топлива, так и не обладающие этой способностью. Штаммы *H. resinae*, выделенные из образцов авиационного топлива, развивались гораздо более активно по сравнению со штаммами, выделенными из природных мест обитания: с древесины, из воздуха и

почвы. Штаммы *H.resinae*, выделенные из 4-го блока Чернобыльской АЭС, не проявили способности развиваться за счет углеводов авиационного топлива.

7. Новый «керосиновый гриб» *Monascus floridanus*

После выделения гриба из образца топлива в культуре присутствовало только конидиальное спороношение. Спустя 2,5 года в культуре изучаемого штамма стали образовываться плодовые тела – клейстотеции. По строению клейстотециев и аскоспор гриб был отнесен к роду *Monascus* Tiegh. Однако по совокупности признаков изучаемый штамм точно не подходил под описания известных видов рода *Monascus*. Генетическая идентификация штамма на основе анализа нуклеотидной последовательности D1/D2 домена большой субъединицы (LSU) рДНК показала, что выделенный штамм относится к виду *Monascus floridanus*. Были исследованы его морфологические особенности при росте на различных питательных средах и в топливе. Наиболее активный рост отмечен на агаризованном сусле, самый слабый рост – на среде Чапека – Докса без сахарозы. На всех остальных средах рост был приблизительно одинаковый. Было проведено сравнение полученных нами данных о росте на средах изучаемого штамма *M. floridanus* №К-1 с данными штаммов *M. floridanus*: №078-4428, 078-3607, 078-2409, выделенных авторами при описании вида (Barnard, Cannon, 1987). Было показано, что общее предпочтение питательных сред у штаммов, выделенных авторами данного вида, совпадает с таковым у изучаемого нами штамма *M. floridanus* №К-1 несмотря на приспособление последнего к такой специфической среде как авиационное топливо.

При росте на стандартных питательных средах и в топливе у штамма *M. floridanus* №К-1 активно образуются плодовые тела – клейстотеции (рис. 5). Описание половой стадии совпадает с таковым у типового штамма *M. floridanus* (Barnard, Cannon, 1987). Новой интересной особенностью является наличие ребровидной выпуклой полосы на аскоспорах, проходящей по одной из брюшных сторон аскоспор от полюса до полюса высотой примерно 0,4 мкм, скорее всего представляющей собой ростковую щель (рис. 6). Вторая брюшная сторона аскоспоры полностью гладкая. Данная особенность отсутствует в описании типового штамма. Наличие, количество и форма ростковых щелей и пор на аскоспорах служат определительными признаками в группах аскомицетов (Von Arx, 1975).

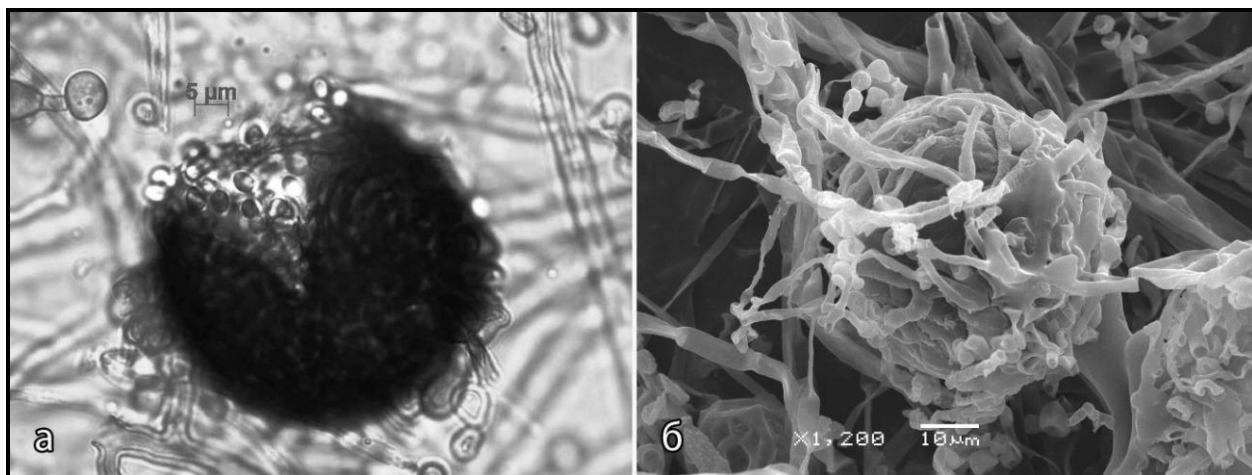


Рис. 5. Клейстотеции *M. floridanus* №K-1: а – световой микроскоп; б – сканирующий электронный микроскоп.

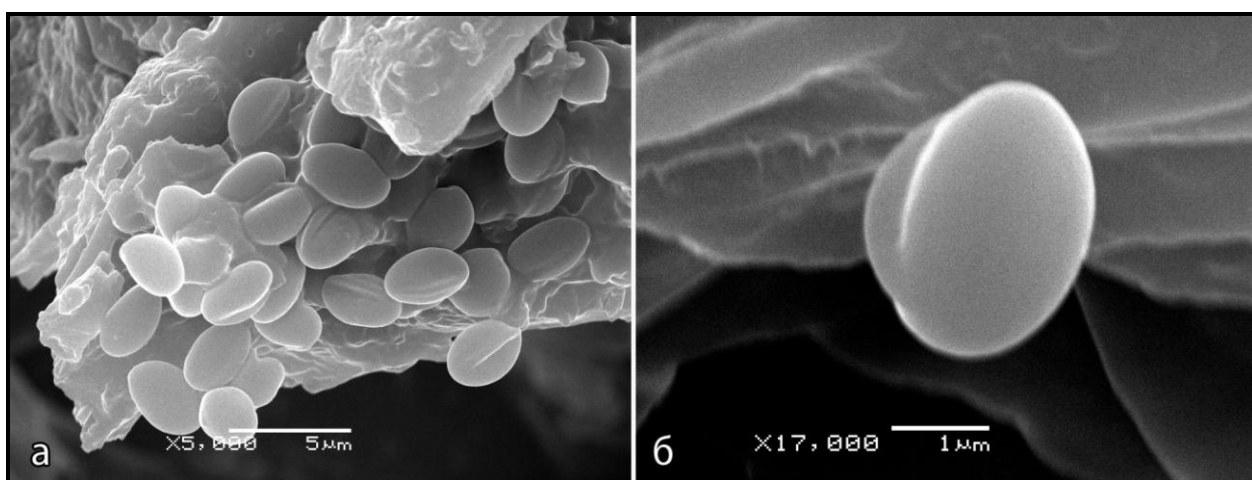


Рис. 6. Аскоспоры *M. floridanus* №K-1: а,б – сканирующий электронный микроскоп

При росте на питательных средах и в авиационном топливе у штамма *M. floridanus* №K-1 образуется конидиальное спороношение по типу *Basipetospora*, характерное для видов рода *Monascus* (Barnard, Cannon, 1987, Park, Jong, 1987). Конидии развиваются в базипетальных цепочках, первая конидия образуется как вздутие конца конидиогенной клетки с последующим отделением перегородкой. Вторая и последующие конидии также образуются из небольшого вздутия под перегородкой предыдущей конидии. В первых работах полагалось, что при этом не происходит никаких ростовых процессов, и конидии образуются путем трансформации существующих клеток (Hughes, 1953). В 1968 году Cole и Kendrick показали, что при формировании конидий происходит рост конидиогенного локуса, который прекращается перед образованием перегородки, которая отделяет новую конидию (Cole, Kendrick, 1968). По разным источникам конидии *Basipetospora* трактовали как артроконидии (Barnett, Hunter, 1972; Кириленко, 1978; De Hoog et al., 2000), меристемартроконидии (Carmichael et al., 1980) или алевриоконидии (Pitt, Hocking, 2009). По последним данным конидии *Basipetospora* относят к

бластоконидиям, развивающимся по ретрогрессивному пути (Seifert et al., 2011) (рис. 7).

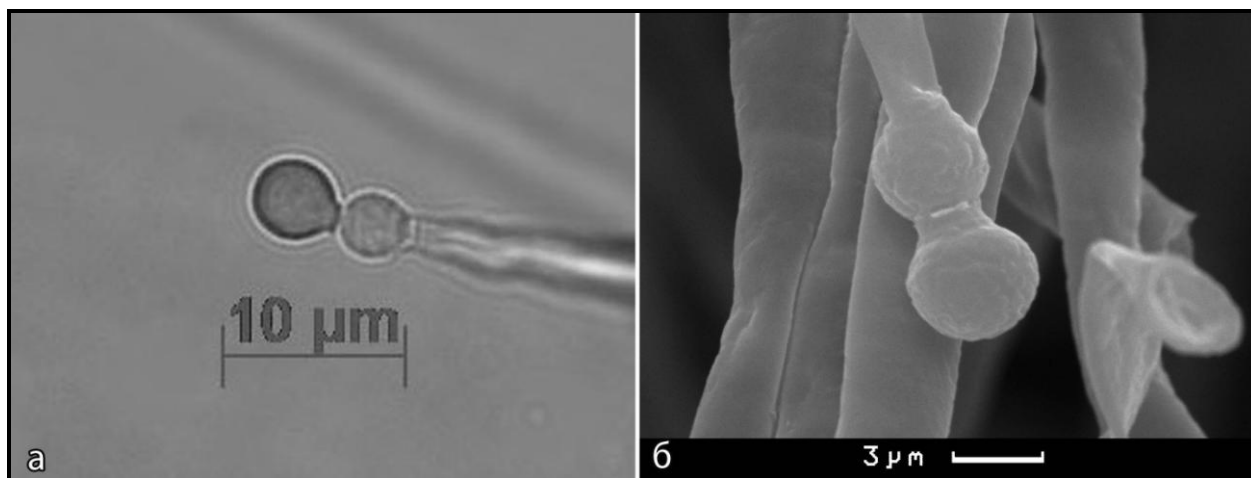


Рис. 7. Спороношение *M. floridanus* №K-1 по типу *Basipetospora*: а – световой микроскоп; б – сканирующий электронный микроскоп.

Помимо спороношений по типу *Basipetospora*, был обнаружен второй тип спороношений, который при наличии очень похожих конидий отличается от предыдущего по способу конидиогенеза. Конидии образуются в специализированных клетках - фиалидах, которые оканчиваются характерным воротничком (рис. 8-9). Данный тип спороношений встречается у видов рода *Phialophora*, поэтому его часто называют *phialophora*-подобным типом спороношений (Gams, 2000). Кроме того, схожие конидиогенные клетки встречаются у представителей рода *Cadophora* и других видов грибов, относящихся как минимум к трем порядкам аскомицетов (Harrington, Mcnew, 2003).

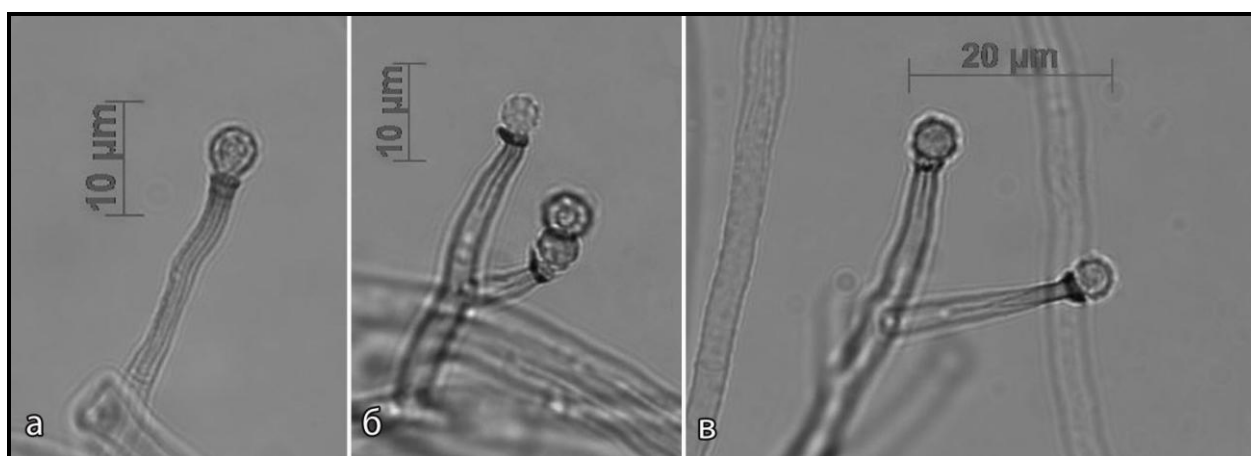


Рис. 8. Спороношение *M. floridanus* №K-1 по типу *Phialophora*: а,б,в – световой микроскоп.

Фиалиды у *M. floridanus* образуются на вершинах или ответвлениях вегетативных гиф, сидят одиночно или в пучках. Форма и размер фиалид варьирует. Чаще всего встречаются вытянутые цилиндрические фиалиды (рис. 8а,в), 10-18 мкм длиной, 1-2,5 мкм шириной, реже более короткие бутылковидные (рис. 8б), т. е. которые слегка сужаются к месту образования конидий, 5,5-10 мкм длиной, 1-3 мкм шириной. Все фиалиды на вершине несут хорошо выраженный короткий воронковидный воротничок, 0,75-1х2-3,5 мкм.

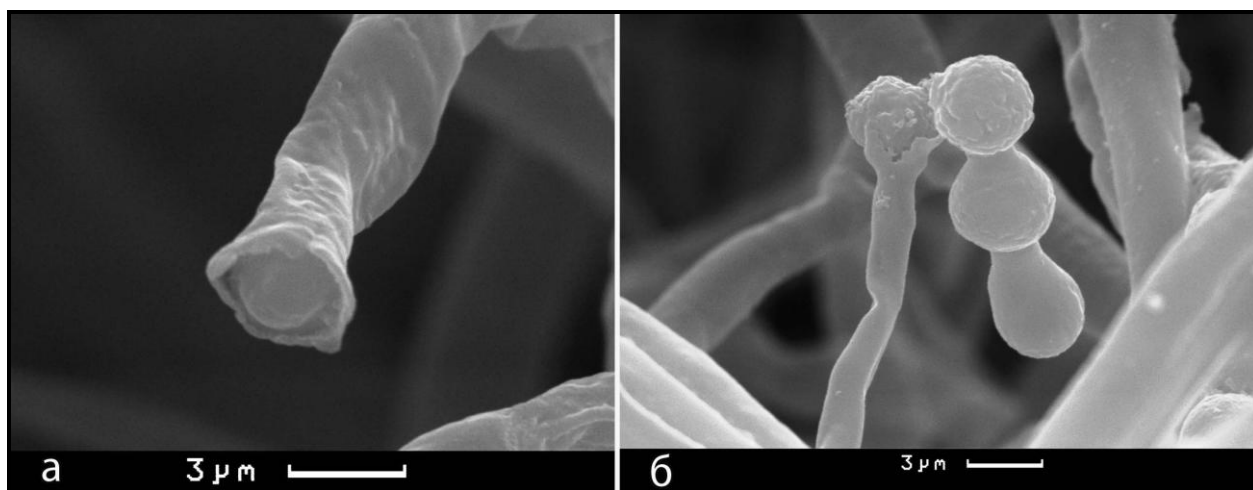


Рис. 9. Спороношение *M. floridanus* №К-1 по типу *Phialophora*: а,б – сканирующий электронный микроскоп.

Конидии, образующиеся в фиалидах, по внешнему виду схожи с конидиями, образующимися по типу *Basipetospora*. Они округлые, с усеченным основанием, шероховатые в разной степени, 3,5-4,5 мкм в диаметре, образуются в длинных базипетальных цепочках, которые легко распадаются. Первая образующаяся конидия, как правило, более или менее гладкая, более усеченная, последующие шероховатые, причем шероховатость конидий увеличивается по мере увеличения цепочки (рис. 9б). *Phialophora*-подобное спороношение впервые отмечено нами для видов рода *Monascus*.

Выделенный штамм *Monascus floridanus* передан во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов при Институте Биохимии и Физиологии Микроорганизмов имени Г.К. Скрыбина РАН (№ВКМ F-4444). Полученная в ходе проведения данной работы нуклеотидная последовательность исследуемого штамма была размещена в генбанке NCBI (№FR827895).

8. Защита авиационного топлива от биоповреждений микромицетами

Существуют физические, механические и химические методы борьбы с биоповреждениями топливных систем. Наиболее эффективные методы – это химические, т. е. введение в топливо специальных биоцидных присадок (Аббасова и др., 1991). Во ФГУП «ВИАМ» совместно с НПОАО «СинтезПав» около 10 лет назад началась разработка биоцидной присадки к топливу «БИКАИР» на основе алкилимидазолинов, относящихся к четвертичным аммонийным соединениям (ЧАС). ЧАС широко используются в качестве биоцидных добавок, их преимущества заключаются в том, что они хорошо растворимы в воде, не имеют запаха и даже в небольшом количестве (0,05-0,1%) проявляют сильное биоцидное действие (Вербина, 1971; Андреюк и др., 1980).

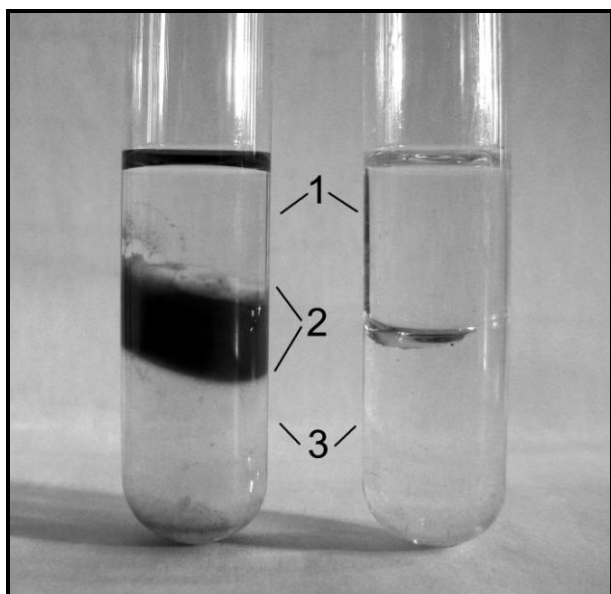


Рис. 10. Результаты испытаний модификаций биоцидной присадки: топливо с присадкой Т-60 (справа) и контроль без присадки (слева); 1 – топливный слой, 2 – мицелий гриба, 3 – водно-минеральный слой.

Исследования модификаций отечественной биоцидной присадки к топливу «БИКАИР» показали, что целый ряд модификаций оказался неэффективным по отношению к выделенным штаммам *H. resinae*, хоть и подавлял рост потенциальных деструкторов. Наиболее устойчивыми к действию биоцидных присадок оказались штаммы вида *H. resinae* (№№UI-1, Bat-1, Ir-12) и штамм *M. floridanus* №K-1. Также показано, что топливо с добавлением 0,3% присадки ПВКЖ (этилцеллозольв) обладает слабым биоцидным эффектом, недостаточным для подавления роста наиболее активных деструкторов.

Часть исследованных модификаций присадки «БИКАИР» подавляли рост всех изученных штаммов в концентрации 0,01-0,3%, но наиболее эффективными оказались 6 модификаций Т-55 — Т-60, которые полностью подавляли рост микромицетов при минимальной концентрации 0,005% (рис. 10). Они будут рекомендованы к применению для защиты авиационного топлива от биоповреждений микромицетами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние несколько десятилетий в нашей стране не уделялось должного внимания проблеме биоповреждений авиационного топлива. В своей работе мы попытались показать, насколько эта проблема актуальна и в настоящее время, учитывая современные темпы расширения авиационных перевозок.

Как и в предыдущие годы, так и сейчас, основная роль в деструкции авиационного топлива принадлежит виду *Hormoconis (Cladosporium) resinae*, что было установлено в данной работе. Мы также показали, что впервые выделенный нами из топлива вид *Monascus floridanus* способен использовать углеводороды нефти наравне с *H. resinae*, а по некоторым показателям, таким как короткая лаг-фаза при прорастании в топливе и скорость образования биомассы на ранних этапах, даже превосходит известный «керосиновый» гриб. Кроме того, выделенные нами потенциальные деструкторы также представляют большой интерес для изучения, так как они могут проявить себя как активные деструкторы при наличии определенных условий. Полученные культуры грибов будут использованы при проведении испытаний на грибостойкость топлив с биоцидными присадками и материалов, применяемых в топливных системах.

Ещё один важный вопрос, затронутый в работе, это защита авиационного топлива от биоповреждений микроорганизмами. Как в нашей стране, так и за рубежом ведутся работы по разработке и исследованию новых биоцидных присадок к авиационному топливу. Однако, как показала наша работа, с появлением в топливе новых активных штаммов микромицетов, многие существующие способы борьбы могут оказаться неэффективными. Наряду с процессами синтеза новых экологически безопасных защитных препаратов, должны вестись работы по изучению их эффективности на новых штаммах микромицетов, выделенных с эксплуатирующейся техники.

Постоянное изучение микроорганизмов, растущих в авиационном топливе, и своевременный контроль состояния авиационной техники позволит избежать проблем, связанных с биоповреждениями авиационного топлива и материалов топливных систем, т.е. совместная работа технологов, химиков, инженеров и микробиологов сможет обеспечить безопасную эксплуатацию авиационной техники.

ВЫВОДЫ

1. Из всех исследованных образцов авиационного топлива выделено 32 вида мицелиальных грибов, относящихся к 13 родам, и 11 морфологических типов мицелия без спороношений. Среди идентифицированных 1 голоморфный вид

аскомицетов (отдел Ascomycota): *Monascus floridanus* P. F. Cannon et E. L. Barnard, остальные виды относятся к анаморфам аскомицетов.

2. По способности к росту в топливе все штаммы были разделены на 3 группы: (1) активные деструкторы топлива, (2) потенциальные деструкторы топлива, (3) частично адаптированные к среде и случайные микромицеты. К группе 1 отнесены *Hormoconis resinae* и *M. floridanus*. Штаммы *H. resinae* встречены во всех образцах из баков самолетов и в двух образцах топлива с экспериментальных площадок. Штамм *M. floridanus* выделен из одного бака самолета. К группе 2 отнесены штаммы *Aspergillus ustus* и *Geotrichum candidum* - из бака самолета, *Alternaria alternata* и *Fusarium solani* - из топлива с экспериментальных площадок. К группе 3 отнесены все остальные исследованные штаммы микромицетов.

3. Из авиационного топлива впервые выделен голоморфный аскомицет *Monascus floridanus* и показана его способность к росту в топливе и на различных углеводородах. Для штамма из топлива отмечен ряд характерных признаков, не отмеченных у типового штамма.

4. При росте на углеводородах наибольшее значение прироста биомассы у *H. resinae* отмечено на гептадекане, у *M. floridanus* на гексадекане, т. е. на углеводородах с более длинной углеродной цепью (C₁₆-C₁₇). Потенциальные деструкторы развивались на предельных углеводородах приблизительно с той же активностью, что и в авиационном топливе, наиболее активный рост отмечен для штамма *F. solani* на углеводородах с более короткой углеродной цепью (C₇-C₁₀).

5. Показано, что наиболее благоприятная температура для развития грибов в топливе составляет около +28°C. Установлено, что штамм *H. resinae* сохраняет жизнеспособность при +60 °C до трех суток, штамм *M. floridanus* сохраняет жизнеспособность при +55°C не более суток. Активность роста в топливе обоих штаммов не изменяется при кратковременных колебаниях температуры от -60 °C до +60 °C.

6. Показано, что штаммы *H. resinae*, выделенные из образцов авиационного топлива, развивались гораздо более активно по сравнению со штаммами этого же вида, выделенными из почвы, воздуха, с древесины и из помещения 4-го блока Чернобыльской АЭС.

7. Установлено, что наиболее эффективными модификациями отечественной биоцидной присадки к топливу «БИКАИР» являются Т-55 – Т-60, которые полностью подавляют рост в топливе всех изученных микромицетов при минимальной концентрации 0,005 %.

8. Полученные культуры грибов будут использованы при проведении испытаний на грибостойкость топлив с биоцидными присадками и материалов, применяемых в топливных системах.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендуемых ВАК

1. **Васильева А. А.**, Чекунова Л. Н., Полякова А. В. Влияние температуры на рост и жизнеспособность *Hormoconis resinae* и *Phialophora sp.*, развивающихся в авиационном топливе // Микология и фитопатология. Том 43, вып. 4, 2009. – с. 312-316.
2. Полякова А. В., **Васильева А. А.**, Горяшник Ю. С., Линник М. А. Биозащита авиационных материалов // Российский Химический Журнал. Том LIV, М.: НУ «Редакция Российского химического журнала» и ООО «Российское химическое общество им. Д. И. Менделеева», 2010. – с. 117-120.
3. Каблов Е. Н., Полякова А. В., **Васильева А. А.**, Горяшник Ю. С., Кириллов В. Н. Микробиологические испытания авиационных материалов // Авиационная промышленность. Вып.1, М.: ОАО «Национальный институт авиационных технологий», 2011. – с. 35-40.
4. **Vasilyeva A. A.**, Chekunova L. N., Bilanenko E. N., Kachalkin A. V., Polyakova A. V. Characterization of the Strain *Monascus floricola* P. F. Cannon & E. L. Barnard, Isolated from Aviation Fuel // Microbiology, vol. 81, n. 2, 2012 – p. 244-250.

Материалы и тезисы конференций

5. **Vasilyeva A. A.**, Chekunova L. N., Mokeeva V. L., Polyakova A.V. Micromycetes of aviation fuel // XV Congress of European Mycologists. Abstracts. – St. Petersburg: TREEART LLC, 2007. – p. 106.
6. **Васильева А. А.**, Полякова А. В. Микромицеты авиационного топлива // Молодежь в авиационном материаловедении: Тезисы докладов молодежной науч.-техн. конф. – М.: ВИАМ, 2008. – с. 31-32.
7. **Васильева А. А.**, Чекунова Л. Н. Рост микромицетов на авиационном топливе и различных углеводородах // Современная микология в России. Том 2. материалы 2-го Съезда микологов России. М: Национальная академия микологии, 2008. – с. 367.
8. Полякова А. В., **Васильева А. А.**, Горяшник Ю. С., Кириллов В. Н. Испытания на микробиологическую стойкость в условиях теплого и влажного климата // Социально-экономическое и инновационное развитие Юга России. Материалы конференции. – Сочи: РИО СНИЦ РАН, 2009. – с. 172-176.

9. **Васильева А. А.**, Полякова А. В. Биоповреждения авиационного топлива плесневыми грибами // Тезисы докладов межотраслевой научно-технической конференции «Композиционные материалы в авиакосмическом материаловедении», М.: ВИАМ, 2009. – с. 36-37.
10. **Vasilyeva A. A.**, Chekunova L. N., Polyakova A.V. Filamentous fungi, growing in aviation fuel // Biodiversity. Ecology. Adaptation. Evolution. Materials of IV International Young Scientists conference. – Odesa: Pechatniy dom, 2009. – p. 79-80.
11. **Васильева А. А.**, Полякова А. В. Биоповреждения авиационного топлива микроскопическими грибами // Материалы Московской международной научно-практической конференции, М.: ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2010. - с. 343
12. **Vasilyeva A. A.**, Polyakova A.V. Microbiological corrosion of aviation fuel systems // <http://www.dgm.de/past/2010/junior-euromat/>.
13. Полякова А. В., **Васильева А. А.**, Линник М. А., Горяшник Ю. С. Микробиологические повреждения авиационных материалов // Сборник докладов VIII научной конференции по гидроавиации «Гидроавиасалон-2010», часть II, М: Издательский отдел Центрального Аэрогидродинамического Института имени проф. Н.Е.Жуковского (ЦАГИ), 2010. – с.215-216.
14. **Vasilyeva A.A.**, Chekunova L.N., Polyakova A.V. Filamentous fungi in aviation fuel tanks and storages // XVI Congress of European Mycologists. Abstracts. – Vassilica, Thessaloniki, Greece: NAGREF-Forest Research Institute, 2011 – p. 272-273.

Благодарности. Я выражаю искреннюю благодарность моему научному руководителю Чекуновой Лидии Николаевне за неоценимую помощь и всестороннюю поддержку при выполнении работы. Отдельное большое спасибо Елене Николаевне Биланенко и Алине Витальевне Александровой за помощь при определении грибов, ценные советы и рекомендации. Хочу поблагодарить Аллу Васильевну Полякову, Веру Леонидовну Мокееву, Ирину Ивановну Сидорову, Екатерину Благовещенскую за помощь при выполнении работ и ценные советы. Спасибо Валентине Васильевне Круть за предоставленные модификации биоцидной присадки, Алексею Качалкину за молекулярный анализ, Нелли Николаевне Ждановой за предоставленные культуры грибов.

Я искренне признательна всему коллективу кафедры микологии и альгологии Биологического факультета МГУ и коллективу лаборатории 20 Всероссийского института авиационных материалов.