

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

Понизовская Валерия Борисовна

**МИКРОМИЦЕТЫ ШТУКАТУРКИ И БЕЛОГО КАМНЯ
В ИНТЕРЬЕРАХ ПАМЯТНИКОВ КУЛЬТУРЫ**

Специальность 03.02.12 – микология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
кандидат биологических наук
научный сотрудник
В.Л. Мокеева

Москва – 2020

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1. Микроорганизмы, участвующие в биоповреждении минеральных строительных материалов	9
1.1.1. Фототрофные микроорганизмы	11
1.1.2. Хемолитотрофные микроорганизмы	13
1.1.3. Хемоорганотрофные микроорганизмы	17
1.2. Основные механизмы повреждающего действия микромицетов на минеральные строительные материалы	20
1.3. Микромицеты, колонизирующие минеральные строительные материалы памятников культуры на открытом воздухе	27
1.4. Микромицеты, колонизирующие минеральные строительные материалы в интерьерах памятников культуры	30
1.5. Ключевые параметры, определяющие развитие микромицетов на минеральных строительных материалах в интерьерах памятников культуры	37
1.5.1. Активность воды субстрата	37
1.5.2. Значение pH субстрата	43
1.6. Свойства известняка и штукатурки в качестве субстратов для микромицетов	46
1.7. Фунгицидные препараты, применяемые в реставрационной практике	51
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	53
2.1. Объекты исследования и отбор образцов	53
2.2. Изучение образцов строительных материалов с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ)	54
2.3. Выделение микромицетов из образцов	54
2.4. Хранение культур микромицетов	55
2.5. Идентификация изолятов	55
2.5.1. Идентификация изолятов по морфологическим и культуральным признакам	55
2.5.2. Идентификация изолятов по молекулярно-генетическим признакам. Филогенетический анализ.	63
2.6. Анализ выделенных комплексов грибов	73
2.7. Проверка способности микромицетов развиваться в образцах штукатурки	73
2.8. Исследование особенностей экофизиологии микромицетов штукатурки и белого камня известняка	74

2.8.1.	Влияние активности воды субстрата на скорость роста грибов	74
2.8.2.	Изучение скорости роста микромицетов при разных значениях рН	75
2.8.3.	Способность микромицетов к растворению карбоната кальция	76
2.9.	Изучение динамики развития грибных спор в пыли	76
2.10.	Сравнение фунгицидного действия препаратов	78
2.10.1.	Сравнение фунгицидного действия препаратов методом дисков	78
2.10.2.	Сравнение фунгицидного действия препаратов при обработке строительных материалов	79
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ		79
3.1.	Количественная оценка грибов в пробах	79
3.2.	<i>Lecanicillium gracile</i> V.B. Ponizovskaya, A.A. Grum-Grzhim., Georgieva & Bilanenko, sp. nov.	82
3.3.	Характеристика комплексов микромицетов штукатурки и белого камня известняка	88
3.4.	Способность микромицетов, выделенных из материалов, развиваться в образцах штукатурки	97
3.5.	Экофизиологические особенности микромицетов штукатурки и белого камня известняка	99
3.5.1.	Влияние активности воды субстрата на скорость роста микромицетов	99
3.5.2.	Скорость роста микромицетов при разных значениях рН среды	100
3.5.3.	Способность микромицетов к растворению карбоната кальция	106
3.6.	Развитие микромицетов в пыли	108
3.7.	Сравнение фунгицидного действия препаратов	115
3.7.1.	Сравнение фунгицидного действия препаратов методом бумажных дисков	115
3.7.2.	Сравнение фунгицидного действия препаратов при обработке строительных материалов	120
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ		121
4.1.	Особенности комплексов микромицетов штукатурки и белого камня известняка в интерьерах памятников культуры	122
4.2.	Особенности экофизиологии микромицетов штукатурки и белого камня известняка в интерьерах памятников культуры	130
4.3.	Роль микромицетов выделенного комплекса в биоповреждении строительных материалов на минеральной основе	131
4.4.	Развитие микромицетов в пыли	134

4.5. Сравнение фунгицидного действия препаратов	136
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	139
ВЫВОДЫ	141
СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ	142
БЛАГОДАРНОСТИ	144
ЛИТЕРАТУРА	145
ПРИЛОЖЕНИЕ	167

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы

Во второй половине XX века сформировалось представление о том, что деятельность живых организмов является не только неотъемлемой частью, но и важнейшим фактором процесса деструкции памятников культуры (Флеров, Лебедев, 1973; Sterflinger, Krumbein, 1997; Dornieden et al., 2000; Sterflinger, 2000; Warscheid, Braams, 2000; Gorbushina, Krumbein, 2005; Gadd, 2007, 2017, 2017a). В этой связи особое внимание при реставрации и консервации объектов культурного наследия уделяется изучению механизмов их биоповреждений. Значительная часть архитектурных памятников содержит конструкции из строительных материалов на минеральной основе как природного происхождения (например, белого камня известняка), так и искусственного (например, штукатурки). В частности, на территории России, начиная с XII века, белый камень активно использовался при строительстве храмов и церквей (Lyalikova, Petushkova, 1991). К настоящему времени установилось представление о том, что именно грибы признаны ключевыми агентами биоповреждений строительных материалов на минеральной основе (Sterflinger, 2000; Warscheid, Braams, 2000; Gorbushina et al., 2004; Gadd, 2007, 2017, 2017a; Suihko et al., 2007; Scheerer et al., 2009). Установлена важная роль грибов в геологических процессах, что является предметом изучения современной быстро развивающейся научной отрасли – геомикологии, и, в частности, в процессах биологического выветривания природного и искусственного камня (Sterflinger, 2000; Warscheid, Braams, 2000; Gorbushina, Krumbein, 2005; Gadd, 2007, 2017, 2017a; Власов, 2008). Грибы воздействуют на материалы как механически, так и химически, что может приводить к их дезинтеграции вплоть до осыпания (Ciferri, 1999; Gaylarde, Morton, 1999; Warscheid, Braams, 2000). Вместе с другими микроорганизмами микромицеты способны формировать биопленки на поверхностях, не только нарушая эстетический вид памятников (Warscheid, Braams, 2000), но и значительно повышая свою устойчивость к факторам стресса, в том числе к фунгицидным препаратам (Morton, Surman, 1994; Harding et al., 2009).

Аналізу таксономического состава микромицетов строительных материалов на минеральной основе в интерьерах одного (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Gorbushina et al., 2004; Šimonovičová et al., 2004; Guerra et al., 2019 и др.) или нескольких (Berner et al., 1997; Suihko et al., 2007 и др.) памятников архитектуры посвящено немало исследований. Однако до сих пор нет четкого представления о структуре грибных комплексов каменистых субстратов в интерьерах, и открытым остается вопрос о том, какие именно

виды являются функционально значимыми в процессе биоповреждений в этих комплексах. Отсутствуют попытки изучения показателей относительного обилия и встречаемости видов в сочетании с физиологическими характеристиками культивируемых микромицетов (отношение к фактору рН, активности воды субстрата, способности к продукции карбоновых кислот). Эти параметры могут позволить более полно оценить функциональную роль микромицетов в процессе биоповреждения каменных субстратов.

Цель и задачи исследования

Цель работы – дать характеристику сообщества культивируемых микромицетов строительных материалов на минеральной основе (штукатурки и белого камня) в интерьерах памятников культуры.

Были поставлены следующие **задачи**:

1. Дать характеристику структуры комплексов культивируемых микромицетов штукатурки и белого камня в интерьерах памятников культуры на основании оценки их таксономического разнообразия и количественных показателей.
2. Провести анализ экофизиологических параметров доминирующих видов комплексов: скорости роста в диапазоне значений рН от кислых до щелочных; зависимости скорости роста микромицетов от активности воды субстрата; способности микромицетов растворять карбонат кальция.
3. Изучить способность некоторых микромицетов штукатурки и белого камня развиваться в пыли помещений.
4. Оценить фунгицидное действие ряда препаратов.
5. Расширить коллекцию грибов-агентов биоповреждений для возможного тестирования биостойкости строительных материалов.

Объект и предмет исследования

Объект исследования – микромицеты, колонизирующие минеральные строительные материалы. **Предмет исследования** – особенности сообщества культивируемых микромицетов штукатурки и белого камня в интерьерах памятников культуры.

Научная новизна

Впервые показано, что на строительных материалах на минеральной основе (штукатурке и белом камне известняке) в интерьерах памятников культуры наиболее активно развивается специфический комплекс культивируемых микромицетов, многие представители которого относятся к *Нуроскреомыцетиде* (*Sordariomycetes*). Для комплекса

характерны *Acremonium*-подобные виды – представители родов *Acremonium*, *Lecanicillium*, *Sarocladium* и *Verticillium*.

Впервые показано, что представители сообщества микромицетов штукатурки и белого камня известняка в интерьерах памятников культуры, способные активно развиваться в изученных материалах, хорошо растут в широком диапазоне значений pH, от слабокислых до щелочных, и, как правило, являются сильными алкалотолерантами. Для функционирования многих из этих видов требуется большое количество доступной влаги.

Впервые прослежена динамика развития грибов в пыли помещений при разных значениях относительной влажности воздуха.

Выявлен и описан новый для науки вид, *Lecanicillium gracile* V.B. Ponizovskaya, A.A. Grum-Grzhim., Georgieva & Bilanenko sp. nov., способный активно развиваться в штукатурке и белом камне, а также растворять карбонат кальция.

Расширено представление об экологии некоторых *Acremonium*-подобных аскомицетов, показана их способность развиваться на штукатурке и белом камне.

Теоретическая и практическая значимость работы

Знания о функционировании микробных сообществ являются важным шагом к пониманию процессов биоповреждения материалов. Настоящая работа пополняет сведения о структуре и функционировании сообществ микромицетов, способных развиваться в строительных материалах на минеральной основе в интерьерах, а также расширяет представление об экологии и физиологии изученных видов. Расширена коллекция грибов-биодеструкторов кафедры микологии и альгологии МГУ имени М.В. Ломоносова, часть изолятов передана в международные коллекции: ВКМ и ВКПМ (Россия), CBS (Нидерланды), VTT (Финляндия). Изоляты созданной коллекции способны переносить экстремальные условия. В связи с этим они были использованы при изучении способности грибов к выживанию в условиях открытого космоса (Понизовская и др., 2017).

Полученные нами данные дают основу для прогнозирования состояния памятников и разработки превентивных и реставрационных мер. Знание экофизиологических характеристик видов микромицетов необходимо для разработки мер замедления или предотвращения их развития в материалах, в том числе без использования биоцидной обработки, оказывающей нагрузку на экологическое состояние окружающей среды и негативное воздействие на памятники культурного наследия. Полученные нами данные о способности грибов к растворению карбоната кальция вносят вклад в исследование

оценки их потенциальной опасности для минеральных субстратов. Данные о параметрах относительной влажности воздуха и активности воды субстрата, при которых могут прорасти и развиваться споры грибов, позволяют прогнозировать факт и скорость колонизации различных материалов конкретными видами грибов.

Полученные сведения о сообществах и физиологии грибов-агентов биоповреждений могут быть включены в курс лекций и практических занятий, касающихся вопросов биоповреждений.

Методология исследования

В работе были использованы классические методы микологических исследований (сбор материала, микроскопирование, работа с чистыми культурами), молекулярно-генетические методы и методы статистического анализа данных, а также анализ данных литературы.

Положения, выносимые на защиту

1. На штукатурке и белом камне в интерьерах памятников культуры активно развиваются своеобразные комплексы культивируемых микромицетов, представители которых преимущественно относятся к Нурогеомыцетиде. К наиболее активно развивающимся на исследованных материалах представителям комплекса отнесены *Acremonium charticola*, *A. furcatum*, *Lecanicillium gracile*, *Parengyodontium album*, *Purpureocillium lilacinum* и *Sarocladium kiliense*, о чем свидетельствуют высокие показатели их численности и относительного обилия.
2. Большинство видов грибов, развивающихся на штукатурке и белом камне в интерьерах памятников культуры, по характеру адаптации к факторам активности воды и значениям внешнего pH отнесены к мезофилам и сильным алкалотолерантам. Среди них есть виды, которые могут растворять CaCO₃ – *Acremonium charticola*, *Aspergillus versicolor*, *Lecanicillium gracile*, *Lecanicillium* sp., *Penicillium chrysogenum* и *Pseudogymnoascus pannorum*.
3. Среди грибов, активно развивающихся на штукатурке и белом камне, выявлен новый для науки вид аскомицетов, *Lecanicillium gracile* V.B. Ponizovskaya, A.A. Grum-Grzhim., Georgieva & Bilanenko.
4. Данные о структуре сообществ грибов, колонизирующих памятники культуры, могут быть использованы для биоиндикации. Они позволят сделать анализ прошлого и будущего состояния объекта культурного наследия и модифицировать меры борьбы с агентами биоповреждений штукатурки и камня.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов определяется выбором методов для решения поставленных задач и соблюдением условий экспериментов, актуальных методов статистического анализа и достаточным для обработки объемом выборки. Материалы диссертации доложены на II Междисциплинарном микологическом форуме (Москва, 2010), III Съезде микологов России (Москва, 2012), XXI Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2014), X Международном микологическом конгрессе (Бангкок, 2014), XVII Международном конгрессе европейских микологов (Фуншал, 2015), Третьем международном микологическом форуме (Москва, 2015), Международной конференции «Биология, систематика и экология грибов и лишайников в природных экосистемах и агрофитоценозах» (Каменюки, 2015), VI Международном симпозиуме «Биогенные-абиогенные взаимодействия в природных и антропогенных системах» (Санкт-Петербург, 2018), Всероссийской конференции с международным участием «Микология и альгология России. XX – XXI век: смена парадигм» (Москва, 2018). Диссертация апробирована на заседании кафедры микологии и альгологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова 24 декабря 2019 года.

Публикации

По материалам исследования опубликовано 13 работ, из них 2 – статьи в международных рецензируемых журналах, реферируемых в Web of Science, 2 – статьи в журналах из списка ВАК.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Микроорганизмы, участвующие в биоповреждении минеральных строительных материалов

Конструкции из строительных материалов на минеральной основе как природного происхождения (например, известняк, гранит, песчаник), так и искусственного (например, штукатурка, кладочный раствор, цемент) подвержены постоянному выветриванию (Warscheid, Braams, 2000; Gadd, 2007, 2017). *Выветривание* – процесс разрушения и химического изменения горных пород в условиях земной поверхности или вблизи нее под влиянием колебаний температуры, химического и механического воздействия атмосферы, воды и организмов (Новый..., 2004). Выветривание камня в природных условиях является неотъемлемой частью геологических процессов и в конечном итоге приводит к почвообразованию (Sterflinger, 2000; Gadd, 2007, 2017). В то же время, выветривание

строительного камня представляет существенную угрозу для сохранности культурного наследия и несет значительный экономический ущерб (Warscheid, Braams, 2000; Scheerer et al., 2009; Абакумов и др., 2016; Gadd, 2017). Выветривание подразделяют на физическое, химическое и биологическое (Новый..., 2004). Биологическое выветривание тесно связано с физическим и химическим: организмы воздействуют на материалы химически и механически, в то время как химический состав каменных субстратов и их физические свойства являются определяющими для развития тех или иных комплексов организмов (Warscheid, Braams, 2000; Gorbushina, Krumbein, 2005; Gadd, 2007, 2017, 2017a).

На протяжении очень долгого времени роль биологического фактора в выветривании сильно недооценивалась, и лишь в конце XX века биологическое выветривание признали крайне важным (Sterflinger, Piñar, 2013). Вообще, организмы не только принимают активное участие в выветривании, но напрямую или косвенно оказывают влияние на глобальные химические и физические процессы, происходящие на поверхности Земли и вблизи нее. В частности, микроорганизмы являются важной составляющей геологических процессов: круговорота азота, серы, фосфора и многих других химических элементов, формирования осадочных горных пород и даже влияют на тектонические процессы и альбедо Земли (величину, характеризующую способность Земной поверхности отражать падающий на нее поток электромагнитного излучения или частиц (Новый..., 2004)) (Sterflinger, 2000; Gorbushina, Krumbein, 2005; Gadd, 2007, 2017).

С понятием биологического выветривания природного и искусственного камня тесно связано понятие биоповреждения. Согласно определению, принятому на I Международном симпозиуме по биоповреждениям в Саутхемптоне (Англия) в 1968 году, *биологическими повреждениями* следует считать любые нежелательные изменения свойств материалов, вызванные жизнедеятельностью организмов (Ильичев и др., 1987). Лишь в конце XX века было признано, что важнейшая роль в биоповреждении каменных субстратов принадлежит именно микроорганизмам (Schnabel, 1991; Sterflinger, 2000; Warscheid, Braams, 2000; Gorbushina, Krumbein, 2005; Sterflinger, Piñar, 2013; Gadd, 2007, 2017).

Долгое время считалось, что развитию организмов на минеральных субстратах предшествует воздействие абиотических факторов, которые разрушают структуру материалов и наполняют субстраты органическими и неорганическими питательными веществами. Однако в конце XX века исследования показали, что некоторые организмы могут заселять минеральные субстраты уже на самых ранних стадиях выветривания и

усиливать дальнейшее разрушение минералов (Warscheid, Braams, 2000). Как в природных условиях, так и в искусственных, созданных человеком, на минеральных субстратах чаще всего образуется сложное многокомпонентное сообщество организмов из разных таксономических групп, члены которого оказывают влияние друг на друга (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Gorbushina, Petersen, 2000; Warscheid, Braams, 2000; Ерофеев, 2008; Scheerer et al., 2009). По способу получения энергии организмы, обитающие на минеральных субстратах, можно разделить на группы фототрофов, хемолитотрофов и хемоорганотрофов (Gadd, 2017).

1.1.1. Фототрофные микроорганизмы

В эту группу входят микроорганизмы, использующие свет как основной источник энергии (Gadd, 2017). Среди фототрофных микроорганизмов наиболее распространенными на архитектурных сооружениях из природного и искусственного камня являются водоросли и цианобактерии, при этом их видовое разнообразие на минеральных субстратах велико (Ciferri, 1999; Tomaselli et al., 2000; Warscheid, Braams, 2000; Scheerer et al., 2009; Sterflinger, Piñar, 2013; Natale et al., 2020). Способность водорослей и цианобактерий заселять каменистые субстраты была обнаружена в конце XIX века (Gorbushina, 2007). Фототрофы могут первыми заселять архитектурные сооружения, запуская процесс биоповреждения (Warscheid, Braams, 2000; Scheerer et al., 2009; Gadd, 2017).

Степень освещенности влияет на структуру сообщества литобионтных фототрофных микроорганизмов (Sterflinger, Piñar, 2013; Natale et al., 2020). Так, цианобактерии проявляют устойчивость к недостатку освещенности и могут доминировать в тускло освещенных помещениях, например, криптах (Sterflinger, Piñar, 2013). Интересно, что в практически темных условиях, при которых развитие эукариотических водорослей уже невозможно, из цианобактерий преобладают одноклеточные и колониальные (*Chroococcidiopsis*, *Gloeocapsa*, *Gloeocapsopsis*, *Gloeothese*), а при более светлом сумеречном освещении, достаточном для эукариотических водорослей, преобладают нитчатые цианобактерии (например, *Leptolyngbya*, *Scytonema*) (Natale et al., 2020).

Предполагается также некоторая приуроченность фотосинтезирующих микроорганизмов к определенному типу минерального субстрата (Tomaselli et al., 2000), хотя авторы не высказывают предположения, с чем эта приуроченность может быть связана. Так, на известняках часто обнаруживаются цианобактерии *Chroococcus minor*, *Gloeocapsa biformis*, *Myxosarcina concinna*, *Pleurocapsa* sp. и *Scytonema* sp. и зеленые

водоросли *Apatococcus* и *Stichococcus*, на материалах с высоким содержанием кремния – нитчатые цианобактерии *Phormidium tenue*, *P. autumnale* и *Microcoleus vaginatus*, в то время как на искусственном камне, например, на штукатурке, чаще отмечаются представители *Chroococcidiopsis*, *Leptolyngbya*, а также *Nostoc punctiforme* и *N. muscorum* (Tomaselli et al., 2000). При этом многие цианобактерии и водоросли не имеют такой приуроченности и встречаются на разнообразных строительных материалах (Tomaselli et al., 2000).

На памятниках из природного и искусственного камня обычными представителями цианобактерий являются *Chroococcus minor*, *Gloeocapsa biformis*, *Microcoleus vaginatus*, *Myxosarcina concinna*, *Nostoc punctiforme*, *Phormidium autumnale*, *P. tenue*, *Plectonema boryanum*, *Stichococcus bacillaris*, а также представители родов *Chroococcidiopsis*, *Leptolyngbya*, *Plectonema*, *Pleurocapsa*, *Scytonema*. Среди эукариотических водорослей, обитающих на архитектурных сооружениях из камня, преобладают представители отдела Chlorophyta. Например, часто упоминаются *Apatococcus lobatus*, *Chlorella fusca*, *C. homosphaera*, *Muriella terrestris*, *Ulothrix* spp. Также на сооружениях отмечаются некоторые представители отдела Charophyta, например, *Klebsormidium accidum* (Tomaselli et al., 2000). Значительно реже обнаруживаются представители отдела Bacillariophyta (например, *Navicula mutica* и *Nitzschia communis*), которые приурочены к поверхностям с очень высокой влажностью, например, фонтанов (Tomaselli et al., 2000). Интересно отметить, что, хотя в умеренном климате диатомовые водоросли встречаются достаточно редко, в тропическом могут даже доминировать в сообществах, колонизирующих памятники архитектуры из камня (Ребрикова, 1999).

Ранее предполагалось, что фототрофы не оказывают разрушительного воздействия на каменистые субстраты, их действие сводится в основном к образованию патины (налетов) на архитектурных сооружениях, а также к обогащению минеральных субстратов органическими веществами, что способствует дальнейшему заселению материалов гетеротрофными организмами (Warscheid, Braams, 2000). Более того, цианобактерии способны фиксировать азот, переводя его в форму, доступную для других компонентов сообщества (Gorbushina, 2007). Однако затем была доказана высокая значимость фототрофных организмов в качестве агентов биоповреждения (Warscheid, Braams, 2000; Scheerer et al., 2009). Так, показано механическое воздействие водорослей и цианобактерий на каменистые субстраты, поскольку некоторые их представители не только способны заселять трещины, провоцируя их дальнейшее разрушение, но и даже активно проникают вглубь камней, особенно если материал ослабленный или пористый

(Ranalli et al., 2009; Scheerer et al., 2009). Организмы, обитающие в расщелинах, трещинах, порах каменных субстратов относятся к *хазмоэндолитам* (Hoppert et al., 2004; Gadd, 2017). Организмы, активно проникающие вглубь каменных субстратов за счет пробуравливания в них полостей, относятся к *эуэндолитам* (Hoppert et al., 2004; Gadd, 2017).

Развитие водорослей и цианобактерий внутри камня защищает их от действия повреждающего ультрафиолетового излучения и высыхания (Gorbushina, 2007; Scheerer et al., 2009). Показано, что криптоэндолитные цианобактерии формируют отчетливые слои на глубине 0,5–5 мм, поскольку в этом диапазоне они получают достаточно освещения для фотосинтеза (Gorbushina, 2007).

В целом считается, что цианобактерии являются более значимыми в процессе биоповреждения каменных субстратов, чем эукариотические водоросли. Это связано, во-первых, с большей устойчивостью цианобактерий к неблагоприятным факторам окружающей среды по сравнению с эукариотическими водорослями (Gorbushina, 2007; Scheerer et al., 2009). Так, например, цианобактерии выдерживают высыхание и отсутствие света на протяжении года и даже более (Gorbushina, 2007; Scheerer et al., 2009). С другой стороны, вследствие пигментации цианобактерии способны выдерживать интенсивное ультрафиолетовое облучение (Scheerer et al., 2009). Например, они доминировали на внешних поверхностях древних каменных структур в Латинской Америке, Греции и Индии (Scheerer et al., 2009). Во-вторых, цианобактерии, развиваясь на камнях, как правило, погружены в слизистый полисахаридный матрикс. Кислоты в этом матриксе способны к комплексообразованию и, следовательно, выведению катионов из структуры материала. Таким образом, цианобактерии могут и химически разрушать минеральные субстраты. Также полисахаридный матрикс представляет собой дополнительный источник органических веществ для других микроорганизмов сообщества (Ranalli et al., 2009; Scheerer et al., 2009).

Важно отметить, что фототрофы могут оказывать и защищающее воздействие на субстрат при определенных условиях, например, создавая на них биопленку, сглаживающую колебания температуры и влажности (Warscheid, Braams, 2000).

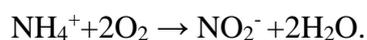
1.1.2. Хемолитотрофные микроорганизмы

Хемолитотрофы – организмы, получающие энергию от окисления неорганических соединений (Gadd, 2017). Представители аэробных хемолитотрофов, обитающие на каменных субстратах памятников архитектуры, – это бактерии-нитрификаторы и тионовые бактерии, использующие в качестве основных источников энергии соединения

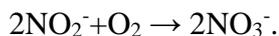
азота и серы соответственно. Присутствие таких бактерий в материалах зависит от наличия соединений, содержащих восстановленную серу или азот (таких как H_2S , S , SO_3^{2-} , NH_3 , NO_2^-) (Бобкова и др., 1971; Warscheid, Braams, 2000). Соли аммония содержатся в воздухе, а источниками нитритов могут быть выхлопные газы автомобилей, загрязнения окружающей среды в результате промышленной деятельности, а также почва (Scheerer et al., 2009). В 1954 году J. Kauffmann и P. Toussaint высказали предположение, что хемоавтотрофные микроорганизмы являются одними из наиболее важных агентов биодеструкции строительного камня (Kauffmann, Toussaint, 1954). Однако позднее было показано, что хемолитотрофы, как правило, не играют первостепенной роли в качестве агентов биоповреждений каменных субстратов, и лишь в некоторых случаях, развиваясь в массе, могут нанести значительный ущерб материалам (Tiano et al. 2002; Scheerer et al., 2009). Это связано с тем, что хемолитотрофные бактерии хорошо развиваются преимущественно во влажных и теплых условиях, поэтому широко распространены, например, в тропиках, в то время как в умеренной зоне они слабо развиваются вследствие высокой чувствительности к умеренным температурам (Warscheid, Braams, 2000). Хемолитотрофные бактерии могут служить источником органики для последующих гетеротрофных организмов, участвующих в заселении субстрата (Gaylarde, Morton, 1999).

Бактерии-нитрификаторы были выделены и описаны в 1890 году С.Н. Виноградским (Биология..., 2001). Интересно отметить, что в том же году впервые было обращено внимание на участие микроорганизмов в биоповреждении каменных субстратов. Причем примером таких микроорганизмов стали именно нитрифицирующие бактерии, которые предполагались в качестве основной причины разрушения камня (Muntz, 1890). Несмотря на это открытие, роль бактерий-нитрификаторов в качестве агентов биоповреждения оставалась слабо изученной вплоть до середины XX века (Kauffmann, 1960).

Нитрификация – процесс биологического превращения восстановленных соединений азота в неорганические окисленные. Она представляет собой основной путь образования нитрата в природе и играет первостепенную роль в круговороте азота в биосфере (Биология..., 2001). Нитрификаторы используют энергию окисления аммония или нитрита для ассимиляции углекислоты и других процессов. Процесс происходит в две фазы. Нитрификаторы первой фазы (например, *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*) окисляют аммоний до нитрит-иона (Gaylarde, Morton, 1999; Warscheid, Braams, 2000; Ерофеев, 2008; Ranalli et al., 2009):



Затем нитрификаторами второй фазы (*Nitrobacter Nitrospina*, *Nitrococcus*) нитрит-ион окисляется в нитрат-ион (Gaylarde, Morton, 1999; Warscheid, Braams, 2000; Ерофеев, 2008; Ranalli et al., 2009):



При развитии бактерий-нитрификаторов на минеральных субстратах, катионы, высвободившиеся из минеральных солей (например, из карбоната кальция) связываются с нитрат- или нитрит-ионами, что приводит к вымыванию этих катионов из материала при его намокании, поскольку нитраты и нитриты более растворимы в воде, чем исходные соли. В итоге материал постепенно разрушается (Warscheid, Braams, 2000; Scheerer et al., 2009). Визуальный результат деятельности нитрифицирующих бактерий проявляется в том, что материал становится более пористым, происходит его отслаивание и осыпание (Scheerer et al., 2009).

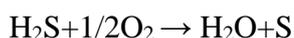
Нитрифицирующие бактерии не часто отмечаются в качестве агентов биоповреждения камня (Gaylarde, Morton, 1999). Тем не менее, такие случаи известны. Так, например, было показано, что выделение азотной и азотистой кислот вследствие деятельности бактерий-нитрификаторов было основной причиной деструкции асбоцемента (Gaylarde, Morton, 1999). Более того, есть сведения о том, что азотфиксирующие бактерии – одни из основных агентов биодеструкции песчаника в странах северной Европы (Scheerer et al., 2009). Из известняка памятников архитектуры в г. Москве в местах деструкции наряду с другими микроорганизмами были выделены нитрифицирующие бактерии (Ребрикова, 1999). Экспериментально показана важная роль бактерий-нитрификаторов (*Nitrobacter winogradskyi*, *Nitrosolobus* sp.) в разрушении белого камня (Lyalikova, Petushkova, 1991).

Нужно отметить, что известна и гетеротрофная нитрификация, осуществляемая разнообразными организмами, включая грибы, при которой также образуются азотная или азотистая кислоты не только из неорганических, но и органических соединений азота (Биология..., 2001; Scheerer et al., 2009).

Тионовые бактерии были открыты в самом начале XX века и относятся к группе серобактерий, которые получают энергию за счёт окисления серы и её восстановленных неорганических соединений (сероводорода, тиосульфата и др.) (Кондратьева, 1974). Обычно это название применяется в отношении рода *Thiobacillus* (Кондратьева, 1974; Биология..., 2001). Однако в настоящее время часть тионовых бактерий, в том числе *Thiobacillus ferrooxidans*, отнесена к роду *Acidithiobacillus* на основании молекулярно-генетических и физиологических признаков (Kelly, Wood, 2000). Большинство тионовых

бактерий хемоавтотрофы (Кондратьева, 1974; Ерофеев, 2008; Gadd, 2017), хотя среди них есть и представители с миксотрофным питанием, а также те, кто способен переключаться с автотрофного на гетеротрофное питание (Кондратьева, 1974).

Тионовые бактерии способны окислять сероводород, сульфиды, сульфиты, тиосульфаты, тетратионаты и проч. (Кондратьева, 1974). Химические превращения, вызванные тионовыми бактериями при окислении сероводорода, серы и тиосульфата, можно описать следующими уравнениями (Кондратьева, 1974; Ерофеев, 2008):



Образовавшаяся в ходе реакций серная кислота, аналогично нитратам и нитритам, может связываться с катионами, переводя их в более растворимую форму и способствуя их вымыванию из материалов (Scheerer et al., 2009). При реакции серной кислоты с карбонатом кальция образуется сульфат кальция (гипс), который в виде черных корок откладывается на поверхности карбонатных пород (Scheerer et al., 2009; Абакумов и др., 2016).

Считается, что тионовые бактерии представляют для минеральных субстратов более серьезную опасность, чем бактерии-нитрификаторы (Ерофеев, 2008). Их представители могут активно осваивать искусственные строительные материалы на минеральной основе, такие как цемент, кирпич, известковый раствор, и разрушать их, поскольку эти материалы содержат сульфиды (Gaylarde, Gaylarde, 2004; Gadd, 2017). Например, присутствие тионовых бактерий *Acidithiobacillus thiooxidans* и *Thiobacillus neopolitabus* в цементе коррелировало с его разрушением (Gu et al., 1998). Тионовые бактерии (*Acidithiobacillus thiooxidans* и *Thiobacillus thioparus*) также являлись основной причиной биодеструкции ряда белокаменных памятников архитектуры на территории бывшего Советского Союза (Lyalikova, Petushkova, 1991). Более того, бактерия *Thiobacillus ferrooxidans* помимо окисления серосодержащих соединений способна к окислению ионов железа, вызывая таким образом коррозионную деструкцию (Кондратьева, 1974; Ranalli et al., 2009; Gadd, 2017).

Однако образование серной кислоты на каменистых субстратах далеко не всегда связано с деятельностью тионовых бактерий (Tiano et al., 2002; Scheerer et al., 2009). Так, серную кислоту могут продуцировать и другие представители серобактерий, например, автотрофная серобактерия *Thiomicrospira* (Ranalli et al., 2009). Также на каменистых субстратах встречаются нитчатые серобактерии из родов *Beggiatoa* и *Thiothrix* (Scheerer et

al., 2009), большинство представителей которых нуждается для роста в готовых органических веществах (Биология..., 2001). Также серную и сернистую кислоты способны выделять некоторые микромицеты (например, *Aspergillus niger*, *Fusarium solani*, *Talaromyces luteus*) и некоторые гетеротрофные бактерии (например, *Bacillus* spp.) (Кондратьева, 1974; Sterflinger, 2000; Scheerer et al., 2009). И, наконец, серная кислота может попадать на камень из окружающей среды, например, с атмосферными осадками и загрязнениями (Scheerer et al., 2009).

1.1.3. Хемоорганотрофные микроорганизмы

Хемоорганотрофы – организмы, источником энергии для которых служат органические соединения (Gadd, 2017). На протяжении длительного времени хемоорганотрофам не придавалось много значения в качестве агентов биоповреждения, поскольку предполагалось, что на каменистых поверхностях недостаточно питательных веществ для их развития (Scheerer et al., 2009). Также бытовало мнение, что хемоорганотрофы способны заселять каменистые субстраты лишь после их освоения автотрофными организмами, которые обеспечивают органотрофов готовыми органическими веществами (Gadd, 2017).

В настоящее время активное участие хемоорганотрофных организмов в биодеструкции хорошо доказано (Gaylarde, Morton, 1999; Warscheid, Braams, 2000; Scheerer et al., 2009; Gadd, 2017). Показано, что на поверхности субстратов аккумулируются необходимые вещества для развития микроорганизмов (источники азота, углерода, фосфора, железа, различные органические соединения), которые попадают туда из окружающей среды (Gadd, 2007). Поэтому хемоорганотрофные организмы могут быть первичными колонизаторами, доминируя на минеральных субстратах при отсутствии или в присутствии фототрофов (Gadd, 2017). Было высказано предположение, что в сообществе микроорганизмов, заселяющих минеральные субстраты, гетеротрофные микроорганизмы формируют на поверхности материалов слой, удерживающий влагу и защищающий влаголюбивые хемолитотрофные микроорганизмы, развивающиеся в более глубоких слоях материала, от высыхания (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990).

Хемоорганотрофные бактерии, в отличие от хемолитотрофных, представлены на каменистых субстратах памятников архитектуры очень широко и встречаются повсеместно (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Lyalikova, Petushkova, 1991; Ortega-Morales et al., 2005; Gorbushina, 2007; Scheerer et al., 2009). Гетеротрофные бактерии в качестве обитателей каменистых субстратов начали привлекать внимание исследователей с середины XX века (Gorbushina, 2007).

Одна из групп таких бактерий относится к порядку Actinomycetales (тип Actinobacteria), в русскоязычной литературе раньше их называли «лучистые грибки». Актиномицеты грамположительны и имеют морфологическое сходство с грибами вследствие формирования мицелия (Кучаева, 1974). Они часто выделяются из минеральных строительных материалов архитектурных сооружений (Scheerer et al., 2009). Актиномицеты предпочитают субстраты с постоянно высоким уровнем влажности (Ребрикова, 1999; Tiano, 2002), часто встречаются в подземных местообитаниях с повышенной влажностью, например, в криптах (Tiano, 2002).

Показано, что актиномицеты обладают широким спектром ферментов, что позволяет им использовать для питания даже труднодоступные источники углерода (Scheerer et al., 2009), вследствие чего они способны заселять минеральные субстраты на позднем этапе сукцессии и доминировать в микробном сообществе после того, как источники легкодоступных органических веществ исчерпываются (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Ребрикова, 1999; Gorbushina, 2007). Например, актиномицеты могут расщеплять компоненты клеточных стенок бактерий и грибов (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Ребрикова, 1999). В частности, у представителей рода *Streptomyces* обнаружены протеазы, позволяющие разлагать белковые молекулы до пептидов, а также пептидазы, позволяющие разлагать пептиды до аминокислот. Также *Streptomyces* spp. могут разлагать растительные компоненты за счёт деятельности целлюлаз и остатки грибов и насекомых за счёт деятельности хитиназ (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990).

Повреждения актиномицетами каменистых субстратов, в первую очередь, связаны с их способностью формировать биопленки, которые нарушают эстетический вид памятников культурного наследия. Визуально развитие актиномицетов на каменистых субстратах заметно в виде белого налета; кроме того, они выделяют водорастворимые и нерастворимые темные пигменты (Gorbushina, 2007; Scheerer et al., 2009). Интересные данные получены Maciejewska et al. (2017) о том, что актиномицеты, обитающие в пещерах, активно участвуют в формировании так называемого лунного молока, которое представляет собой карстовое образование, от пастообразного до твердого, состоящее в основном из мелких кристаллов карбоната кальция. Появление лунного молока обнаружено во всемирно известной пещере Ласко на юге Франции, связанное с повышением влажности внутри пещеры, что спровоцировало развитие в ней микроорганизмов (Ребрикова, 1999). Также актиномицеты способны механически повреждать материал, что обусловлено давлением гиф на материал, «бурением», особенно в пористых и ослабленных участках (Gadd, 2017). Таким образом, актиномицеты

способны проникать вглубь материалов (Ortega-Morales et al., 2005). В литературе есть упоминания о выделении актиномицетами кислот, способных разрушать материалы, однако, крайне редкие (Scheerer et al., 2009).

На минеральных строительных материалах архитектурных сооружений отмечены представители родов *Arthrobacter*, *Blastococcus*, *Brevibacterium*, *Clavibacter*, *Frankia*, *Geodermatophilus*, *Kocuria*, *Micrococcus*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Streptomyces* (Ребрикова, 1999; Warscheid, Braams, 2000; Tiano, 2002; Ranalli et al., 2009). Так, *Arthrobacter* sp. и *Streptomyces* sp. доминировали в образцах деструктированного камня, отобранных внутри собора Рождества Пресвятой Богородицы Свято-Пафнутьева Боровского монастыря (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990).

Помимо актиномицетов, на каменистых субстратах часто встречаются хемоорганотрофные бактерии из рода *Bacillus*. Например, *Bacillus* spp. доминировали на деструктированном камне внутри собора Рождества Пресвятой Богородицы Свято-Пафнутьева Боровского монастыря (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990). Лабораторные исследования показали способность *Bacillus* к кислотообразованию, что указывает на потенциальную опасность этих бактерий для строительных материалов на минеральной основе (Scheerer et al., 2009).

Также из каменистых субстратов архитектурных сооружений выделяли представителей родов *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Brevibacillus*, *Flavobacterium*, *Halococcus*, *Halomonas*, *Paenibacillus* (Ребрикова, 1999; Ranalli et al., 2009; Natale et al., 2020).

Отмечается высокая ферментативная активность ряда бактерий, обнаруженных на минеральных строительных материалах. Так, *Bacteroides*, *Pseudomonas*, *Sarcina* продуцируют протеазы и пептидазы, *Bacillus* – амилазы и липазы, *Cytophaga*, *Vibrio*, *Cellvibrio*, *Cellfalcicula* – целлюлазы, *Clostridium* – амилазы, *Alcaligenes*, *Clostridium*, *Staphylococcus* – липазы (Ranalli et al., 2009). Продукция амилаз, целлюлаз и липаз позволяет бактериям разлагать, например, компоненты настенной живописи – крахмал, целлюлозу и жиры (Ranalli et al., 2009). Также отмечена способность литобионтных органотрофных бактерий использовать некоторые загрязнители окружающей среды, в частности, полициклические ароматические углеводороды, в качестве единственного источника углерода и энергии (Gorbushina, 2007).

Интересно отметить, что, хотя органотрофные бактерии оказывают повреждающее действие на минеральные субстраты, некоторые из них могут быть использованы в реставрации и консервации культурного наследия. Например, для удаления

сульфатсодержащих черных корок с памятников, использовали сульфатредуцирующую облигатно анаэробную бактерию *Desulfovibrio vulgaris* (Ranalli et al., 2009).

Микромицеты также являются представителями хемоорганотрофных организмов, заселяющих минеральные субстраты. Роль грибов в биоповреждении минеральных субстратов, как частный случай биологического выветривания, изучает сравнительно молодая активно развивающаяся научная отрасль геомикология (Gadd, 2007, 2017, 2017a; Власов, 2008). В настоящее время появляется все больше свидетельств о том, что грибы принимают активное участие в геологических процессах, таких, как круговорот элементов в природе, трансформация минералов, почвообразование, и что вообще роль грибов в геологических процессах была сильно недооценена (Gadd, 2017a).

Значимость грибов в выветривании горных пород была впервые обозначена лишь в 1966 году W.E. Krumbein (Sterflinger, 2000). В 1982 году J.T. Staley с соавторами обнаружили, что меланизированные грибы доминировали в микробных сообществах, населяющих поверхности скал (Gorbushina, 2007). Далее, в 1998 году Gu с соавторами (Gu et al., 1998) обозначили роль грибов в процессах биоповреждения. Они экспериментально продемонстрировали, что гриб *Fusarium* sp. быстрее разлагает цемент, чем даже известный биодеструктор цемента, бактерия *Thiobacillus intermedius*. По мере накопления знаний была не только подтверждена принципиальная возможность грибов разрушать природный и искусственный камень, но более того, грибы были признаны ключевыми агентами его биоповреждения. В связи с этим изучению грибов, колонизирующих строительные материалы на минеральной основе, в настоящее время уделяется много внимания (Sterflinger, 2000; Warscheid, Braams, 2000; Gorbushina et al., 2004; Gadd, 2007, 2017, 2017a; Suihko et al., 2007; Scheerer et al., 2009).

Грибы, наряду с фототрофными организмами, способны первыми заселять каменистые субстраты (Warscheid, Braams, 2000). Это лишний раз подчеркивает их исключительно важную роль в процессах биоповреждения. Еще одной особенностью грибов является их чрезвычайно высокая стрессоустойчивость, позволяющая им выживать в экстремальных условиях (Власов, 2008; Gadd, 2017a).

1.2. Основные механизмы повреждающего действия микромицетов на минеральные строительные материалы

Одной из важных для биоповреждения особенностей грибов является их способность образовывать **биоленки** (Morton, Surman, 1994; Gaylarde, Morton, 1999; Gadd, 2007; Suihko et al., 2007). Биоленки представляют собой сложную ассоциацию различных организмов, таких как микромицеты, бактерии, водоросли, простейшие и

другие, погруженных в единый слизистый матрикс (Morton, Surman, 1994; Harding et al., 2009). Биопленки образуются на разделе двух фаз, твердой и газообразной (например, на поверхностях архитектурных сооружений) или твердой и жидкой (Morton, Surman, 1994).

Формирование биопленки состоит из нескольких этапов. Вначале происходит адсорбция пропагул организмов и органических молекул (которые делают «доступным» субстрат для заселения) на поверхности субстрата. Для формирования биопленки необходимо выделение микроорганизмами (в частности, микромицетами) внеклеточно полимерных слизистых веществ (*extracellular polymeric substances (EPS)*). В EPS входят полисахариды, липополисахариды, протеины, гликопротеины, липиды, гликолипиды, жирные кислоты и ферменты (Warscheid, Braams, 2000; Власов, 2011). Слизь обеспечивает «сцепление» микроорганизмов с поверхностью субстрата, а также объединяет клетки между собой в единый матрикс, обеспечивающий ионный обмен между ними, другими словами, участвует во взаимодействии микроорганизмов друг с другом (Morton, Surman, 1994; Warscheid, Braams, 2000; Gorbushina, 2007; Власов, 2011). На следующем этапе развития биопленки происходит формирование репродуктивных структур у составляющих ее организмов и последующее расселение организмов (Harding et al., 2009).

Вообще, существование в форме биопленки характерно для микроорганизмов, заселяющих каменистые субстраты (Gorbushina, 2007). Интересно отметить, что в микробных сообществах, развивающихся в биопленках на камне, экспонированном на открытом воздухе, редко встречается антагонизм между членами сообщества (Gorbushina, 2007; Власов, 2008). Видимо, синтез вторичных метаболитов в таких местообитаниях в основном направлен на защиту от стрессовых условий, и антибиоз является непозволительной роскошью (Gorbushina, 2007). Стоит подчеркнуть, что, находясь в виде биопленки, микроорганизмы, и грибы в частности, повышают устойчивость к факторам стресса, в том числе к фунгицидным препаратам (Morton, Surman, 1994; Harding et al., 2009).

Негативное влияние биопленок на минеральные строительные материалы состоит в следующих аспектах. Биопленки, образуя налеты разнообразных цветов на поверхностях, например, за счет грибных пигментов, портят внешний вид и культурную ценность памятников. Далее, циклы набухания и усыхания слизистых веществ ведут к механическому повреждению материалов путем расшатывания их матрикса (Gadd, 2007). К тому же эти вещества способны аккумулировать пылевые частицы из воздуха, что способствует обогащению субстрата органическими веществами, которые могут провоцировать дальнейшее развитие организмов (Morton, Surman, 1994; Gaylarde, Morton,

1999). Таким образом, можно сказать, что, обогащая субстрат питательными веществами, образуя новые пропагулы для расселения, увеличивая неровность и шероховатость поверхности субстрата, биопленка поддерживает свое собственное развитие (Gorbushina, 2007).

Еще одной особенностью микромицетов является наличие *мицелия*. Грибные гифы обладают тигмотропизмом, то есть способны образовывать ростовые изгибы в ответ на раздражение прикосновением или трением (Биология..., 2001), благодаря чему растут в направлении пор и трещин, то есть грибы могут быть хазмоэндолитами (Hoppert et al., 2004; Gadd, 2007; Gadd, 2017). Хазмоэндолиты имеют тенденцию осваивать пористые породы (например, некоторые силикатные минералы) (Hoppert et al., 2004). Более того, грибные гифы обладают высоким тургорным давлением, которое становится тем выше, чем тверже субстрат, достигая очень высоких значений. Благодаря этому свойству грибные гифы способны «бурить» материал, особенно в ослабленных участках, проникая глубоко в его толщу, то есть грибы могут быть частью эуэндолитного сообщества (Gadd, 2007, 2017; Hoppert et al., 2004). Эуэндолиты относятся к группе *криптоэндолитных* организмов, которые обитают в глубине каменистых субстратов и не заметны с поверхности (Gadd, 2007). Микромицеты способны обитать и в пространствах, образованных и покинутых эуэндолитами. При этом микромицеты расширяют уже существующие в материале трещины путем механического (давление на субстрат) или химического (продукция кислот, разрушающих минеральную матрицу) механизмов (Hoppert et al., 2004; Gadd, 2017).

Механическое воздействие грибов на каменистые субстраты было проиллюстрировано на примере развития микроколониальных грибов, разрушающих мрамор (Sterflinger, Krumbein, 1997). Было показано, что на первой стадии, проникновения, грибы плотно прикрепляются к субстрату посредством аппрессорий, и гифы проникают внутрь материала через ослабленные участки (рис. 1а). Со временем в более глубоких участках материала образуются новые грибные колонии (рис. 1б). Механическое давление мицелия ослабляет структуру материала, что в итоге приводит к дезинтеграции и осыпанию его слоев (рис. 1с). Грибы постепенно все глубже проникают в материал, образуя в нем углубления, и процесс разрушения прогрессирует. Стоит добавить, что отслаивание материала ведет к обнажению его новых участков, которые могут подвергаться последующей колонизации, что, таким образом, ускоряет процесс разрушения материала (Sterflinger, 2000). Стоит отметить, что циклы намочения и

высушивания мицелия, и, как следствие, периодическое его расширение и сжатие, также механически расшатывают структуру материала (Gadd, 2007).

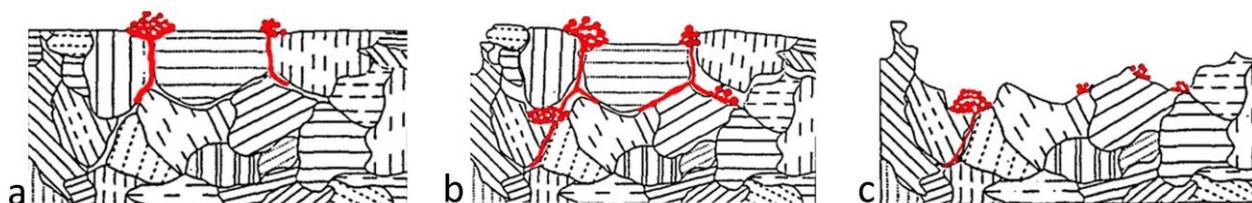


Рисунок 1. Схема развития микромицетов на каменных субстратах (по Sterflinger, Krumbein, 1997). **a** – проникновение гиф в субстрат; **b** – развитие новых колоний внутри субстрата; **c** – дезинтеграция и осыпание верхнего слоя.

Помимо механического воздействия на субстраты, грибы могут повреждать материалы химически. Безусловно, самым значимым фактором разрушения строительных материалов на минеральной основе, благодаря которому роль грибов в качестве агентов биоповреждения выходит на первый план, является продукция грибами **карбоновых кислот** (органических соединений, содержащих карбоксильную группу COOH) (Warscheid, Braams, 2000; Gadd, 2007, 2017, 2017a; Власов, 2008, 2011; Ерофеев, 2008). Карбоновые кислоты приводят к эрозии материала и образованию «биопиттингов» (*biopitting*, от англ. *pit* – покрывать(ся) ямками), то есть язв, полостей, и, в конечном счете, даже к полному растворению минерального матрикса (Warscheid, Braams, 2000; Gadd, 2007, 2017, 2017a; Власов, 2011; Sterflinger, Piñar, 2013). Воздействие карбоновых кислот на минеральные субстраты осуществляется сразу в нескольких направлениях и связано с изменением растворимости химических элементов (de la Torre et al., 1993; Warscheid, Braams, 2000; Gadd, 2007, 2017, 2017a; Sterflinger, Piñar, 2013; Сазанова, 2014).

В первую очередь, карбоновые кислоты переводят ионы металлов, находящихся в виде слаборастворимых соединений в материале, в мобильную, растворимую в воде форму, что приводит к вымыванию этих катионов из материала и его разрушению. Это осуществляется за счет образования координационных (синоним – комплексных) соединений кислот с катионами металлов (de la Torre et al., 1993; Warscheid, Braams, 2000; Gadd, 2007, 2017, 2017a; Ерофеев, 2008). Координационная связь – химическая связь в комплексных соединениях, в которых один или несколько атомов образуют большее число связей, чем допускает высшая формальная валентность этих атомов. В случае координационной связи электронная пара связи поставляется одним из взаимодействующих центров (лигандом). Координационные соединения, в которых атом (или ион) связаны одновременно с двумя или более донорными центрами лигандов, в результате чего замыкается один или несколько гетероциклов, называются хелатами (от

лат. *chela* – клешня) (Химическая..., 1998). Лиганды, образующие хелатные циклы, называются хелатообразующими реагентами (хелатирующими), а замыкание хелатного цикла – хелатированием или хелатообразованием. Наиболее обширный и важный класс хелатов – хелатные комплексы металлов (металлохелаты) (Химическая..., 1998). Как раз эти соединения и образуются при взаимодействии карбоновых кислот, которые выступают в качестве лигандов (хелатообразующих реагентов), с ионами металлов, содержащихся в материалах. Хелатированные ионы становятся мобильными и способны поступать в клетки грибов (Sterflinger, 2000; Gadd, 2017a). Хелатирование катионов является одним из механизмов извлечения из минеральных субстратов необходимых для роста грибов элементов (железа, калия, марганца, магния и других), поскольку в минеральных субстратах эти элементы часто находятся в нерастворимой, и поэтому недоступной для клеток форме (Sand, Bock, 1991). Таким образом, одна из ролей грибов в литобионтном сообществе состоит в том, что они переводят ионы металлов, содержащихся в минералах, в доступную для представителей сообщества форму (Gadd, 2007). Однако карбоновые кислоты, выделяемые грибами, не имеют специфики к определенным катионам и могут также хелатировать катионы, в которых грибные клетки не нуждаются.

Известно, что грибы способны продуцировать разные карбоновые кислоты: щавелевую, лимонную, глюконовую, глиоксальную, фумаровую, янтарную, муравьиную, яблочную, уксусную, винную, треоновую и проч. (Sterflinger, 2000; Warscheid, Braams, 2000; Fomina et al., 2010; Sazanova et al., 2016). Среди карбоновых кислот, выделяемых микромицетами, щавелевая кислота ($C_2H_2O_4$) является широко распространенной (Gadd, 2007; Scheerer et al., 2009; Сазанова, 2014; Sazanova et al., 2016). Она обладает сильными хелатирующими свойствами (Власов, 2011; Gadd, 2017, 2017a; Sazanova et al., 2016). Например, показано, что она может образовывать устойчивые комплексы с необходимыми для жизнедеятельности грибов $Al(III)$, $Fe(III)$, которые вне этих комплексов обладают слабой растворимостью (Gadd, 2007; Ghorbani et al., 2007). Также показаны хелатирующие свойства лимонной ($C_6H_8O_7$) и глюконовой кислот ($C_6H_{12}O_7$) (de la Torre et al., 1993; Ghorbani et al., 2007).

Противоположный механизм воздействия органических кислот на минеральные субстраты состоит в формировании нерастворимых соединений, которые обнаруживаются на самом материале в виде налетов, корок, солей, а также в виде кристаллов на гифах грибов (Gadd, 2007, 2017, 2017a; Fomina et al., 2010). При этом соли органических кислот наносят значительный вред каменистым субстратам, поскольку, откладываясь в порах и

трещинах материала, и расширяясь в них, могут оказывать на материал механическое давление (Gadd, 2007a). Нерастворимые соединения образуются в результате химической реакции органических кислот с ионами металлов, высвобождающихся из минералов (de la Torre et al., 1993). Так, щавелевая кислота, вступая в реакцию с ионами кальция, образует оксалат кальция, который откладывается в виде кристаллов (вторичных минералов), уеввелита ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) и уедделлита ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Sterflinger, 2000; Scheerer et al., 2009; Власов, 2011; Сазанова, 2014; Gadd, 2017, 2017a). Уеввелит и уедделлит широко распространены на поверхностях архитектурных сооружений из известняка и некоторых других строительных материалов на минеральной основе (Gadd, 2017). Карбоновые кислоты, по-видимому, являются для грибов одним из защитных механизмов от воздействия тяжелых металлов, поскольку способны образовывать с ними стабильные соединения (комплексы и соли) (Sazanova et al., 2015, 2016).

Помимо органических кислот, некоторые грибы способны образовывать *неорганические кислоты*, оказывающие негативное воздействие на минеральные субстраты, в частности, серную, сернистую, азотную и азотистую, о чем уже говорилось выше. Однако это явление, по-видимому, является редким, и ключевая роль в образовании серной и азотной кислот отводится хемолитотрофным бактериям (Scheerer et al., 2009).

Некоторые *ферменты*, выделяемые грибами, также могут оказывать воздействие на минеральные субстраты (Gadd, 2017a). Так, ферменты могут участвовать в восстановлении катионов некоторых металлов (например, Fe^{3+} до Fe^{2+} , а Mn^{4+} до Mn^{2+}), переводя их таким образом в растворимую форму, способную транспортироваться в цитоплазму клеток (Sterflinger, 2000; Gadd, 2007, 2017a). Между тем наблюдается и обратная ситуация, при которой грибы с помощью экстрацеллюлярных водорастворимых ферментов окисляют Mn^{2+} до Mn^{4+} , а Fe^{2+} до Fe^{3+} , при этом могут образовываться нерастворимые в воде MnO_2 и Fe_2O_3 (de la Torre, Gomez-Alarcon, 1994). Известно, что MnO_2 часто обнаруживается в виде черных корок на поверхностях памятников архитектуры из камня (Gadd, 2017). Стоит отметить, что железо и марганец являются важными компонентами большинства горных пород. Процессы окисления и восстановления грибами этих элементов играют важную роль в круговороте этих элементов в природе (de la Torre, Gomez-Alarcon, 1994).

Очень распространенным способом транспортировки ионов железа в клетки грибов является выделение грибами небольших низкомолекулярных железосвязывающих соединений, *сидерофоров* (Gadd, 2007). Сидерофоры – это лиганды, которые эффективно хелатируют Fe(III) и в таком виде транспортируют его к клеткам микроорганизмов, где

оно связывается с клеточными рецепторами и попадает внутрь клеток. Здесь железо высвобождается и может использоваться микроорганизмами (Глик, Пастернак, 2002; Gadd, 2007). Несмотря на то, что сидерофоры обладают высокой специфичностью к Fe(III), они могут связываться с более низкой аффинностью и с ионами других металлов (Gadd, 2017a). Таким образом, экстрацеллюлярно выделяемые грибами сидерофоры «извлекают» из минеральных субстратов катионы, что нарушает структуру материалов и приводит к их разрушению. Примером сидерофоров служит феррихром (циклический гексапептид) (Sterflinger, 2000). Однако обычно сидерофоры у грибов являются гидроксоматами, то есть лигандами, образованными гидроксамовыми кислотами (N-гидроксиамидами карбоновых кислот, общая формула RCONHOH) (Gadd 2007).

Крайне интересным является вывод, сделанный М. Нопперт с соавторами (Noppert et al., 2004) о существовании некоторого баланса между разрушением каменных субстратов и их восстановлением. Авторы статьи подчеркивают важность такого равновесия для обитателей каменных субстратов, особенно эндолитов. Так, биопленка, помимо разрушительного, оказывает также защитное действие на субстрат, скрепляя его и экранируя, например, от ветра; гифы также скрепляют между собой гранулы материала. Наконец, наряду с очевидным участием в разрушении каменных субстратов, карбоновые кислоты замедляют процесс разрушения благодаря вторичному минералообразованию, «цементированию» и укреплению за счет вторичных минералов пор и трещин (Fomina et al., 2010). Разрушительное и восстановительное влияние организмов на каменные субстраты отражено в работе М. Fomina с соавторами (Fomina et al., 2010) на примере грибов в виде гипотез “*rock-eating fungi*” (грибов, «поедающих» камень) и “*rock-building fungi*” (грибов, «строящих» камень). В соответствии с этими гипотезами, образование тоннелей в материале происходит не только благодаря тому, что гифы бурят в нем отверстия и выделяемые грибами кислоты растворяют минералы, но и благодаря тому, что вокруг гиф откладываются вторичные минералы. В итоге, когда гифы отмирают, остаются пустоты (тоннели), окруженные отложениями вторичных минералов (например, оксалатов) (Fomina et al., 2010). Стоит также отметить, что, благодаря деятельности грибов, может откладываться и вторичный карбонат кальция на Са-содержащих породах (Fomina et al., 2010).

1.3. Микромицеты, колонизирующие минеральные строительные материалы памятников культуры на открытом воздухе

Микромицеты, колонизирующие поверхности каменных субстратов на открытом воздухе, подвергаются воздействию множества стрессовых факторов. Это могут быть

экстремальные значения или резкие колебания температуры, влажности, осмотический стресс, интенсивное ультрафиолетовое излучение и проч. (Gorbushina, 2007; Власов, 2011; Gadd, 2017). Например, в условиях средиземноморского климата грибы в литобионтных сообществах подвергаются интенсивному солнечному излучению, периодической засухе, недостатку органических веществ из-за сильных ветров, выдувающих частицы почвы с поверхности камней. В таких условиях на памятниках архитектуры из камня отмечено доминирование *меристематических грибов* (они же «черные дрожжи, микроколониальные грибы») (Dornieden et al., 2000; Власов, 2008; Sterflinger, 2010). Это несистематическая группа, которая объединяет грибы из отдела Ascomycota, обладающие рядом специфических свойств. Так, эти грибы характеризуются (Gadd, 2007; Gorbushina, 2007; Sterflinger, Piñar, 2013; Isola et al., 2015; Gadd, 2017):

- 1) сильно меланизированными клеточными стенками;
- 2) способностью к меристематическому росту, при котором изодиаметрические клетки почкуются сразу в нескольких направлениях, а также дрожжеподобному росту;
- 3) способностью переключаться от мицелиального роста к меристематическому, дрожжеподобному и наоборот;
- 4) отсутствием в жизненном цикле специализированных структур для размножения.

В основном такие грибы приурочены к каменистым субстратам (меристематические грибы, обитающие на камне, сокращенно обозначают «RIF» – “*rock inhabiting fungi*”). Однако черные дрожжи могут выделяться и из других местообитаний, например, солончаков (Plemenitaš, Gunde- Cimerman, 2005). RIF прекрасно приспособлены к жизни на камнях и являются наиболее стойкими обитателями обнаженных скальных поверхностей (Gorbushina, 2007).

Представителей меристематических грибов относят к экстремофилам и экстремотолерантам (Gorbushina, 2007; Ranalli et al., 2009; Isola et al., 2015; Gadd, 2017), они хорошо переносят резкие изменения параметров окружающей среды, быстро приспособившая свою метаболическую активность к новым условиям (Gorbushina, 2007). Они считаются наиболее устойчивыми к стрессу из всех организмов, развивающихся на каменистых субстратах (Gadd, 2017a). Они выдерживают температуры даже до 100° С, длительные периоды облучения УФ и осмотический стресс (Ranalli et al., 2009). Меланин защищает клетки грибов от ультрафиолетового излучения, перегрева, а также делает их более прочными и устойчивыми к химическим воздействиям, в частности, защищает от

токсичных металлов и снижает чувствительность к фунгицидам (Gadd, 2007; Gorbushina, 2007; Sterflinger, 2010). Помимо меланина, меристематические грибы синтезируют другие соединения, обеспечивающие защиту от ультрафиолета, например, каротиноиды и микоспорины (Gorbushina, 2007). Более того, компактная, микроколониальная форма более эффективна для защиты грибов от высыхания и высоких температур (Gorbushina, 2007). Показано, что микроколониальные грибы быстро реагируют на изменения окружающей среды и в меристематической форме могут находиться длительное время (порядка нескольких десятков лет!) в состоянии замедленного метаболизма, переживая неблагоприятные условия. Кроме того, способность грибов переходить к микроколониальному, дрожжеподобному росту является адаптацией к низкой доступности органических питательных веществ, которая может наблюдаться на голых скалах. При наступлении более благоприятных условий развивается мицелий, который способен проникать в трещины и поры, а также непосредственно «бурить» материал и поселяться внутри него. Это обеспечивает надежную защиту от стрессовых факторов, например, солнечного излучения, высыхания, чрезмерно высоких температур (Gorbushina, 2007). Дополнительный способ защиты заключается в пропитке слоев меланина и экзополисахаридного матрикса, которые уже сами по себе защищают грибы от стресса, вторичными минералами. Также важно отметить, что микроколониальные грибы входят в состав эпилитных биопленок, что также сильно повышает их устойчивость. Поскольку образование специализированных репродуктивных структур энергетически затратный процесс, микроколониальные грибы обходятся без них и распространяются ветром в виде участков таллома. Эта стратегия в принципе характерна для микроорганизмов, входящих в состав биопленок на голых скалах (Gorbushina, 2007). Наконец, еще одна особенность меристематических грибов, которая дает им преимущество при осваивании каменистых субстратов в урбанизированных местообитаниях, – это способность усваивать некоторые токсичные поллютанты, в частности, соединения углеводорода (Gorbushina, 2007).

Меристематические грибы признаны одной из самых разрушительных групп микроорганизмов для камня на открытом воздухе (Gadd, 2017a). Вследствие выработки меланина они нарушают эстетическую ценность памятников культуры, окрашивая поверхность, на которой развиваются, в черный или темно-коричневый цвет. Кроме того, они образуют покрытия, корки на материалах благодаря в основном вторичному минералообразованию. Также они разрушают материалы, формируя на них углубления, биопиттинги, в которых лежат колонии этих грибов (Gadd, 2017a).

Биоразнообразие обитающих на камнях меристематических грибов удивительно велико, хотя при этом они все еще остаются слабо изученными (Isola et al., 2015; Gadd, 2017a). Примеры родов, в которых встречаются меристематические грибы – *Hortaea*, *Sarcinomyces*, *Coniosporium*, *Capnobotryella*, *Exophiala*, *Knufia* и *Trimmatostroma* (Sterflinger, Piñar, 2013). Интересно, что не все представители одного и того же рода приурочены к жизни на каменистых субстратах. Так, например, представители рода *Knufia* осваивают разнообразные экологические ниши: *K. peltigerae* входит в состав лишайников, *K. epidermidis* является оппортунистом человека, *K. aspidioti* ассоциирована с насекомыми, *K. cryptophialidica* и *K. endospora* являются патогенами растений, а вид *K. petricola* – известный представитель меристематических грибов, являющийся частым обитателем памятников архитектуры из камня (Isola et al., 2015). В то же время, все представители рода *Vermiconia* приурочены к каменистым субстратам. Примеры представителей этого рода – *V. calcicola*, *V. flagrans* (Isola et al., 2015).

В условиях умеренного климата, обладающего более высокой влажностью и менее интенсивным солнечным излучением, чем средиземноморский климат, на архитектурных сооружениях из камня преобладают **мицелиальные** микроскопические **грибы** (Dornieden et al., 2000; Sterflinger, 2010). Споры мицелиальных грибов могут прорасти на каменистых субстратах, образуя быстро распространяющийся по субстрату мицелий, а затем и спороношение (Dornieden et al., 2000). Многие виды способны продуцировать карбоновые кислоты, участвовать во вторичном минералообразовании (Сазанова, 2014; Boniek et al., 2019).

На архитектурных памятниках на открытом воздухе наблюдается достаточно высокое видовое разнообразие мицелиальных грибов (Gorbushina et al., 2002; Власов, 2008; Boniek et al., 2019). Среди мицелиальных грибов, являющимися типичными для каменистых субстратов на открытом воздухе, преобладают темноокрашенные (Gorbushina et al., 2002; Suihko et al., 2007; Власов, 2008). Входящие в эти сообщества грибы представлены в основном эпифитными и почвенными видами, споры которых в больших количествах содержатся в окружающем воздухе (Ребрикова, 1999; Dornieden et al., 2000; Sterflinger, 2001, 2010; Sterflinger, Prillinger, 2001; Gorbushina et al., 2002; Власов, 2008; Власов, Зеленская, 2016). Так, среди микромицетов, доминирующих в условиях умеренного климата на памятниках архитектуры из камня, упоминаются представители родов *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aureobasidium*, *Phoma*, *Penicillium*, *Trichoderma* (Ребрикова, 1999; Gorbushina et al., 2002; Sterflinger, 2010). Однако есть сведения о том, что на поздних стадиях разрушения, в глубоких слоях материала, а не на его поверхности,

обнаруживают светлоокрашенные виды родов *Acremonium*, *Verticillium*, *Sporotrichum*, *Scopulariopsis* (Ребрикова, 1999).

Есть сообщения о том, что и в условиях жаркого климата мицелиальные грибы также могут преобладать на архитектурных сооружениях из камня (Gómez-Cornelio et al., 2012; Boniek et al., 2019). Так, в тропиках (Бразилия) на образцах строительного мыльного камня (талькохлорита) были отмечены *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Phoma* (Boniek et al., 2019). В субтропиках (Мексика) на образцах известняка наиболее обильными были *Alternaria*, *Cladosporium* и *Taeniolella*, причем меристематические грибы на этих образцах также присутствовали, хотя и в небольших количествах (Gómez-Cornelio et al., 2012).

1.4. Микробиоты, колонизирующие минеральные строительные материалы в интерьерах памятников культуры

В интерьерах памятников культуры условия окружающей среды принципиально отличаются от таковых на открытом воздухе. Так, в помещениях поддерживаются более постоянные значения температуры (которые, как правило, являются оптимальными для роста грибов при функционировании отопительной системы), влажности, отсутствует воздействие сильного ультрафиолетового излучения, потоки воздуха значительно слабее. Все эти факторы отражаются на особенностях микробиоты минеральных строительных материалов в интерьерах памятников культуры. Например, отмечено преобладание светлоокрашенных видов микробиоты на каменных стенах внутри замков и церквей, в отличие от наружных поверхностей стен этих объектов, на которых преобладали темноокрашенные виды микробиоты (Suihko et al., 2007). Так же, как и на открытом воздухе, на каменистых субстратах в интерьерах памятников архитектуры преобладают представители отдела Ascomycota (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Berner et al., 1997; Gorbushina, Petersen, 2000), (рис. 2).

На основании данных исследований 21 памятника архитектуры, а именно 9 церквей (в Австрии, Германии, Португалии, России, Словакии, Шотландии), крипты (в Италии), часовни (в Австрии), 3 гробницы (в Словакии, Китае и Японии), 2 замков (в Шотландии), трехэтажного здания (в Бразилии), 2 древнеримских сооружений (в Италии) и 2 музеев (в Египте и Португалии), можно заключить, что чаще всего на минеральных строительных материалах в интерьерах памятников архитектуры встречаются представители родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* и *Acremonium*, которые были выявлены более чем в половине обследованных архитектурных сооружений. Встречаемость представителей этих родов в исследованных объектах составляет 67%, 67%, 62% и 57% соответственно (рис.

2). При этом представители родов *Aspergillus* и *Penicillium* обладают значительным видовым разнообразием на исследованных субстратах. Интересно отметить, что представители родов *Aspergillus*, *Penicillium* и *Cladosporium* доминируют по частоте встречаемости и в жилых помещениях на строительном растворе, исходя из анализа 41 жилого строения в Бразилии (Shirakawa et al., 2013).

В исследованных объектах из представителей рода *Aspergillus* наиболее часто встречаются *A. sydowii* и *A. versicolor* (табл. 1). В литературе отмечается, например, что из красочного слоя и штукатурки под ним, входящим в настенную живопись внутри церкви, выделялось достаточно много спор *A. sydowii* и *A. versicolor* (Berner et al., 1997).

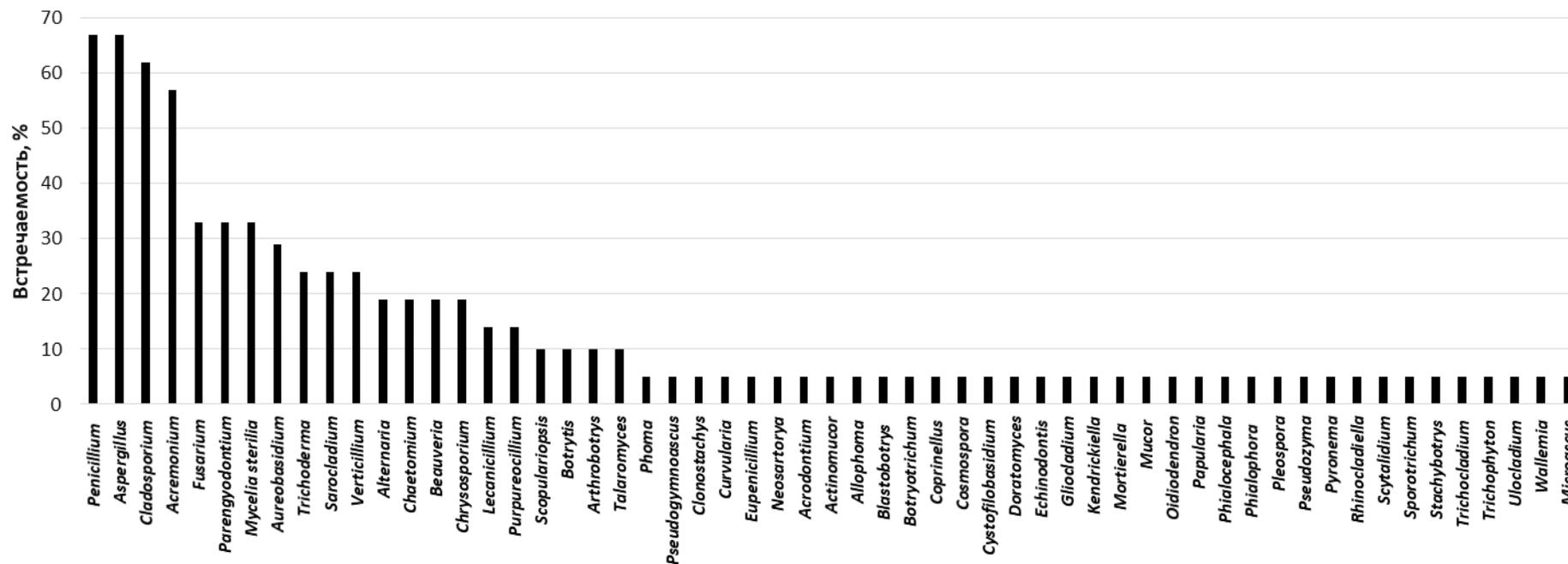


Рисунок 2. Встречаемость (%) родов, выделенных из минеральных строительных материалов, в 21 памятнике архитектуры*.

Таблица 1. Виды микробиоты, которые наиболее часто встречались в интерьерах 21 памятника архитектуры на минеральных строительных материалах.

Вид (количество памятников, в которых обнаружен)	Субстрат	Места выделения	Ссылки
<i>Cladosporium sphaerospermum</i> (9)	настенная живопись (штукатурка с красочным слоем)	стены в церквях и часовне (Германия, Россия, Португалия, Австрия); стены в гробнице (Китай)	Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Berner et al., 1997; Gorbushina, Petersen, 2000; Gorbushina et al., 2004; Trovão et al., 2020; Ma et al., 2020

	строительный раствор	стены в трехэтажном здании (Бразилия)	Guerra et al., 2019
	известняк	саркофаг в музее (Португалия)	Trovão et al., 2020
<i>Acremonium charticola</i> (6)	известняк	саркофаг в музее (Португалия)	Trovão et al., 2020
	настенная живопись (штукатурка с красочным слоем)	стены в церквях и часовне (Австрия, Германия)	Berner et al., 1997; Gorbushina, Petersen, 2000
	штукатурка без красочного слоя	стены в церкви (Австрия)	Berner et al., 1997
<i>Aspergillus sydowii</i> (6)	настенная живопись	стены в церквях и часовне (Австрия, Германия); стены в гробнице (Китай)	Berner et al., 1997; Gorbushina, Petersen, 2000; Ma et al., 2020
<i>Parengyodontium album</i> (6)	известняк	стены в церкви (Россия); саркофаг в музее (Португалия)	Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Trovão et al., 2020
	настенная живопись (штукатурка с красочным слоем)	стены в церкви и часовне (Австрия, Германия)	Berner et al., 1997; Gorbushina, Petersen, 2000
	штукатурка без красочного слоя	стены в церкви и часовне (Россия, Германия, Австрия)	Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Berner et al., 1997
<i>Aspergillus versicolor</i> (5)	известняк	надгробные плиты в подземном кладбище (Словакия); саркофаг в музее (Португалия)	Šimonovičová et al., 2004; Trovão et al., 2020
	настенная живопись (штукатурка с красочным слоем)	стены в церкви (Словакия); стены в часовне (Австрия); стены в гробнице (Китай)	Berner et al., 1997; Pangallo et al., 2012; Ma et al., 2020
	штукатурка без красочного слоя	стены в часовне (Австрия)	Berner et al., 1997
<i>Cladosporium</i>	известняк	надгробные плиты в подземном кладбище	Šimonovičová et al., 2004; Trovão et al., 2020

<i>cladosporioides</i> (5)		(Словакия); саркофаг в музее (Португалия)	
	настенная живопись (штукатурка с красочным слоем)	стены в гробнице (Китай)	Ma et al., 2020
	штукатурка без красочного слоя с высолами	стены в часовне (Австрия)	Piñar et al., 2009
	штукатурка без красочного слоя	стены в церкви (Шотландия)	Suihko et al., 2007
<i>Sarocladium strictum</i> (5)	известняк	надгробные плиты в подземном кладбище (Словакия)	Šimonovičová et al., 2004
	настенная живопись (штукатурка с красочным слоем)	стены в церквях (Германия)	Gorbushina, Petersen, 2000
	брекчия	стены в крипте (Италия)	Cataldo et al., 2005
	мрамор	стены в крипте (Италия)	Cataldo et al., 2005

*(Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Berner et al., 1997; Gorbushina, Petersen, 2000; Gorbushina et al., 2004; Šimonovičová et al., 2004; Cataldo et al., 2005; Suihko et al., 2007; Piñar et al., 2009; Pangallo et al., 2012; Rosado et al., 2014; Sugiyama et al., 2017; Veneranda et al., 2017; Ghany et al., 2019; Guerra et al., 2019; De Natale et al., 2020; Dias et al. 2020; Ma et al., 2020; Trovão et al., 2020).

Из представителей рода *Penicillium* чаще всего упоминается *P. brevicompactum*, хотя он обнаруживался сравнительно нечасто (в 4 архитектурных сооружениях). Вид был выделен как из искусственных материалов (штукатурки, в том числе из участков, покрытых налетом солей), так и природных (известняка) (Bernier et al., 1997; Šimonovičová et al., 2004; Piñar et al., 2009; Trovão et al., 2020). Отмечено, например, достаточно большое количество пропагул этого гриба в штукатурке стены внутри церкви (Bernier et al., 1997). Этот вид способен растворять карбонат кальция, продуцировать ряд карбоновых кислот (лимонную, фумаровую, глюконовую и щавелевую), а также окислять Fe(II) и Mn (II) (Trovão et al., 2020). Многие представители рода *Penicillium*, выделенные из исследованных материалов, не были идентифицированы до вида (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Bernier et al., 1997; Gorbushina et al., 2004; Šimonovičová et al., 2004; Suihko et al., 2007; Pangallo et al., 2012; Rosado et al., 2014; Sugiyama et al., 2017; De Natale et al., 2020).

Из представителей рода *Cladosporium* наиболее часто встречался *C. sphaerospermum* (табл. 1). Гриб известен в качестве контаминанта искусственных минеральных строительных материалов, таких как строительные растворы и бетон (Guerra et al., 2019). В частности, он был отмечен на настенной живописи, причем из участка с рыхлыми черными хлопьями на поверхности стены, где этот гриб был обилен (Bernier et al., 1997). Вид способен окислять Fe(II) и восстанавливать Fe(III) и Mn(IV) (Trovão et al., 2020), а также продуцировать карбоновые кислоты (Guerra et al., 2019). Другой представитель этого рода, который нередко обнаруживается на минеральных субстратах в помещениях, – это *C. cladosporioides* (табл. 1). Также, как и *C. sphaerospermum*, этот вид меланизированный, вследствие чего может участвовать в образовании темных налетов на памятниках культуры. Так, было показано, что совместное развитие *C. cladosporioides*, *C. sphaerospermum* и *Aureobasidium pullulans* вызвало образование темного, похожего на копоть налета на обширных участках настенной живописи (Ребрикова, 1999). *Cladosporium cladosporioides* способен окислять Fe(II) (Trovão et al., 2020).

Из представителей рода *Acremonium* наиболее часто отмечается *A. charticola* (табл. 1). В частности, *A. charticola* активно развивался в штукатурке внутри церкви (Bernier et al., 1997). *Acremonium*-подобный гриб, также достаточно часто обнаруживаемый внутри памятников архитектуры, – *Sarocladium strictum* (*Acremonium strictum*) (табл. 1). Существенное количество *Acremonium*-подобных грибов в источниках литературы остается с не идентифицированной видовой принадлежностью (Bernier et al., 1997; Gorbushina, Petersen, 2000; Gorbushina et al., 2004; Šimonovičová et al., 2004; Suihko et al.,

2007; Sugiyama et al., 2017). Это может свидетельствовать о наличии в минеральных строительных материалах новых для науки видов, которые требуют изучения для более полного представления о микобиоте этих субстратов (Suihko et al., 2007).

Наконец, в 6 памятниках архитектуры был обнаружен *Parengyodontium album* (*Engyodontium album*, *Beauveria alba*) (табл. 1). Отмечено обильное развитие этого гриба на белом камне известняке, настенной живописи, штукатурке без красочного слоя стен внутри церквей и часовни (Jeffries, 1986; Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Berner et al., 1997). Гриб способен окислять Mn(II) (Trovão et al., 2020).

Более ограниченный объем воздуха в помещениях по сравнению с внешней средой лимитирует поступление органических частиц из воздуха, которые могут быть использованы для питания грибов (Dornieden et al., 2000). В связи с этим трофические связи между компонентами сообщества обитателей каменистых субстратов в помещениях, по-видимому, становятся очень важны (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Dornieden et al., 2000; Gorbushina, Petersen, 2000). Так, А.А. Gorbushina и К. Petersen (2000) предположили многоплановую ассоциацию микромицетов и членистоногих (таких как коллемболы, пауки, клещи, сеноеды, насекомые из отряда двукрылые), разнообразие которых на стенах помещений (например, в неотопливаемых храмах) может быть достаточно большим. В этой ассоциации, во-первых, членистоногие могут осуществлять перенос грибных спор и способствовать расселению грибов. Это происходит как за счет случайного переноса членистоногими спор грибов на своем теле, так и за счет поедания клещами, сеноедами и коллемболами мицелия, в то время как непереваренные споры с фекалиями попадают на поверхность субстрата. Фекалии при этом служат дополнительным источником органики для грибов. Во-вторых, грибы могут паразитировать на членистоногих, а также разлагать их останки и фекалии. В-третьих, членистоногие могут механически повреждать субстрат, делая его более доступным для грибов. Это отражается и на специфике сообщества микромицетов. Так, среди грибов, обычных для настенной живописи в трех храмах в Германии, отмечают представителей энтомопатогенных родов *Verticillium*, *Beauveria*, *Engyodontium* (Gorbushina, Petersen, 2000).

Помимо членистоногих, источниками органических веществ для микромицетов минеральных субстратов могут служить клетки других организмов: грибов, бактерий, компоненты растительных клеток. Так, *Beauveria bassiana* и *Simplicillium lamellicola*, выделенные из минеральных строительных материалов, в частности, штукатурки, внутри собора Рождества Богородицы в Пафнутий-Боровском монастыре, способны разлагать клетки дрожжей и бактерий (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990); *Acremonium charticola*,

Pseudogymnoascus pannorum, которые часто встречались на штукатурке настенной живописи в австрийской церкви, а также *Beauveria bassiana*, обладают целлюлолитической активностью (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Berner et al., 1997).

Также в качестве источника органических веществ грибы могут использовать и компоненты субстрата. Так, много работ посвящено изучению микромицетов настенной живописи, которая представляет собой сравнительно богатый органическими веществами субстрат, и может включать в себя казеин, животные клеи, яичный желток и проч., используемые микроорганизмами (Ребрикова, 1999; Gorbushina, Petersen, 2000). Например, *Aureobasidium pullulans* разрушает масляные краски, которые могут входить в состав настенной живописи (Ребрикова, 1999). *Penicillium brevicompactum*, *Aspergillus versicolor* и *Aspergillus sydowii*, изолированные с участков стен внутри часовни в Австрии, способны разлагать различные материалы, используемые в реставрации (Berner et al., 1997). Наконец, органические соединения могут просачиваться в стены из почвы при нарушении гидроизоляции здания (Ребрикова, 1999; Dornieden et al., 2000).

В неотапливаемых помещениях прослеживается сезонная динамика численности микромицетов в очагах биодеструкции строительных материалов: осенью их меньше, чем летом. Это можно объяснить тем, что при низкой температуре (от 0°C и ниже) развитие микромицетов тормозится, даже при достаточно высокой влажности (Ребрикова, 1999).

1.5. Ключевые параметры, определяющие развитие микромицетов на минеральных строительных материалах в интерьерах памятников культуры

Ключевые параметры, определяющие развитие микромицетов на минеральных строительных материалах в помещениях, – наличие доступной влаги и pH субстрата (Verdier et al., 2014; Li et al., 2020). При неблагоприятных значениях этих параметров, которые могут наблюдаться в помещениях (не происходит увлажнения материалов, или pH минерального субстрата сильно щелочной) даже при достаточном количестве доступной органики грибы на материалах развиваться не будут.

1.5.1. Активность воды субстрата

Одним из важнейших факторов, лимитирующих рост и развитие микромицетов, является доступность воды для их клеток. Хотя грибы приспособлены к колебаниям многих экологических факторов в широких пределах, даже незначительное снижение воды в субстрате способно не только затормозить, но и полностью остановить их рост (Marin et al., 1996; Abellana et al., 1999; Sautour et al., 2001; Plaza et al., 2003).

Метагеномный анализ полностью подтверждает, что влажность является одним из наиболее значимых факторов, влияющих на формирование грибных сообществ на стенах из камня, а также положительно коррелирует с обилием и разнообразием грибов в этих сообществах (Li et al., 2020). Условия для развития микроорганизмов в помещениях складываются при постоянном или периодическом переувлажнении ограждающих конструкций, вследствие нарушения гидроизоляции зданий, а также образовании конденсата, особенно при недостаточном воздухообмене (Ребрикова, 1999). Все это нужно учитывать при проектировке зданий, и в настоящее время есть работы, изучающие влияние архитектуры здания на микробиом помещения (Gadd, 2017).

Вода играет важнейшую роль для жизни клеток. Она образует гидратные оболочки у биополимеров и участвует в формировании их молекулярной структуры; подвергается химическим превращениям в жизненно важных процессах; обладая высокой теплоемкостью, сглаживает колебания температуры тканей; делает многие вещества доступными для клетки (обладает функцией растворителя, т.к. взаимодействие веществ в реакциях метаболизма происходит в водной среде) (Балнокин, 2005). Процентное содержание влаги в среде далеко не всегда соответствует ее доступности для организмов, так как большая часть воды в среде может находиться в связанном состоянии и быть недоступной для живых клеток. Поэтому показательной является величина, выражающая реальную доступность воды для клеток, называемая *активностью воды* – a_w и рассчитываемая по формуле (Мирчинк, 1988):

$$a_w = P/P_0,$$

где P – давление пара над раствором, P_0 – давление пара над чистой водой.

Активность свободной воды равна 1. Чем меньше a_w , тем больше водоудерживающие силы, которые нужно преодолеть организму для извлечения воды из субстрата. Диапазон для жизнеспособности микромицетов колеблется от 1,00 до 0,60 и даже ниже (Мирчинк, 1988). По отношению к активности воды грибы подразделяются на группы гигрофилов, мезофилов и ксерофилов (табл. 2).

Таблица 2. Классификация грибов по их отношению к активности воды (по Мирчинк, 1988)

Группа	Значение a_w для роста		Примеры
	минимальное	максимальное	
Гигрофилы	0,95	1,00	<i>Verticillium albo-atrum</i>
Мезофилы	0,90	0,97–0,98	<i>Fusarium</i> spp., <i>Rhizopus</i> spp.

Ксерофилы	<0,80		<i>Aspergillus</i> spp.
-----------	-------	--	-------------------------

Активность воды тесно связана с *относительной влажностью воздуха* (ОВ), которая равна $a_w \times 100\%$ и характеризует содержание влаги в воздухе, выраженное в процентах. Наряду с относительными единицами показателя a_w для характеристики водоудерживающей силы водного потенциала в субстрате используют и другие, абсолютные, которые измеряются в барах и паскалях (Мирчинк, 1988).

Скорость и характер роста микромицетов сильно зависят от a_w в субстрате. Так, при уменьшении a_w у гигрофилов и мезофилов наблюдается сильное удлинение лаг-фазы грибов вплоть до неспособности спор к прорастанию, скорость роста мицелия существенно замедляется, снижается способность к спороношению (Marin et al., 1996; Abellana et al., 1999; Sautour et al., 2001; Plaza et al., 2003). Активность воды, необходимая для прорастания спор, зачастую ниже a_w , требуемой для развития мицелия и спороношения грибов (Magan, Lacey, 1984; Marin et al., 1996; Plaza et al., 2003; Abellana et al., 1999). У ксерофильных видов, напротив, рост активней всего происходит при слегка сниженных a_w (0,90), а при более высоких значениях a_w (например, 0,995) замедлен (Lesage et al., 1993). Оптимальное и минимальное значение a_w для развития грибов зачастую зависит от других экологических параметров: температуры, pH среды, от субстрата, на котором растут микромицеты. Чем благоприятнее для роста грибов эти параметры, тем ниже активность воды, при которой способны существовать микромицеты (Magan, Lacey, 1984; Haasum, Nielsen, 1998). Так, для прорастания спор *Alternaria alternata* при неоптимальных значениях (pH = 4 и/или t = 5–20°C) требуется большее значение активности воды, равное 0,86–0,97, чем при оптимальных факторах для его роста (pH = 6,5, t = 25°C), равное 0,85 a_w (Magan, Lacey, 1984).

Th. Dornieden с соавторами (2000) отмечает, что степень увлаженности каменистого субстрата является принципиально важным фактором, оказывающим влияние на сообщество микромицетов: небольшая степень увлаженности приводит к формированию ксеротолерантного сообщества (включающего, например, ксеротолерантные виды *Aspergillus versicolor*, *A. sydowii*), в то время как при сильном увлажнении формируется сообщество, требовательное к высоким значениям a_w субстрата (например, развиваются влаголюбивые представители родов *Acremonium*, *Verticillium*).

Уровень низкой a_w в субстрате определяется различными факторами: низким содержанием влаги, повышенной концентрацией осмотически активных веществ, например, солей или сахаров, кристаллизацией воды. Микромицеты, обитающие в

условиях высокой концентрации солей, относятся к галофилам и галотолерантам, т.е. к организмам, приспособленным к жизни на субстратах, насыщенных солями (Мирчинк, 1988). Они вынуждены не только поддерживать высокое осмотическое давление внутри клеток, препятствующее обезвоживанию, но также иметь механизмы защиты от повреждающего действия солей. А.А. Gorbushina и К. Petersen (2000) отмечают, что большинство грибов, изолированных с поверхности стенописи внутри церкви, были галотолерантными. Это, например, *Acremonium* spp., *Aureobasidium pullulans*, *Akanthomyces lecanii* (*Verticillium lecanii*), *Microascus brevicaulis* (*Scopulariopsis brevicaulis*) и проч. Галотолерантные свойства этих грибов позволяют им развиваться в условиях высокого осмотического давления, создающихся в данной среде обитания за счет обилия минеральных солей (Gorbushina, Petersen, 2000).

Во время замерзания воды и образования кристаллов льда происходит вытеснение из нее ионов, поэтому концентрация ионов в оставшейся свободной воде возрастает (Gunde-Cimerman et al., 2003). Такие условия могут создаваться при промерзании стен неотапливаемых зданий. На стенах таких зданий в зонах подсоса влаги, постоянных протечек или конденсационного увлажнения в зависимости от условий окружающей среды могут развиваться психрофилы (холодолюбивые организмы) (Ребрикова, 1999). Примеры таких грибов, выделенных из стен памятников архитектуры – *Phialophora verrucosa*, *Acrodontium* spp. (Ребрикова, 1999).

Базовые механизмы устойчивости к низкой a_w сходны у разных групп организмов. Известно, что вода движется пассивно из области с более высоким водным потенциалом в область с более низким. Поэтому в ситуации, когда водный потенциал внутри клетки превосходит водный потенциал снаружи клетки, вода в клетку поступать не может. Вот почему одним из важнейших механизмов предохранения организмов от водного стресса является уменьшение водного потенциала внутри клетки по сравнению с водным потенциалом снаружи клетки. Это происходит посредством повышения внутриклеточного осмотического давления, что получило название осморегуляции. Она достигается путем накопления клеткой осмотически активных веществ. Такими веществами могут быть неорганические ионы и осмолиты (Балнокин, 2005). Однако многие неорганические ионы, например, K^+ , Na^+ и Cl^- , токсичны в больших концентрациях, и клетки должны иметь надежные механизмы защиты от их повреждающего действия (Javor, 1992; Grant, 2004). Например, Na^+ и Cl^- проникают через гидратную оболочку белковых молекул, что может повлиять на нековалентные связи в этих молекулах и привести к денатурации белка. Опасность повышенного содержания ионов Na^+ состоит, во-первых, в его способности

конкурировать с K^+ за места связывания различных ферментов, что ведет к их дезактивации. Во-вторых, Na^+ наряду с протонами играет первостепенную роль в биоэнергетике клеток, поэтому любое изменение его концентрации ведет к стрессу. Организмам необходимо поддерживать постоянный высокий внутриклеточный уровень отношения концентрации ионов K^+ к ионам Na^+ . Для этого они придерживаются трех стратегий: повышения избирательности транспорта в клетку ионов K^+ по сравнению с Na^+ ; выработки эффективного вывода токсичных катионов из клетки; пространственной разобщенности катионов в органеллах (Javor, 1992).

Осмолиты – небольшая группа химически разнообразных низкомолекулярных органических соединений, которые хорошо растворимы в воде и обладают по сравнению с неорганическими веществами рядом преимуществ. Они не токсичны для клетки и могут достигать в ней больших концентраций, не вызывая изменений в ее метаболизме. Осмолиты входят в группу совместимых веществ. Такие вещества, как правило, нейтральны при физиологических значениях pH и находятся в цитоплазме в недиссоциированной форме, либо в форме цвиттерионов (несущих пространственно разделенные отрицательный и положительный заряды), а также могут быть амфифильными (нести полярные и неполярные группы). Играя основную роль в осморегуляции клетки, совместимые вещества выполняют также протекторную функцию по отношению к цитоплазматическим биополимерам, из-за чего их также называют осмопротекторами. Осмолиты не разрушают гидратную оболочку белков, и даже могут защищать ее от неорганических ионов. Кроме того, существуют осмопротекторы, накапливающиеся в клетках в количествах, недостаточных для регуляции их водного потенциала. Роль таких веществ состоит в защите биополимеров от повреждений, вызванных водным стрессом. Эту функцию выполняют полиамины. Являясь по своей природе поликатионами, они имеют высокое сродство к молекулам, несущим отрицательные заряды, таким, как ДНК, РНК, анионные группы компонентов мембран, предотвращая их повреждение путем образования комплексов с этими соединениями. Кроме того, полиамины снижают активность РНКаз и протеаз, количество которых увеличено в стрессовых условиях, повышая точность считывания информации при синтезе белков и тормозя лизис клеточных структур (Балнокин, 2005).

Совместимые вещества принадлежат к различным классам органических соединений. В эту группу входят: полиолы (глицерол, арабитол, и др.), сахара и их производные (например, трегалоза), бетаины, аминокислоты и их производные (пролин, глутамин, глутамат, N-ацетилированные аминокислоты), полиамины, производные

глутамин амида, эктоины (Grant, 2004). У эукариот и, в частности, ксерофильных и ксеротолерантных грибов, совместимые вещества представлены полиолами, такими как глицерол и арабитол (Hocking, 1986; Grant, 2004).

Адаптация к осмотическому стрессу требует больших энергетических затрат. Использование неорганических ионов в качестве осмопротекторов энергетически намного выгоднее, чем синтез осмолитов. Синтез совместимых веществ обходится клеткам «очень дорого», при этом наименее затратным является синтез глицерина. Плазматическая мембрана проницаема для этого вещества, поэтому организмам, накапливающим глицерин, надо иметь барьеры, препятствующие его утечке из клеток. Способность удерживать глицерин, видимо, связана с особенностями структуры плазматической мембраны (Oren, 1999). Кроме того, выходу глицерина из клеток у темноокрашенных грибов может препятствовать пигмент меланин (Plemenitaš et al., 2008).

Степень устойчивости грибов к водному стрессу напрямую связана с эффективностью системы биосинтеза и накопления осмолитов. Так, ксерофильные организмы способны синтезировать осмолиты с более высокой скоростью и аккумулировать их в клетке в более высокой концентрации, чем гигрофилы. Чем сильнее происходит дегидратация, тем больше уровень накопления осмолитов в клетках, что показано на некоторых микромицетах (Hocking, 1986).

При дегидратации усиливается тенденция к повреждению и денатурации белков. Поэтому в клетках активизируется синтез шаперонов (белков, помогающих сохранить структуру протеинов клетки), ингибиторов протеаз, препятствующих протеолитическому расщеплению неповрежденных белков, а также убиквитинов, осуществляющих селективную деградацию денатурированных белков (Балнокин, 2005).

Другая широко используемая стратегия при осмотическом стрессе – поддержание определенной вязкости мембран. Это необходимо для сохранения активности многих мембранных ферментов, активность которых снижается при возрастании вязкости (снижение текучести) липидов мембраны. Так, мембраны галофильных и галотолерантных грибов в условиях повышенной солености обладают большей текучестью по сравнению с мембранами грибов, не приспособленных к высокой концентрации солей. Текучесть мембран коррелирует с их насыщенностью стеролами и ненасыщенными жирными кислотами (Vaupotič, Plemenitaš, 2007). Изменения состава мембранных липидов происходят за счет синтеза необходимых продуктов липидного обмена и селективного разрушения липидов с неподходящими свойствами (Hazel, Williams, 1990).

В настоящее время процессы адаптации грибов к осмотическому стрессу изучаются на генном уровне. Уже установлено, что дегидратация в клетках вызывает комплексные изменения в экспрессии генов, что последовательно ведет к различным изменениям в метаболизме, помогающим адаптироваться к стрессу (Балнокин 2005, Vaupotič, Plemenitaš, 2007). Гены, экспрессируемые при водном стрессе, условно можно разделить на функциональные и регуляторные. Функциональные гены непосредственно влияют на формирование механизмов устойчивости (например, синтез осмолитов, шаперонов), в то время как регуляторные участвуют в передаче сигнала при экспрессии других генов, формирующих механизмы устойчивости (гены транскрипционных факторов).

Первый этап в регуляции экспрессии генов при водном дефиците - это рецепция сигнала. Сигналом о водном дефиците является изменение осмотического давления, восприятие которого совершается с помощью сенсорной системы, состоящей из локализованного в мембране осмосенсора (сенсорной киназы) и находящегося в цитоплазме регулятора ответа. При водном дефиците эта система реагирует на изменение тургорного давления клетки. Далее происходит активирование белков, образующих цепь передачи сигнала. Результатом является внутриклеточное накопление осмотически активных веществ и изменение транспорта ионов Na^+ (Балнокин, 2005; Vaupotič, Plemenitaš, 2007).

1.5.2. Значение pH субстрата

Показано, что значение pH субстрата оказывает значительное влияние на его колонизацию микромицетами (Verdier et al., 2014). Если говорить об организмах в целом, то высокая кислотность или высокая щелочность обычно токсичны для большинства из них. Диапазон значений pH, при которых могут развиваться организмы, и в частности грибы, приблизительно составляет pH 1–11 (Георгиева, 2006). Как правило, грибы предпочитают для роста нейтральные или слабокислые значения pH (Grum-Grzhimaylo et al., 2016). Однако ряд минеральных субстратов в помещениях, в частности, свеженанесенные цементные материалы (например, кладочный раствор) имеют сильно щелочные значения pH (12–13), а с течением времени pH таких материалов может снизиться до значений близких 9 (Verdier et al., 2014).

Развиваясь в условиях повышенных значений внешнего pH, грибам необходимо поддерживать pH внутри клетки на определенном уровне, поскольку ряд внутриклеточных процессов, таких как транскрипция ДНК, синтез белка, активность ферментов чувствительны к колебанию pH (Hesse et al., 2002). Кроме того, может

встречаться сочетание стрессовых факторов, например, повышенной концентрации солей и высокого значения внешнего рН (Георгиева, 2006). Поддержание ионного гомеостаза при таких условиях хорошо изучено у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Показано, что при высокой солености у этого гриба функционирует Na^+/H^+ антипортер, который переносит избытки Na^+ из цитоплазмы в наружную среду в обмен на H^+ за счет энергии, генерируемой H^+ -АТФазой плазматической мембраны, что поддерживает концентрацию Na^+ в цитоплазме на постоянно низком уровне и регулирует рН внутри клетки (Hesse et al., 2002; Балнокин, 2005). У мицелиального гриба, *Fusarium oxysporum*, за счет энергии Na^+ -АТФазы Р-типа обеспечивается экспорт излишка Na^+ из клетки в условиях щелочной окружающей среды и повышенной концентрации в среде этого иона (Caracuel et al., 2003).

Что касается регуляции генов по внешнему (внеклеточному) рН, она была впервые изучена у *Aspergillus nidulans*. В общих чертах, продукты генов *pala*, *B*, *C*, *F*, *H* и *I* осуществляют сигнальную трансдукцию в ответ на изменения внешнего рН. При поступлении сигнала о щелочных значениях внешнего рН, происходит активация фактора транскрипции РасС, который, в свою очередь, вызывает экспрессию ряда генов, кодирующих белки, способных функционировать при щелочных значениях внешнего рН (например, щелочную фосфатазу, щелочную протеазу), а также ингибирует экспрессию генов, кодирующих белки, которые функционируют при кислом значении внешнего рН (Denison, 2000).

По характеру адаптации к внешнему рН организмы можно условно разделить на три группы. Это *ацидофилы*, развивающиеся лишь при кислых значениях рН; *нейтрофилы*, предпочитающие для роста нейтральное или близкие нейтральному значения рН; наконец, *алкалофилы*, предпочитающие расти в щелочном диапазоне значений рН (8 и более). Отдельно еще выделяют группу *алкалотолернтов*, которые способны развиваться при щелочных значениях рН, однако оптимум их роста лежит в нейтральной, или даже в кислой области (в диапазоне $\text{pH} < 8$) (Георгиева, 2006; Grum-Grzhimaylo et al., 2016). При этом нужно иметь ввиду, что иногда однозначно отнести изолят к той или иной группе бывает затруднительно, поскольку существует много промежуточных типов адаптаций (Grum-Grzhimaylo et al., 2016). А.А. Grum-Grzhimaylo с соавторами (Grum-Grzhimaylo et al., 2016) предприняли попытку внести уточнения в описанную схему, взяв за основу классификацию, используемую для бактерий. Так, они предложили в группе алкалофилов выделять облигатных и факультативных. К *облигатным алкалофилам* отнесли алкалофильные изоляты, которые не могут расти в сильно кислой среде (при $\text{pH} \leq 4-5$), в то время как *факультативные алкалофилы* могут

развиваться при $pH \leq 4-5$. Далее, алкалотолерантов они разделили на три подгруппы: сильных, умеренных и слабых. *Сильные алкалотолеранты* демонстрируют лишь слабое снижение или отсутствие снижения скорости роста на средах с щелочными значениями pH и их оптимум включает нейтральные значения. *Умеренные алкалотолеранты* значительно снижают скорость роста в щелочном диапазоне значений pH (примерно в 2 раза по сравнению с ростом при $pH \sim 7$). Наконец, рост слабых алкалотолерантов был сильно замедлен в щелочном диапазоне значений pH , его скорость была очень низкой (рис. 3).

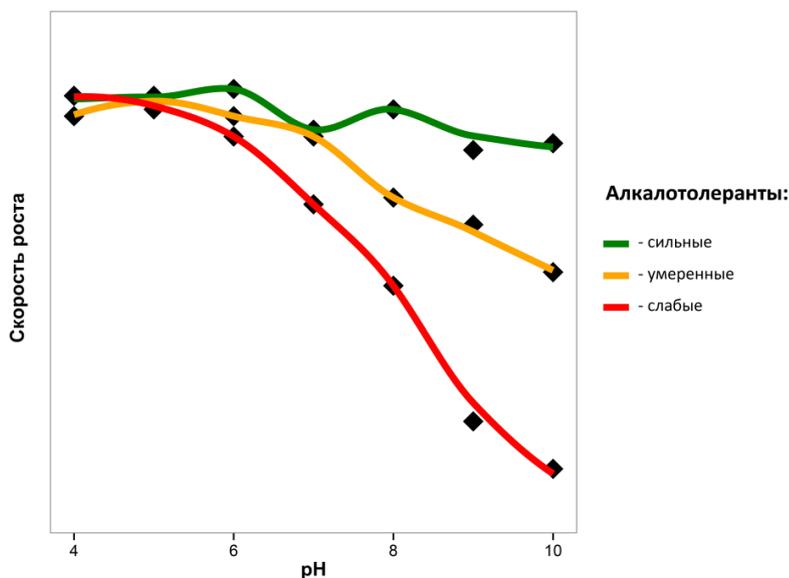
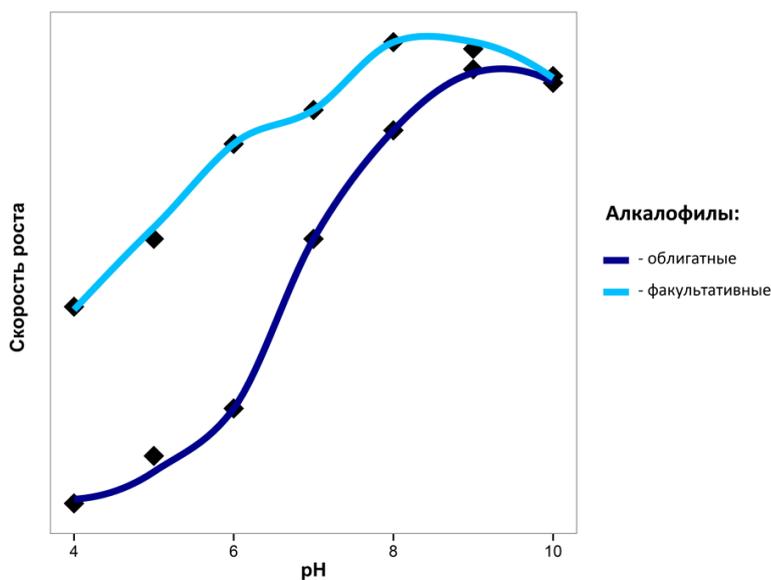


Рисунок 3. Классификация типов адаптации грибов к высоким значениям внешнего pH (по Grum-Grzhimaylo et al., 2016; Бондаренко, 2018).

1.6. Свойства известняка и штукатурки в качестве субстратов для микромицетов

Известняк – осадочная карбонатная горная порода, состоящая главным образом из кальцита, редко – из арагонита (оба минерала имеют химическую формулу CaCO_3) (Новый..., 2004). Известняк также может содержать примеси, среди которых часто встречается доломит (химическая формула – $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$), глина, песок, также может содержать кварц (Lyalikova, Petushkova, 1991; Новый..., 2004; Абакумов и др., 2016; Pinheiro et al., 2019).

Известняк, добываемый из Мячковских каменоломен под Москвой, так называемый «белый камень», начиная с XII века, являлся основным материалом, используемым для постройки древних храмов и монастырей на территории Центральной России (Lyalikova, Petushkova, 1991). Например, в 1152 году из белого камня была возведена церковь Бориса и Глеба в селе Кидекша (Владимирская область) (рис. 4 а,b), которая ознаменовала начало белокаменного зодчества Древней Руси и выделяется «четкостью архитектурного замысла, могучей в своей простоте красотой» (Любимов, 1981). Немного позже (1158–1189 гг.) был воздвигнут Кафедральный собор Успения Пресвятой Богородицы в центре г. Владимира, «на высокой береговой круче, так, чтобы видимый отовсюду, он гордо царил над городом». Собор назван одним из «величайших шедевров русского искусства» (Любимов, 1981). Примером уникальной Владимиро-Суздальской белокаменной пластики служит рельеф (рис. 4d) Георгиевского белокаменного собора (XIII в.) в г. Юрьеве-Польском (рис. 4 с–е), – «узорочье, замечательное по своей изощренности и мастерству» (Любимов, 1981). Также к белокаменным памятникам архитектуры относятся соборы Рождества Пресвятой Богородицы (XIII в., г. Суздаль) и Боголюбивой иконы Божией Матери (XIX в., Поселок Боголюбово, Владимирская область).

В целом известняк представляет собой мягкую породу, поэтому достаточно сильно подвержен биоповреждениям (Pinheiro et al., 2019). Показано, что физическое воздействие грибного мицелия на известняк оказывает на него более разрушительное действие, чем даже карбоновые кислоты (Li et al., 2009). Разные типы известняков различаются между собой пористостью, которая характеризуется как доля объема пор в общем объеме пористого тела (Новый..., 2004), твердостью и рядом других физических и химических характеристик. Чем более высокая пористость у известняка, тем более эффективно он

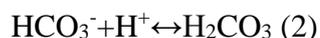
накапливает в себе влагу, то есть больше подвержен биоповреждениям. С другой стороны, известняк с очень высокой пористостью, туф, устойчив, поскольку вошедшая в него влага быстро высыхает (Ребрикова, 1999). Белый камень из Мячковских каменоломен обладает высокой твердостью и гомогенностью, средней пористостью, устойчив к замерзанию, может выдерживать от 100 до 400 циклов замерзания/таяния без потери прочности, состоит преимущественно из кальцита (CaCO_3) с примесями MgO и SO_3 (Lyalikova, Petushkova, 1991).



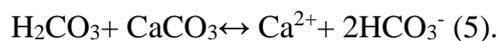
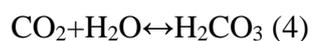
Рисунок 4. Примеры белокаменных памятников архитектуры XII–XIII вв. во Владимирской области. **a** – церковь Бориса и Глеба (село Кидекша), вид снаружи; **b** – церковь Бориса и Глеба, вид внутри; **c** – Георгиевский собор (г. Юрьев-Польский), вид снаружи; **d** – Георгиевский собор, фрагмент рельефа фасада здания; **e** – Георгиевский собор, вид внутри.

Также на устойчивость к биоповреждениям влияет степень шероховатости камня (Ребрикова, 1999; Verdier et al., 2014) и рельеф поверхности памятника, так как он может способствовать накоплению воды и грязевых частиц (Абакумов и др., 2016).

Химическая основа выветривания карбонатов (и в частности, известняка), состоит в их нестабильности в кислом растворе (Gadd, 2007):



Таким образом, в кислой среде карбонат растворяется с выделением из раствора углекислого газа. Поскольку любой организм способен продуцировать метаболиты с кислой реакцией, то заселение известняка любыми организмами приводит к его постепенному растворению. Более того, CO_2 , выделяемый организмами в процессе дыхания и содержащийся в окружающем воздухе, также способствует растворению карбонатов (Lyalikova, Petushkova, 1991; Gadd, 2007):



Далее, известняк, как и другие минеральные субстраты, подвергается эрозии из-за продукции грибами карбоновых кислот. В частности, карбоновые кислоты вступают в реакцию с CaCO_3 , в результате чего образуются вторичные минералы, например, оксалаты кальция, такие как веввелит и ведделит, а также глушинскит ($\text{MgC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) при реакции с MgCO_3 (Gadd, 2007, 2017a). Результаты эксперимента по растворению известняка низкомолекулярными органическими кислотами показали, что интенсивность растворения этого минерала убывает в следующем порядке: молочная кислота > уксусная кислота > лимонная кислота > муравьиная кислота > щавелевая кислота > пировиноградная кислота (Li et al., 2009).

Помимо действия карбоновых кислот, показано разрушительное действие на известняк фермента, продуцируемого грибами и бактериями, карбоангидразы, которая катализирует реакцию (4), сдвигая равновесие в правую сторону, что ускоряет растворение известняка. Однако влияние этого фермента на деструкцию известняка меньше, чем таковое карбоновых кислот (Li et al., 2009).

Одним из характерных для карбонатов типов деструкции является образование черной патины (Trovão et al., 2020). Часто черная патина представляет собой гипсовую корку ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Гипсовая корка может образовываться при взаимодействии CaCO_3 с серной кислотой, которая является результатом деятельности тионовых бактерий (Scheerer

et al., 2009), но обычно – с SO₂, содержащимся в атмосфере промышленных мегаполисов (Абакумов и др., 2016). Кроме того, источником сульфатов для образования гипсовых корок могут быть грунтовые воды, поступающие в стены памятника в результате капиллярного подсоса (Значко-Яворский, 1963). Из-за существенного различия коэффициентов теплового расширения кальцита и гипса, гипсовая корка растрескивается и отслаивается вместе с материнской породой (Абакумов и др., 2016). Кроме того, под отслаивающимися корками условия для микроорганизмов более благоприятные, чем на поверхности камня (Ребрикова, 1999), что способствует их развитию и, следовательно, разрушению камня.

Из других возможных причин образования черного налета на поверхности известняка можно отметить развитие на нем темноокрашенных грибов, например, *Cladosporium* spp. и *Aureobasidium pullulans* (Trovão et al., 2020) (см пункт 1.4).

Штукатурка представляет собой искусственный камень, который широко применяют для отделки стен в помещениях. В нее входит вяжущий компонент (например, известь, глина, цемент), а также заполнитель (например, песок). Существуют разные типы штукатурок: известковая, цементная, цементно-известковая, гипсовая и другие. Известковая штукатурка состоит из извести и песка, цементная – из цемента и песка, цементно-известковая – из цемента, извести и песка, гипсовая – из гипса и песка; соотношения компонентов варьируются в зависимости от марки штукатурки (Шепелев, 1983). В штукатурку также могут входить разнообразные добавки для придания определенных свойств, например, биоцидные.

Важным качеством штукатурки является ее высокая пористость. Благодаря этому свойству штукатурка обладает достаточно высокой гигроскопичностью, то есть способна впитывать большое количество влаги и удерживать ее в течение длительного времени, особенно при отсутствии вентиляции, что провоцирует активное развитие микроорганизмов (Van der Wel et al., 1999; Ерофеев, 2008; Verdier et al., 2014). Увеличивает пористость штукатурки добавление в нее извести в качестве связующего (Guerra et al., 2019). Кроме того, штукатурка имеет шероховатую поверхность, что, наряду с высокой пористостью, способствует закреплению на поверхности пыли, которая может использоваться в качестве источника органических веществ для микроорганизмов (Verdier et al., 2014).

Еще одно свойство штукатурки – это высокие значения pH, которые у свежей штукатурки могут достигать 12–13, и при которых развитие грибов, как и других микроорганизмов, как правило, невозможно. Между тем, со временем pH штукатурки

значительно снижается за счет процесса карбонизации до pH~8–9 (Shirakawa et al., 2003; Gervais et al., 2004; Verdier et al., 2014). В общих чертах, реакция карбонизации приводит к преобразованию щелочных компонентов материала в карбонаты. Так, например, в состав штукатурки часто входит гашеная известь (Ca(OH)₂), которая обеспечивает материалу сильно щелочную реакцию. Тогда при карбонизации происходит следующая реакция:



Карбонизация происходит за счет углекислого газа, содержащегося в атмосфере. Скорость этого процесса контролируется физически диффузией углекислого газа в поровое пространство и химически наличием ионов кальция и гидроксида в водном растворе, содержащимся в материале. Другими словами, естественная карбонизация материала является функцией времени воздействия атмосферного CO₂. Было отмечено, что глубина карбонизации в конструкционных бетонах достигает глубины примерно 1 см в год (Gervais et al., 2004). CaCO₃, в свою очередь, может постепенно растворяться под действием CO₂ и кислых метаболитов микроорганизмов, а ионы кальция могут откладываться в виде вторичных минералов.

1.7. Фунгицидные препараты, применяемые в реставрационной практике

Для обеспечения сохранности культурного наследия необходимо предпринимать ряд превентивных мер (Ребрикова, 1999; Gaylarde, Morton, 1999). В первую очередь, эти меры должны быть направлены на предотвращение переувлажнения материалов. Так, здания должны быть надежно защищены от атмосферной влаги и грунтовых вод. Важно поддерживать стабильный микроклимат в помещениях, избегая резких перепадов температуры и влажности воздуха, а также обеспечивать свободную циркуляцию воздуха внутри помещения (Ребрикова, 1999; Gaylarde, Morton, 1999; Warscheid, Braams, 2000). Для этого можно использовать электрические осушители воздуха, а также регулируемое проветривание (Ребрикова, 1999). Также необходима регулярная уборка помещения, обеспыливание поверхностей (Ребрикова, 1999; Gaylarde, Morton, 1999). Кроме того, важно корректно подбирать материалы, используемые в реставрационных работах (Ребрикова, 1999; Warscheid, Braams, 2000; Gadd 2017; Campana et al., 2019). Наконец, архитектурная планировка значительно влияет на микробиом помещения (Gadd 2017; Campana et al., 2019). Исходя из вышесказанного, сотрудничество архитекторов, инженеров и микробиологов имеет важное значение для обеспечения биологической безопасности зданий и строительных материалов (Gaylarde, Morton, 1999; Gadd, 2017).

Тем не менее, несмотря на комплекс превентивных мер, в реставрационной практике полностью обойтись без биоцидов невозможно. При этом использование тех или иных соединений должно проводиться с учетом их химических и физических свойств, воздействия на обрабатываемый материал, токсичности для окружающей среды и человека, видового состава грибов-биодеструкторов, и, наконец, стоимости продукта (Gaylarde, Morton, 1999; Власов и др., 2008; Власов и др., 2008а). В настоящее время на рынке представлен большой выбор современных фунгицидных препаратов. Некоторые из них являются аналогами рекомендованных к использованию ранее. Так, Капатокс и Тефлекс – аналоги давно применяемых в области консервации памятников культуры Катамина АБ и Полисепта, принадлежащих к группам четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) и полигуанидиновых соединений (ПГ) соответственно. И ЧАС, и ПГ относятся к поверхностно-активным веществам (ПАВ), то есть соединениям, способным адсорбироваться на границе раздела двух фаз, и снижать поверхностное натяжение. При этом они являются катионоактивными ПАВ (Ребрикова, 1999), которые диссоциируют в растворе на катионы и анионы, причем катионы обладают поверхностной активностью, а анионы нет (Новый..., 2004). Действие на клетки препаратов ЧАС и ПГ является сходным. Четвертичные аммониевые и полигуанидиновые соединения воздействуют на мембрану клеток, повреждая ее, и проникают внутрь клетки, где блокируют активность ферментов и в целом нарушают работу белков (Warscheid, Braams, 2000; Кузнецова, 2001). Катамин АБ представляет собой 50% водный раствор алкилдиметилбензиламмоний хлорида, Полисепт – 25% водный раствор полигексаметиленгуанидин гидрохлорида. Из этих концентрированных препаратов получают разбавленные растворы, которые применяются для различного рода антимикробных и антифунгальных обработок. Они используются во многих областях: медицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве, для санитарно-гигиенической обработки жилых помещений и т.д. и проявляют высокую бактерицидную и фунгицидную активность. Препараты обладают рядом свойств, обеспечивающих их широкое применение: они бесцветны, обладают слабым запахом, пролонгированным действием в условиях отсутствия вымывания, хорошо растворимы в воде, не летучи, мало или умеренно токсичны для человека, безопасны для материалов (Rahn, Van Eseltine, 1947; Кузнецова, 2001; Sterflinger, 2010). Однако при проведении реставрационных работ важно учитывать, что полигуанидиновые и четвертичные аммониевые соединения обладают определенными недостатками. Например, они легко вымываются водой, их активность в той или иной степени снижается в кислой среде, а также в присутствии белков (Rahn, Van Eseltine, 1947; Кузнецова, 2001; Sterflinger, 2010).

Кроме того, происходит постепенная адаптация микроорганизмов к препаратам, применяемым на протяжении долгого времени, появляются более устойчивые штаммы, в связи с чем иногда применяют смеси различных фунгицидов, чтобы избежать выработки устойчивости грибов к определенным химическим веществам (Кузнецова, 2001; Hegstad et al., 2010; Campana et al., 2019). Поэтому постоянно ведется поиск принципиально новых соединений, менее токсичных для человека и более экологически безопасных (Власов и др., 2008; Власов и др., 2008а; Ребрикова, 2012; Campana et al., 2019).

Одним из примеров таких препаратов являются биоциды на основе наночастиц серебра и других металлов. Наночастицы способны проявлять уникальные физические, химические и биологические свойства (Егорова, 2004). Показана противогрибная эффективность препаратов на основе нанокристаллических порошков оксидов титана, циркония, олова, меди (Власов и др., 2008а; Pinna et al., 2012). В настоящее время много работ посвящено получению и изучению свойств наночастиц серебра. Разработаны методы зеленого синтеза наночастиц, в том числе биологического, снижающего нагрузку на окружающую среду, например, с помощью грибов *Fusarium oxysporum*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Talaromyces diversus* (Sharma et al., 2009; Ganachari et al., 2012). Серебро само по себе обладает бактерицидным действием, которое было известно еще до н.э. и используется по настоящее время (Panáček et al., 2006; Rai et al., 2009). Тяжелые металлы, включая серебро, даже в небольших концентрациях могут вызывать структурные и функциональные изменения в клетках микроорганизмов. При относительно высоких концентрациях тяжелые металлы вызывают денатурацию белков и нуклеиновых кислот (Ogar et al., 2015). Кроме того, наночастицы способны более эффективно проникать сквозь мембраны и клеточные стенки внутрь клеток (Ogar et al., 2015). Благодаря малым размерам наночастицы обладают развитой поверхностью, что увеличивает число точек соприкосновения с микроорганизмами, в результате бактерицидные и фунгицидные свойства наночастиц резко возрастают (Егорова, 2004; Крутяков и др., 2008; Rai et al., 2009). Наноразмерное серебро эффективно не только против бактерий (Егорова, 2004; Panáček et al., 2006; Kim et al., 2007; Rai et al., 2009; Sharma et al., 2009; Campana et al., 2019) и грибов (Егорова, 2004; Kim et al., 2007; Ребрикова, 2012; Vanach et al., 2014), но даже вирусов (Егорова, 2004), и предположительно не токсично для человека (Rai et al., 2009). На основе наноразмерного серебра в настоящее время разрабатываются разнообразные промышленные товары с бактерицидными свойствами: его добавляют в краски и покрытия для стен (Егорова, 2004; Vanach et al., 2014), фильтры для очистки воды и воздуха, ткани (Егорова, 2004; Panáček et al., 2006; Rai et al., 2009; Sharma et al.,

2009), используют в медицине (Panáček et al., 2006; Sharma et al., 2009). Несмотря на то, что бактерицидные свойства наночастиц серебра изучены хорошо, их применению в качестве фунгицидов посвящено сравнительно мало работ.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объекты исследования и отбор образцов

Объектами исследования были 14 памятников культуры на территории России, включающие 5 белокаменных соборов в городах и сельских населенных пунктах Владимирской области, музеи в городах Москва, Тверь, Великий Новгород, а также здание бывшего путевого дворца в г. Москве. Внутри помещений объектов обследованы стены и несущие конструкции, в период с октября 2011 года по ноябрь 2014 года. Информация об объектах и участках отбора проб представлена в таблицах 3 и 4. Образцы отбирали с помощью стерильного скальпеля (Bernier et al., 1997) на глубине примерно 5–30 мм в зависимости от степени разрушения материала и помещали в стерильные емкости. Каждый образец представлял собой материал, отобранный из трех точек, расположенных на участке площадью приблизительно 5 см². В местах отбора проб измеряли влагосодержание (в процентах от веса сухого материала) с помощью микросенсора Testo 616 (Testo, Германия), максимальный уровень измерений прибора – 20%. Кроме того, в обследованных интерьерах измеряли относительную влажность и температуру воздуха с помощью термогигрометра ИВТМ-7К (ЗАО «Эквис», Россия). Всего проанализировано 78 образцов штукатурки и 32 образца белого камня.

2.2. Изучение образцов строительных материалов с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ)

Для микроскопии отбирали по возможности уплощенные образцы штукатурки из участков с признаками деструкции (табл. 4). Образцы высушивали на воздухе и напыляли платиной и палладием в напылителе Eiko IB-3 Ion Coater (Eiko Engineering, Япония), затем изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM-6380LA (JEOL, Япония) в Межкафедральной лаборатории электронной микроскопии МГУ. Полученные изображения обрабатывали при помощи программы Adobe Photoshop Elements.

2.3. Выделение микровицетов из образцов

Для выделения микровицетов крупные частицы материала перед посевом растирали до порошкообразного состояния в ступке с соблюдением правил асептики. Навеску (10 мг) измельченного материала помещали в каплю стерильной воды на дне чашки Петри и заливали теплой (37–45°C) питательной средой (15–20 мл среды на

чашку); частицы материала равномерно распределяли путем вращения чашки с незаствившей средой (Warcup, 1950; Никольская, 1982). Этот метод позволяет выявить большее число видов из субстрата по сравнению с традиционно используемым методом почвенных разведений, так как при приготовлении разведений есть вероятность, что не все споры попадут из образца в водную суспензию (Warcup, 1950). В результате посева, 10 мг материала оказывалось суспендировано в 15–20 мл среды. Для наших образцов такое разведение было достаточным для возможности подсчета колоний, и последующих разведений не требовалось. Рост бактерий ингибировали рифампицином (2 г/л) (Grum-Grzhimaylo et al., 2016). Каждый образец высевали в четырех повторностях (по 2 повторности на каждую питательную среду). Для выделения микромицетов использовали среды Чапека и Чапека с крахмалом (прописи сред указаны в Приложении). Среда Чапека была выбрана как стандартная для выделения грибов, в том числе из строительных материалов на минеральной основе (Ребрикова, 1999). Среда Чапека с крахмалом предпочтительна для выделения *Acremonium*-подобных и некоторых других микромицетов, развивающихся в каменистых субстратах, так как рост этих грибов на среде, содержащей сахарозу, может быть угнетен за счет развития быстро растущих «сахарных грибов», таких как *Aspergillus* и *Penicillium* (Ребрикова, 1999). Для ингибирования бактерий использовали рифампицин (2 г/л) (Grum-Grzhimaylo et al., 2016).

Чашки инкубировали при 25 °С. Окончательный учет колоний грибов проводили через 10 суток; исходя из количества колоний на чашке, определяли численность грибов как число колониобразующих единиц (КОЕ) на грамм пробы. Посевы образцов проводили в двух повторностях на каждую питательную среду (всего в четырех повторностях).

2.4. Хранение культур микромицетов

Для всех изолятов получены моноспоровые культуры, которые хранятся в коллекции грибов экстремальных местообитаний кафедры микологии и альгологии Биологического факультета МГУ, часть изолятов депонирована в международные коллекции: ВКМ (Пушино, Россия), ВКПМ (Москва, Россия), CBS (Утрехт, Нидерланды) и VTT (Хельсинки, Финляндия). Номера штаммов в коллекциях представлены в табл. 5.

2.5. Идентификация изолятов

2.5.1. Идентификация изолятов по морфологическим и культуральным признакам

Изучение морфологических признаков грибов было проведено с помощью светового микроскопа Leica DM2500 (Leica, Германия). Некоторые изоляты изучали также с помощью сканирующего электронного микроскопа Camscan-S2 (Cambridge Instruments,

Великобритания) в Межкафедральной лаборатории электронной микроскопии МГУ. Для изучения с помощью СЭМ образцы (блок верхнего слоя агара с грибом, 1 см²) фиксировали в течение 1 часа в 2,5% растворе глутарового альдегида, приготовленного на 0,1М фосфатном буфере (рН 7,2), с последующим трехкратным промыванием в буфере (по 20 мин). Обезвоживали в растворах этилового спирта (30%, 50%, 70% и 96% концентрации) и в ацетоне с последующим высушиванием в критической точке (Grum-Grzhimaylo et al., 2013) при помощи прибора Hitachi Critical Point Dryer (Hitachi, Япония) в атмосфере CO₂. Высушенные образцы монтировали на металлические столики и напыляли платиной и палладием в напылителе Eiko IB-3 Ion Coater (Eiko Engineering, Япония). Полученные изображения обрабатывали при помощи программы Adobe Photoshop Elements.

Идентификацию изолятов проводили на среде Чапека после инкубации культур при 25 °С в течение 7–14 суток в зависимости от скорости роста гриба с помощью определителей и статей по таксономии грибов (Raper, Fennell, 1965; Raper et al., 1968; Gams, 1971; Bissett, 1982; Zare, Gams, 2001; Klich, 2002; Samson et al., 2004; Crous et al., 2007; Domsch et al., 2007; Seifert et al., 2011).

Кроме того, структура конидиеносцев, фиалид и конидий у *Lecanicillium gracile* sp. nov. была изучена на картофельно-морковном агаре (КМА), рекомендованном для стимуляции и изучения бесполого спороношения у *Lecanicillium*-подобных грибов (Gams et al., 1998; Zare, Gams, 2001) после инкубации культур при 25 °С в течение 14 суток. Измерение фиалид и конидий проводили с помощью программы ImageJ 1.45s. Морфологические характеристики колоний *Lecanicillium gracile* sp. nov. (форма, окраска, текстура и т.д.) были изучены на средах картофельно-глюкозный агар (КГА), сусло-агар с дрожжевым экстрактом (СДА) (Zare, Gams 2001) (обе среды фирмы Sigma, США), а также среде КМА, после инкубации при 25 °С в течение 14 дней (Crous et al., 2018). Прописи сред даны в Приложении (пункт 1.1).

Кроме того, у изолятов *Lecanicillium gracile* sp. nov. измеряли диаметр колоний в двух перпендикулярных направлениях после инкубации в течение 14 суток на среде КГА при разных значениях температуры (15 °С, 20 °С, 23 °С, 25 °С, 28 °С, 30 °С, 33 °С и 35 °С). Опыт для каждого штамма гриба был проведен в 6-ти повторностях.

Таблица 3. Список исследованных объектов и характеристика образцов.

Номер объекта	Объект	Месторасположение	Количество отобранных проб	Материал	Места отбора проб	Влагосодержание материала в местах отбора проб, %
<i>Памятники архитектуры</i>						
1	Бывший путевой дворец Елизаветы Петровны (XVIII – XIX вв.), подвальное помещение	г. Москва, Московская область	1	штукатурка	участок стены без признаков деструкции (контрольная проба)	0,7
			24			участки стен с осыпанием красочного слоя и штукатурки
2	Георгиевский собор (XIII в.)	г. Юрьев-Польский, Владимирская область	5	белый камень известняк	участки размягчения и отслоения материала на столбе; участок отслоения материала на стене притвора	4,5; 10,0; 11,5; 13,3; 13,5
3	Кафедральный собор Успения Пресвятой Богородицы (XII в.)	г. Владимир, Владимирская область	1	белый камень известняк с примесью штукатурки	стены без признаков деструкции (контрольная проба)	2,2
			1	штукатурка	стена без признаков деструкции (контрольная проба)	3,7
4	Собор Боголюбивой иконы Божией Матери (XIX в.)	Свято-Боголюбский женский монастырь, Поселок Боголюбово, Владимирская область	4	белый камень известняк	участки стен с размягченным материалом	8,0; 8,1; 9,0; 10,2
5	Собор Рождества Пресвятой	г. Суздаль, Владимирская область	2	штукатурка	размягченные участки западной стены северного притвора	12,0; 12,2

	Богородицы		1	белый камень известняк	размягченный участок пилястры северной стены	6,0
6	Церковь Бориса и Глеба (XII в.)	село Кидекша, Суздальский район, Владимирская область	2	белый камень известняк	участок стены с с размягченным материалом и обильным выходом солей; участок столба с размягченным материалом, покрытый водорослями	17,0; 17,4
			2	штукатурка	участки аркасолиев южной и северной стен с осыпающейся штукатуркой	8,0; 14,0
<i>Музеи</i>						
7	Библиотека Государственной Третьяковской Галереи, строение 1 (XVII – XIX вв.), помещения цокольного этажа	г. Москва, Московская область	6	штукатурка	отслоение и осыпание красочного и штукатурного слоев фасадных стен	6,5; 6,5; 10,0; 11,0; 11,7; 12,0
			1	белый камень известняк	внутренняя стена, осыпание белого камня	12,0
8	Библиотека Государственной Третьяковской Галереи, строение 2 (XVII – XIX вв.)	г. Москва, Московская область	5	штукатурка	участки стен технического подвального помещения и цокольного этажа с размягченным материалом и с обильным выходом солей на поверхность	9,0
9	Государственная Третьяковская Галерея, главное здание (XX в.), экспозиция	г. Москва, Московская область	3	штукатурка	экспозиционные залы №№ 56, 57, откосы окон, участки с шелушением и отслоением красочного слоя	11,8; 12,0; 12,0

	древнерусской живописи					
10	Депозитарий Государственной Третьяковской Галереи (XX в.)	г. Москва, Московская область	1	штукатурка	стена без признаков деструкции (контрольные пробы)	3,4
			6		участки стен с отслоением отделочных покрытий	3,4–4,0; 6,7; 10,8
11	Музей-усадьба «Кусково» (XVIII в.), фонд мебели	г. Москва, Московская область	10	штукатурка	наружная стена, участки с осыпанием красочного и штукатурного слоев на уровне и выше уровня земли	4,5; 4,5; 5,1; 6,3; 6,3; 13,0; 13,0; 19,0; 19,0
12	Музей-усадьба «Останкино» (XVII – XVIII вв.), Египетский павильон	г. Москва, Московская область	5	штукатурка	участки стен без признаков деструкции (контрольные пробы)	0,4; 3,5; 3,7; 4,0; 4,2
			5		шелушение и осыпание отделочных покрытий стен по углам помещения	3,6; 4,5; 5,0; 7,0; 9,0
13	Никитский корпус (XV – XIX вв.), хранилище древнерусской живописи и резного дерева	Новгородский Кремль, г. Великий Новгород, Новгородская область	2	штукатурка	отслоение отделочных материалов на стене	6,2; 8,5
14	Флигель бывшего Путевого императорского дворца Тверской областной картинной галереи	г. Тверь, Тверская область	17	белый камень известняк	подвальное помещение, размягченные участки фасадных стен с очень высоким влагосодержанием, затеками, коричневыми пятнами на поверхности, а также с осыпанием красочного слоя и обильным выделением солей	5,0; 7,8; 9,3; 10,0; 19,0; >20

			4	штукатурка	подвальное помещение, участки с обильным выделением солей на фасадной стене; отслоение отделочных покрытий и обильное выделение солей на внутренней стене	11; >20
			1	белый камень известняк	первый этаж, участок со вздутием и отслоением краски на фасадной стене	9,5
			3	штукатурка	первый этаж, небольшие вздутия краски на внутренней стене	9,0
			1	белый камень известняк	первый этаж, фасадная стена без признаков деструкции (контрольная проба)	3,8

Таблица 4. Внешний вид участков отбора проб.

Участки отбора проб	Пример участков с данными признаками		Номера объектов с данными участками
	Общий вид	Детальный вид	

Участки с признаками деструкции в виде размягчения, отслоения и осыпания материалов



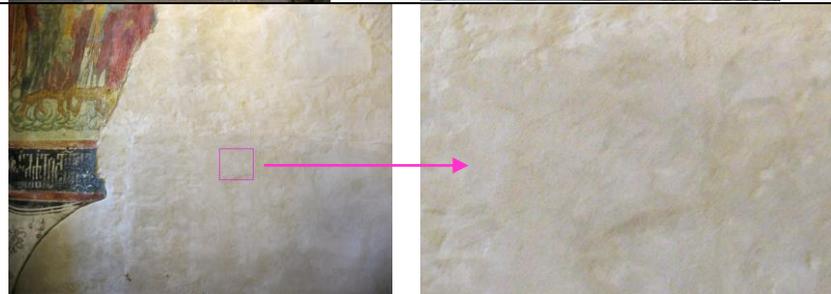
1, 2, 4-14

Участки с признаками деструкции в виде размягчения, отслоения и осыпания материалов, покрытые налетом солей (с высолами)



6, 8, 14

Контрольные участки (без признаков деструкции)



3, 10, 12

2.5.2. Идентификация изолятов по молекулярно-генетическим признакам. Филогенетический анализ.

Для идентификации изолятов нуклеотидные последовательности ITS1-5.8S-ITS2 и D1-D2 LSU сравнивали с нуклеотидными последовательностями типовых штаммов, содержащихся в базах данных GenBank (ncbi.nlm.nih.gov) и MycoID (www.mycobank.org). Регион ITS выбран как универсальный маркер, рекомендованный для идентификации грибов (Schoch et al., 2012), в то время как D1/D2 LSU предложен для идентификации видов рода *Acremonium*, а также филогенетических построений внутри этого рода (Summerbell et al., 2011). Полученные нами нуклеотидные последовательности депонировали в GenBank (номера последовательностей приведены в табл. 5). Названия и систематическое положение грибов приведены в соответствии с базой CABI Bioscience Databases (<http://www.indexfungorum.org>).

Для изолятов рода *Lecanicillium*, а также для одного изолята *Parengyodontium album* (Kd7 = CBS 142824) было проведено филогенетическое построение с использованием нуклеотидных последовательностей ITS1-5.8S-ITS2 и TEF1a. Последовательности D1-D2 LSU для построения не использовались, поскольку они обладали недостаточно хорошим разрешением внутри рода *Lecanicillium*. В построениях были использованы последовательности из базы NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) (табл. 6). Для выравнивания сиквенсов использовали онлайн сервис MAFFT v. 7 с FFT-NS-i алгоритмом (Kato et al., 2017). Неоднозначные участки были удалены вручную в программе BioEdit v.7.1.3.0 (Hall, 1999). Филогенетические реконструкции были выполнены методами максимального правдоподобия (ML) и Байеса (BA). Филогенетический анализ методом Байеса был выполнен в программе MrBayes v.3.1.2 с использованием статистической модели GTR+I+G для 10000000 генераций с сохранением каждого 100-го дерева. Для проверки результатов сходимости цепи и создания консенсусного дерева использовали программу TRACER v. 1.6 (Rambaut, Drummond, 2007). Клады со значением апостериорной вероятности (PP) > 0,94 рассматривались как значимые. Первые 50 % деревьев исключались из дальнейшего анализа. Оставшиеся деревья суммировались по правилу консенсуса большинства (50 % majority rule) с восстановлением апостериорных вероятностей (PP). Анализ максимального правдоподобия (Maximum likelihood bootstrap analysis, ML) выполнен в программе GARLI 2.0.1019 (Zwickl, 2006) с 200 бутстреп-повторностями. Итоговое дерево построено по правилу консенсуса большинства при помощи скрипта SumTrees v. 3.3.1 для DendroPy v.3.11.0 (Sukumaran, Holder, 2010) в среде Python v. 3.7. Сохраняя Байесовскую топологию дерева, добавили значения ML для

соответствующих узлов дерева в программе TreeGraph v. 2.4.0-456 beta (Stöver, Müller, 2010). Филогенетический анализ был депонирован в TreeBase (Submission ID25950; <http://purl.org/phylo/treebase/phyloids/study/TB2:S25950?x-access-code=fc84012bce4f5842f24174fa8d226ba8&format=html>).

Выделение ДНК, амплификация и секвенирование были проведены согласно методикам Libkind et al. (2003) и Glushakova et al. (2016). Биомассу (2 см²) трех-четырёх-суточной культуры, выращенной на среде Чапека, переносили в микропробирки, добавляли 400 мкл стеклянной дробы (диаметром 300–500 мкм) и 500 мкл лизирующего буфера (TrisBase 50 ммоль/л, NaCl 250 ммоль/л, ЭДТА 50 ммоль/л, SDS 0,3%, pH 8). Приготовленную смесь взбалтывали на вортексе Heidolph MultiReax (Heidolph, Германия) на скорости 2000 об/мин в течение 15 мин, затем инкубировали 1 ч. при температуре 65 °С, затем снова взбалтывали на вортексе в течение 15 мин и центрифугировали в течение 10 мин со скоростью 13400 об/мин, надосадочную жидкость использовали как ДНК-матрицу для постановки ПЦР. Для амплификации регионов ITS и D1/D2 LSU использовали праймеры ITS1f (5'-CTTGGTCATTTAGAGAAGTA) и NL4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG) и смесь для ПЦР ScreenMix (Евроген, Россия). Для амплификации TEF1a изолятов *Lecanicillium* G-42 = CBS 142817 и GTG 12-1 = CBS 142818, использовали праймеры EF1-983F (5'-GCYCCYGGHCAUCGTGAYTTYAT) и EF1-2218 (5'-RATGACACCRACRGCACRGTGTG). Для амплификации TEF1a изолятов *Lecanicillium* 57-9-2 = CBS 142816, G4-5 = VKPM F-1421, Kd1 = CBS 142821 и штамма *Parengyodontium album* Kd7 = CBS 142824, использовали праймеры EF1-983F и EF1-1567R (5'-ACHGTRCCRATACCACCRATCTT). Секвенирование ДНК проводили с помощью набора реактивов Big Dye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) с последующим анализом продуктов реакции на секвенаторе Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer (Синтол, Россия).

Таблица 5. Информация о номерах в коллекциях и базы данных GenBank для изученных последовательностей ITS1-5.8S-ITS2 и D1-D2 LSU.

Виды	Номер коллекции	ITS1-5.8S-ITS2			D1-D2 LSU		
		Наиболее сходные виды по BLAST (сходство, %)	Покрытие (Query coverage, %)	Номера GenBank	Наиболее сходные виды по BLAST (сходство, %)	Покрытие (Query coverage, %)	Номера GenBank
<i>Acremonium camptosporum</i>		–	–	–	<i>Acremonium camptosporum</i> CBS 756.69 (100)	91	LT549085
<i>Acremonium charticola</i>		<i>Acremonium charticola</i> CBS 221.70 (99)	100	LT598640	<i>Acremonium charticola</i> CBS 221.70 (100)	100	LT598640
<i>Acremonium charticola</i>		<i>Acremonium charticola</i> CBS 221.70 (100)	70	LT598639	–	–	–
<i>Acremonium charticola</i>	VKM FW-1539	<i>Acremonium charticola</i> CBS 117.25 (100)	100	LT598642	–	–	–
<i>Acremonium charticola</i>	VKM F-4769	<i>Acremonium charticola</i> CBS 117.25	64	LT598643	–	–	–
<i>Acremonium furcatum</i>	CBS 142822	<i>Acremonium furcatum</i> P266 D2 27 (99)	100	KY995576	–	–	–
<i>Acremonium furcatum</i>	VTT D-151581	<i>Acremonium furcatum</i> P266 D2 27 (99)	100	KY995577	–	–	–
<i>Acremonium furcatum</i>	VTT D-151582	<i>Acremonium furcatum</i> P266 D2 27 (99)	100	KY995578	–	–	–
<i>Acremonium furcatum</i>	VTT D-151583	<i>Acremonium furcatum</i> P266 D2 27 (99)	100	KY995579	–	–	–
<i>Acremonium furcatum</i>	VTT D-151584	<i>Acremonium furcatum</i> P266 D2 27 (99)	100	KY995580	–	–	–

<i>Acremonium</i> sp.1	CBS 142823	<i>Acremonium</i> sp. G246 (91)	100	LT549084	–	–	–
<i>Acremonium</i> sp.2	CBS 142819	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS 400.52 (100)	100	LT598644	<i>Acremonium charticola</i> CBS 117.25 (99)	100	LT598644
<i>Acremonium</i> sp.3		<i>Acremonium charticola</i> CBS 221.70 (99)	100	LT598641	<i>Acremonium sordidulum</i> CBS 385.73 (100)	100	LT598641
<i>Botrytis</i> sp.		<i>Botrytis elliptica</i> CBS 204.64 (100)/ <i>Botrytis tulipae</i> CBS 130.37 (100)	77/76	LT549079	–	–	–
<i>Chordomyces antarcticus</i>	VKM F-4770	<i>Chordomyces antarcticus</i> CBS 987.87 (100)	88	LT549083	–	–	–
<i>Cladosporium langeronii</i>	VKPM F-1427	<i>Cladosporium sphaerospermum</i> CBS 797.97 (100)/ <i>Cladosporium langeronii</i> CBS 189.54 (100)/ <i>Cladosporium psychrotolerans</i> CBS 119412 (100)	96/97/83	MG589512			
<i>Emericellopsis</i> sp.		–	–	–	<i>Emericellopsis stolckiae</i> CBS 159.71 / <i>Emericellopsis maritima</i> CBS 491.71		LT598651
<i>Fusarium</i> sp.	CBS 142825	<i>Fusarium lichenicola</i> CBS 115.40 (100)/ <i>Fusarium javanicum</i> CBS 420.76 (100)	99/100	LT549086	–	–	–
<i>Lecanicillium gracile</i> sp. nov.	CBS 142816	<i>Lecanicillium kalimantanense</i> BTCC-F23 (95)	100	LT598647	<i>Lecanicillium kalimantanense</i> BTCC-F23 (98)	100	LT598647

<i>Lecanicillium gracile</i> sp. nov.	VKPM F-1421	<i>Lecanicillium kalimantanense</i> BTCC-F23 (95)	100	MF682449	–	–	–
<i>Lecanicillium gracile</i> sp. nov.	CBS 142821	<i>Lecanicillium kalimantanense</i> BTCC-F23 (95)	97	MF682448	<i>Lecanicillium kalimantanense</i> BTCC-F23 (98)	98	LT598650
<i>Lecanicillium</i> sp.	CBS 142817	<i>Lecanicillium kalimantanense</i> BTCC-F23 (95)	99	LT598645	<i>Lecanicillium kalimantanense</i> BTCC-F23 (99)	99	LT598648
<i>Lecanicillium</i> sp.	CBS 142818	<i>Lecanicillium kalimantanense</i> BTCC-F23 (95)	99	LT598646	<i>Lecanicillium kalimantanense</i> BTCC-F23 (99)	99	LT598650
<i>Mortierella alpina</i>		<i>Mortierella alpina</i> MSCL 1314 (100)	98	LT549087	–	–	–
<i>Parengyodontium album</i>	VKPM F-1422	<i>Parengyodontium album</i> CBS 368.72 (100)	76	LT549073	–	–	–
<i>Parengyodontium album</i>		<i>Parengyodontium album</i> CBS 368.72 (100)	77	LT549074	–	–	–
<i>Parengyodontium album</i>	VKPM F-1386	<i>Parengyodontium album</i> CBS 368.72 (100)	73	LT549075	–	–	–
<i>Parengyodontium album</i>	CBS 142824	<i>Parengyodontium album</i> CBS 368.72 (100)	72	LT549076	–	–	–
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	VKPM F-1402	<i>Geomyces pannorum</i> CBS 105.53 (100)	80	LT549077	–	–	–
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>		<i>Geomyces pannorum</i> CBS 105.53 (100)	79	LT549078	–	–	–
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	VKPM F-1387	<i>Purpureocillium lilacinum</i> CBS 284.36 (100)	96	MH818848	–	–	–
<i>Sarocladium</i>	VKPM F-1403	–	–	–	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS	100	LT549064

<i>kiliense</i>					122.29 (100)		
<i>Sarocladium kiliense</i>	VKM FW-1540, CBS 142820	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS 400.52 (99)	100	LT549088	–	–	–
<i>Sarocladium kiliense</i>	VKPM F-1362	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS 400.52 (99)	100	LT549089	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS 122.29 (100)	100	LT549089
<i>Sarocladium kiliense</i>	VKPM F-1363	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS 400.52 (100)	100	LT549090	–	–	–
<i>Sarocladium kiliense</i>	VKPM F-1404	–	–	–	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS 122.29 (100)	100	LT549068
<i>Sarocladium kiliense</i>	VKPM F-1364	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS 400.52 (99)	99	MF682451	–	–	–
<i>Sarocladium kiliense</i>		–	–	–	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS 122.29 (100)	100	LT549065
<i>Sarocladium kiliense</i>	VKM F-4771	–	–	–	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS 122.29 (100)	100	LT549067
<i>Sarocladium kiliense</i>	VKPM F-1368	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS 400.52 (99)	97	MF682447			
<i>Sarocladium kiliense</i>		–	–	–	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS 122.29 (100)	100	LT549071
<i>Sarocladium kiliense</i>		–	–	–	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS 122.29 (99)	100	LT549070
<i>Sarocladium kiliense</i>	VKPM F-1366	–	–	–	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS 122.29 (100)	100	LT549066
<i>Sarocladium kiliense</i>	VKPM F-1367	–	–	–	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS 122.29 (100)	100	LT549072
<i>Sarocladium kiliense</i>		–	–	–	<i>Sarocladium kiliense</i> CBS 122.29 (100)		LT549063
<i>Verticillium zaregamsianum</i>	VKPM F-1361	<i>Verticillium zaregamsianum</i> CBS		LT549080	–	–	–

		130342					
--	--	--------	--	--	--	--	--

Таблица 6. Виды, используемые в филогенетическом построении, и их номера в GenBank. Новые изоляты выделены жирным шрифтом.

Вид	Источник выделения	Номер в коллекции	ITS	TEF1a
<i>Akanthomyces attenuatus</i>	Личинка <i>Carpocapsa pomonella</i>	CBS 170.76, type	EF679164	-
<i>Akanthomyces lecanii</i>	<i>Coccus viridis</i>	CBS 102067; IMI 331550R, type	EF513009	KM283818
<i>Akanthomyces muscarius</i>	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	CBS 143.62, IMI 068689, epitype	AJ292388	KR064305
<i>Lecanicillium cauligalbarum</i>	Личинка Lepidoptera	GZUIFRZHJ01, type	MH730663	MH801920
<i>Lecanicillium acerosum</i>	<i>Crinipellis pernicioso</i> на <i>Theobroma cacao</i>	CBS 418.81, ex-type	EF641893	KM283810
<i>Lecanicillium aphanocladii</i>	<i>Agaricus bisporus</i>	CBS 101286	AJ292430	-
<i>Lecanicillium aphanocladii</i>	<i>Agaricus bitorquis</i>	CBS 376.77	AJ292431	-
<i>Lecanicillium aphanocladii</i>	<i>Agaricus bisporus</i>	CBS 797.84	KM283811	-
<i>Lecanicillium araneorum</i>	Araneida	CBS 726.73a, epitype	AJ292464	EF468781
<i>Lecanicillium araneicola</i>	Araneae	BTCC F35, NBRC 105407, ex-type	AB378506	-
<i>Lecanicillium coprophilum</i>	Фекалии <i>Marmota monax</i>	CGMCC 3.18988	MH177614	MH184585
<i>Lecanicillium coprophilum</i>	Фекалии <i>Marmota monax</i>	CGMCC 3.18987	MH177615	MH184586
<i>Lecanicillium coprophilum</i>	Фекалии <i>Marmota monax</i>	CGMCC 3.18986, ex-type	MH177616	MH184587
<i>Lecanicillium dimorphum</i>	<i>Agaricus bisporus</i>	CBS 363.86; JCM 23128, ex-type	AJ292429	EF468784
<i>Lecanicillium flavidum</i>	<i>Abies alba</i>	CBS 342.80, ex-type	EF641878	-
<i>Lecanicillium fungicola</i> var. <i>aleophilum</i>	<i>Agaricus bisporus</i>	CBS 357.80, ex-type	AF324876	KM283815
<i>Lecanicillium fungicola</i> var. <i>fungicola</i>	<i>Agaricus bisporus</i>	CBS 992.69, epitype	EF641889	KM283816
<i>Lecanicillium fusisporum</i>	<i>Coltricia perennis</i>	CBS 164.70, ex-type	AJ292428	EF468783
<i>Lecanicillium gracile</i>	Штукатурка со стены внутри помещения	CBS 142816	LT598647	MN602797
<i>Lecanicillium gracile</i>	Штукатурка со стены внутри помещения	VKPM F-1421	MF682449	MN602799
<i>Lecanicillium gracile</i>	Белый камень известняк со стены внутри помещения	CBS 142821, ex-type	MF682448	MN602801

<i>Lecanicillium kalimantanense</i>	Coleoptera (Staphyloidea?) в образце почвы	NBRC 105406, BTCC F23, ex-type	AB360356	-
<i>Lecanicillium longisporum</i>	<i>Icerya purchasi</i>	CBS 126.27, IMI 021167, type	AJ292385	-
<i>Lecanicillium nodulosum</i>	Scale insect (Coccidae)	IMI 338014R, type	EF513012	-
<i>Lecanicillium pissodis</i>	<i>Pissodes strobi</i>	CBS 118231	-	KM283822
<i>Lecanicillium primulinum</i>	Почва под растением	JCM 18525; FKI-6172, ex-type	AB712266	-
<i>Lecanicillium restrictum</i>	Поверхность деревянной бочки	CCF 5252, ex-type	LT548279	LT626943
<i>Lecanicillium sabanense</i>	<i>Pulvinaria caballeroramosae</i>	ANDES-F 1024, holotype	KC633232	KC633266
<i>Lecanicillium saksenae</i>	Лесная почва	CBS 532.81, IMI 179841, ex-type	AJ292432	EF469067
<i>Lecanicillium</i> sp.	Мертвые образцы <i>Diaphorina citri</i>	ZJLSP07	KM013699	-
<i>Lecanicillium</i> sp.	Белый камень известняк со стены внутри помещения	CBS 142817	LT598645	MN602798
<i>Lecanicillium</i> sp.	Белый камень известняк со стены внутри помещения	CBS 142818	LT598646	MN602800
<i>Lecanicillium subprimulinum</i>	Древесина	HKAS99548, holotype	MG585314	MG585317
<i>Lecanicillium tenuipes</i>	Araneae	CBS 309.85	AJ292391	DQ522341
<i>Lecanicillium testudineum</i>	Карапакс <i>Trachemys scripta elegans</i>	CCF 5201, CBS 141096, ex-type	LT548278	LT626942
<i>Lecanicillium testudineum</i>	Карапакс <i>Trachemys scripta elegans</i>	CCF 5545	LT992874	LT992868
<i>Lecanicillium testudineum</i>	Карапакс <i>Trachemys scripta elegans</i>	CCF 5546	LT992871	LT992868
<i>Lecanicillium uredinophilum</i>	Насекомое	KUN 101466	MG948305	MG948315
<i>Lecanicillium uredinophilum</i>	<i>Pucciniastrum agrimoniae</i> on <i>Agrimonia pilosa</i>	KACC 44082, ex-type	-	KM283806
<i>Lecanicillium wallacei</i>	Личинка Lepidoptera	CBS 101237, IMI 331549, holotype	EF641891	EF469073
<i>Parengyodontium album</i>	Фрески	CBS 368.72	LC092891	-
<i>Parengyodontium album</i>	Ушные выделения человека	ИHEM 4198	LC092887	-
<i>Parengyodontium album</i>	Абсцесс мозга человека	CBS 504.83, ex-type	LC092880	-
<i>Parengyodontium album</i>	Белый камень известняк со стены внутри помещения	CBS 142824	LT549076	MN602802
<i>Simplicillium lanosoniveum</i>	<i>Hemileia vastatrix</i>	CBS 704.86	AJ292396	DQ522358

<i>Simplicillium obclavatum</i>	Воздух над полем сахарного тростника	CBS 311.74; IMI 185383, ex-type	AJ292394	EF468798
<i>Verticillium indonesiacum</i>	Araneae	BTCC-F36, ex-type	AB378516	-

2.6. Анализ выделенных комплексов грибов

Структура грибных комплексов была проанализирована с использованием параметров численности выделенных видов (КОЕ/г), их относительного обилия (%) и встречаемости (%).

Относительное обилие вида i (p_i) рассчитывали по формуле:

$$p_i = k_i/K \times 100\%,$$

где k_i – суммарная по всем пробам численность вида i , КОЕ/г; K – суммарная численность всех выделенных видов, КОЕ/г.

Встречаемость вида i (r_i) рассчитывали по формуле:

$$r_i = n_0/n \times 100\%,$$

где n_0 – число образцов, в которых вид был обнаружен; n – общее число образцов.

Степень сходства видового состава комплексов сравнивали с помощью коэффициента Сьеренсена (C_s) по формуле:

$$C_s = 2c/(a+b),$$

где c – количество общих видов, выделенных из обоих комплексов; a – количество видов в одном комплексе; b – количество видов в другом комплексе.

На основании сходства видового состава микромицетов исследованных объектов построили дендрограмму кластерного анализа с использованием метода невзвешенного попарного среднего в программе Statistica.

Меру видового разнообразия сообществ оценивали с помощью индекса разнообразия Симпсона (D) по формуле:

$$D = 1 - \sum_{i=1}^S x_i^2,$$

где x_i – относительное обилие i -го вида; S – общее число видов. Чем ближе индекс разнообразия Симпсона к единице, тем выше степень разнообразия (Kiel, Gaylarde, 2007).

2.7. Проверка способности микромицетов развиваться в образцах штукатурки

Проверку способности микромицетов успешно развиваться в строительных материалах на минеральной основе проводили на трех видах, выделенных нами из материалов в наибольших количествах: *Lecanicillium gracile* sp. nov. Kd1 = CBS 142821, *Parengyodontium album* Kd7 = CBS 142824 и *Sarocladium kiliense* G2-16 = CBS 142820 (табл. 8). Для этого отбирали образцы деструктированной штукатурки из стены подвального помещения, имеющие плоскую форму, нарезали на квадраты площадью

примерно 0,5 см² и дважды стерилизовали при 0,5 атм, 112°C. Деструктурированная штукатурка была выбрана в связи с тем, что она содержит много органических соединений. На образцы штукатурки с соблюдением правил асептики с помощью пульверизатора наносили водную суспензию спор в концентрации 10⁶ спор/мл. На каждый образец наносили споры одного вида гриба, в десяти повторностях для каждого вида. Стерильные чашки Петри с образцами помещали в эксикаторы, на дно которых наливали стерильную водопроводную воду для получения условий высокой влажности (ОВ = 99%), которые провоцируют прорастание спор (ГОСТ 9.048-89). Эксикаторы инкубировали в темноте при 25°C в течение 28 суток. Каждые седьмые сутки отбирали образцы штукатурки (по два для каждого вида гриба) и высушивали их на воздухе в течение суток. Затем образцы напыляли платиной и палладием в напылителе Eiko IB-3 Ion Coater (Eiko Engineering, Япония) и изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа (Camscan-S2, Cambridge Instruments, Великобритания) в Межкафедральной лаборатории электронной микроскопии МГУ. На 28-е сутки степень развития грибов в образцах оценивали по шкале, рекомендованной ГОСТ 9.048-89 (табл. 7).

Таблица 7. Степень развития грибов в материале (ГОСТ 9.048-89).

Балл	Характеристика балла
0	Под микроскопом прорастания спор и конидий не обнаружено
1	Под микроскопом видны проросшие споры и незначительно развитый мицелий
2	Под микроскопом виден развитый мицелий, возможно спороношение
3	Невооруженным глазом мицелий и (или) спороношение едва видны, но отчетливо видны под микроскопом
4	Невооруженным глазом отчетливо видно развитие грибов, покрывающих менее 25% испытываемой поверхности
5	Невооруженным глазом отчетливо видно развитие грибов, покрывающих более 25% испытываемой поверхности

2.8. Исследование особенностей экофизиологии микромицетов штукатурки и белого камня известняка

2.8.1. Влияние активности воды субстрата на скорость роста грибов

Для исследования отобрали виды грибов, которые присутствовали в материалах в существенных количествах, достигающих 10⁴–10⁵ КОЕ/г: *Acremonium charticola*, *Acremonium furcatum*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium langeronii*, *Lecanicillium gracile* sp. nov., *Lecanicillium* sp., *Parengyodontium album*, *Penicillium chrysogenum*, *Pseudogymnoascus pannorum*, *Purpureocillium lilacinum*, *Sarocladium kiliense* и *Verticillium zaregamsianum* (рис. 12, табл. 8). Среды готовили на основе сусло-агара (СА), активность воды которой считали равной 0,99. Нужные значения активности воды (a_w) в среде (0,95;

0,90; 0,85; 0,80; 0,75) получали путем добавления глицерина (Gervats et al., 1988; Marín et al., 1995). Необходимое количество глицерина для получения нужного значения a_w в среде рассчитывали по формуле (Gervats et al., 1988):

$$a_w = (1 - X)e^{-KX^2},$$

где X – концентрация глицерина, моль; K – постоянная, равная 1,16 при 25°C для глицерина. Итоговые составы сред с разными значениями a_w приведены в Приложении (пункт 1.2).

Грибы сеяли уколом в центр чашки Петри. Опыты проводили в двух повторностях для каждого вида гриба. Для предотвращения высыхания, чашки Петри оборачивали лентой Parafilm и инкубировали в эксикаторах с водными растворами глицерина такой же концентрации, как и в агаризованных средах с соответствующими значениями a_w (Gervats et al., 1988), при комнатной температуре (24–25°C). Диаметр колоний измеряли в двух перпендикулярных направлениях (Marín et al., 1996) через день в течение 30 суток. Линейную скорость роста штаммов определяли как угловой коэффициент линии регрессии (Baranova et al., 2017) на графиках зависимости диаметра колоний от времени роста.

2.8.2. Изучение скорости роста микромицетов при разных значениях pH

Для исследования отобрали виды грибов, которые присутствовали в материалах в существенных количествах, достигающих 10^4 – 10^5 КОЕ/г (виды перечислены в разделе 2.8.1) (рис. 12, табл. 8). Также в исследование вошли шесть видов, численность которых в пробах достигала лишь 10^3 КОЕ/г (рис. 12, табл. 8), выбранных случайным образом: *Acremonium* sp.1, *Aspergillus flavus*, *Chordomyces antarcticus*, *Emericellopsis* sp., *Fusarium* sp. и *Talaromyces funiculosus*. Если это было возможно, случайным образом отобрали по три штамма каждого тестируемого вида. Всего для опыта было отобрано 36 изолятов 18 видов. Значения pH сред (pH = 4; 5; 7; 8; 9; 10) задавали с помощью буферных растворов. Методика приготовления сред изложена в Приложении (пункт 1.3). Грибы сеяли уколом в центр, в трех повторностях для каждого штамма. Для предотвращения высыхания среды чашки обернули лентой Parafilm. Посевы инкубировали при 25°C в темноте в течение 14–21 суток в зависимости от роста гриба. Через день измеряли диаметр колоний в двух перпендикулярных направлениях. Линейную скорость роста штаммов определяли как угловой коэффициент линии регрессии (Баранова и др., 2017) на графиках зависимости диаметра колоний от времени роста. По характеру отношения к фактору pH микромицеты классифицировали согласно Grum-Grzhimaylo et al. (2016). В случаях, когда все изоляты испытуемого вида принадлежали к одной и той же группе, на графиках отображали

данные лишь для одного изолята данного вида. Данные по двум другим изолятам представлены в Приложении (пункт 2).

2.8.3. Способность микромицетов к растворению карбоната кальция

Для исследования отобрали виды грибов, которые присутствовали в материалах в существенных количествах, достигающих 10^4 – 10^5 КОЕ/г (виды перечислены в разделе 2.8.1) (рис. 12, табл. 8). Кроме того, для исследования взяли *Aspergillus flavus* вследствие его высокой встречаемости на материалах (рис. 12, табл. 8). Отобрали случайным образом по три штамма каждого тестируемого вида, если это было возможно. Всего изучили 29 штаммов 13 видов. Способность к растворению карбоната кальция тестировали на среде глюкозо-агар с CaCO_3 (Pangallo et al., 2012) (состав среды указан в Приложении 1, пункт 1.4). Опыт проводили согласно Unković et al. (2018). Грибы сеяли уколом в центр чашки Петри. Опыты проводили в трех повторностях. Для предотвращения высыхания, чашки Петри оборачивали лентой Parafilm. Посевы инкубировали при 25°C в темноте, каждый день в течение 21 суток чашки просматривали, отмечая наличие (положительный результат теста) или отсутствие (отрицательный результат теста) зоны просветления среды вокруг колонии гриба.

2.9. Изучение динамики развития грибных спор в пыли

В исследование вошли виды, характерные для воздуха и пыли помещений (Антропова, 2005) и отмеченные нами на штукатурке и известняке: *Alternaria alternata*, *Aspergillus repens*, *A. versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. chrysogenum*. Изучение скорости прорастания спор и развития микромицетов в пыли проводили в эксикаторах, где с помощью насыщенных растворов солей KH_2PO_4 , KCl , NaCl и NaNO_2 при 25°C задавали ОВ равную 95%, 85%, 75% и 65% соответственно, ОВ над чистой водой считали = 99% (Winston, Bates, 1968). В эксикаторы помещали стерильные стеклянные емкости, содержащие по 2 г стерильной пыли. Пыль собирали при помощи бытового пылесоса с мебели и пола в квартирах многоэтажных домов с центральным отоплением из разных районов г. Москвы. Режим стерилизации пыли – 2 раза по 30 мин при 0,5 ати. Эксикаторы закрывали притертыми крышками и оставляли при 25°C на 3 дня для установления в пыли влажностного равновесия со средой эксикатора. После этого в емкости с пылью вносили споры микромицетов в концентрации 10^5 спор/г пыли, стерильно собранные препаративной иглой с 14-суточных газонов грибов, и тщательно перемешивали их в течение 5 мин. Опыты проводили в двух повторностях. Ежедневно в течение 35 суток брали пробы пыли и микроскопировали их.

Из 100 спор подсчитывали долю проросших. Для возможности графического отображения появление мицелия условно обозначали на рисунках как 100%-ное прорастание спор.

Параллельно изучали динамику развития спор и скорость роста колоний этих же видов грибов на агаризованных питательных средах на основе СА со значениями a_w , соответствующими значениям ОВ в эксикаторах: 0,99; 0,95; 0,85; 0,75; 0,65. Среды готовили способом, описанным в разделе 2.8.2, задавая нужное значение a_w в среде с помощью глицерина (приложение 1, пункт 1.2). Для изучения прорастания спор и развития грибов, инокуляцию сред проводили по методике Marín et al. (1996), для чего споры суспендировали в средах с тем же составом и с теми же a_w , что и среды для посева, однако не содержащих агара (жидкие среды). Для предотвращения слипания спор в среды добавляли Tween 80. Конечная концентрация спор в полученных суспензиях составляла 10^6 спор/мл. По 0,1 мл полученной споровой суспензии наносили на чашки Петри со средой с соответствующим значением a_w и распределяли по чашке стеклянным шпателем. Опыты проводили в двух повторностях. Для предотвращения высыхания среды чашки с посевами заклеивали лентой Parafilm (Dallyn, Fox, 1980) и помещали в эксикаторы, относительная влажность воздуха в которых соответствовала активности воды агаризованной среды на чашках. Эксикаторы инкубировали при 25°C в темноте. Ежедневно в течение 35 дней с момента посева вырезали стерильным сверлом агаровые блоки, которые помещали на предметное стекло и микроскопировали. Просматривали 100 спор и отмечали долю проросших. Таковыми считали споры, которые миновали фазу набухания и дали ростовую трубку. Множественное ветвление, при котором не представлялось возможным проследить “главную ось”, расценивали как образование мицелия. Для изучения скорости роста, грибы сеяли уколом в центр чашки Петри. Для предотвращения высыхания среды чашки с посевами заклеивали лентой Parafilm (Dallyn, Fox, 1980) и помещали в эксикаторы, относительная влажность воздуха в которых соответствовала активности воды агаризованной среды на чашках. Эксикаторы инкубировали при 25°C в темноте. Линейную скорость роста штаммов определяли как угловой коэффициент линии регрессии (Baranova et al., 2017) на графиках зависимости диаметра колоний от времени роста.

2.10. Сравнение фунгицидного действия препаратов

Для испытаний были отобраны биоциды на основе трех групп действующих веществ (ДВ):

- наночастиц серебра: AgБион-2 (0,045% по ДВ), водная дисперсия (Концерн «Наноиндустрия», Россия), находящийся на стадии разработки;

- алкилдиметилбензиламмония хлорида (препараты из группы четвертичных аммониевых соединений (ЧАС)): широко применяемый Катамин АБ (3% по ДВ) (Бурсинтез, Россия) и его современный аналог Капатокс (1,57% по ДВ) (Caparol, Германия);
- полигексаметиленгуанидина гидрохлорида (ПГ): широко применяемый Полисепт (5% по ДВ) (Фарма-Покров, Россия) и его современный аналог Тефлекс Антиплесень (концентрация ДВ производителем не указана) (Софт Протектор, Россия).

Испытания проводили в два этапа. На первом этапе фунгицидное действие препаратов сравнивали между собой на наборе грибных тест-культур. На втором этапе фунгицидное действие сравнивали непосредственно на деструктированной штукатурке.

2.10.1. Сравнение фунгицидного действия препаратов методом дисков

В качестве тест-культур использовали 14 видов грибов, в число которых вошли как рекомендованные для испытаний на грибостойкость технических изделий и ряда промышленных материалов (ГОСТ 9.048-89 и др.), так и известные агенты биоповреждения строительных материалов: *Acrostalagmus luteoalbus* (синоним *Verticillium lateritium*), *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Aureobasidium pullulans*, *Chaetomium globosum*, *Microascus brevicaulis* (синоним *Scopulariopsis brevicaulis*), *Paecilomyces variotii*, *Penicillium chrysogenum*, *P. ochrochloron*, *Sarocladium kiliense* (синоним *Acremonium kiliense*), *Stemphylium botryosum*, *Talaromyces funiculosus* (синоним *Penicillium funiculosum*). Фильтровальную бумагу пропитывали растворами названных биоцидов и высушивали на воздухе. Из нее вырезали диски диаметром 7 мм. На чашки Петри со средой СА наносили спорую суспензию тест-грибов (споры суспендировали в растворе суслу, концентрация – 10^6 спор/мл) и помещали пропитанные биоцидами диски. В качестве контроля использовали диск, пропитанный водой. Чашки инкубировали при температуре 25°C (Беккер, 1963). Через трое суток измеряли зону подавления роста грибов, включая диаметр самого диска (Харченко, 1982).

При нанесении AgБиона-2 происходит окрашивание материалов в бурый цвет, поэтому практический интерес представляют концентрации этого препарата, которые не меняли бы цвет обработанного субстрата. В связи с этим проводили дополнительные испытания с AgБионом-2, разведенным в 10 раз, то есть в концентрации $4 \times 10^{-3}\%$ по ДВ.

В зонах деструкции минеральных строительных материалов может отмечаться большое количество водорастворимых солей, в результате чего осмотический потенциал субстрата в этих участках повышен и, как следствие, активность воды снижена (Ребрикова, 1999). Поэтому было интересно исследовать фунгицидное действие биоцидов

на сусло-агаре с пониженной a_w (0,95), которую задавали с помощью глицерина (Dallyn, Fox, 1980) (см пункт 2.8.1). Исследования проводили с 3% Катамином АБ описанным выше способом.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ Excel 2013 и Statistica.

2.9.1. Сравнение фунгицидного действия препаратов при обработке строительных материалов

Фунгициды испытывали внутри помещения бывшего дворца Елизаветы Петровны непосредственно на участках стены с деструктированной штукатуркой и очагами развития микромицетов. Предварительно экспериментальную площадку поделили на 5 участков размером 10×10 см². На поверхность участков стены кистью однократно наносили растворы биоцидов. Тефлекс Антиплесень, вследствие его низкой активности в исследовании «методом дисков», в данном опыте не использовали. В качестве контроля один из деструктированных участков стены обработали водой. Пробы штукатурки для микологического анализа с экспериментальной площадки отбирали до обработки, а затем через 1, 7, 14 и 30 суток после обработки участков биоцидами. Микологические посевы проводили способом, описанным в разделе 2.3.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Количественная оценка грибов в пробах

Прямое исследование образцов деструктированной штукатурки с помощью СЭМ выявило обильное развитие в них грибного мицелия (рис. 5). При этом микромицеты оплетали частицы материала и проникали вглубь него (рис. 5a,b). В некоторых образцах грибные гифы были погружены в хорошо развитую слизь, покрывающую частицы материала в виде биопленки (рис. 5c,d).

В пробах, отобранных с контрольных участков *без признаков деструкции* и низким влагосодержанием (0,7–4,2%) (табл. 4), количество грибных КОЕ на грамм пробы не превышало 10^2 .

Влагосодержание участков *с признаками деструкции* (табл. 4) колебалось от 3,4% до 20% и выше. Число видов в одной пробе могло достигать 7. В 46% проб из зон деструкции численность грибов значительно превышала таковую в контрольных пробах и могла достигать 10^6 КОЕ/г.

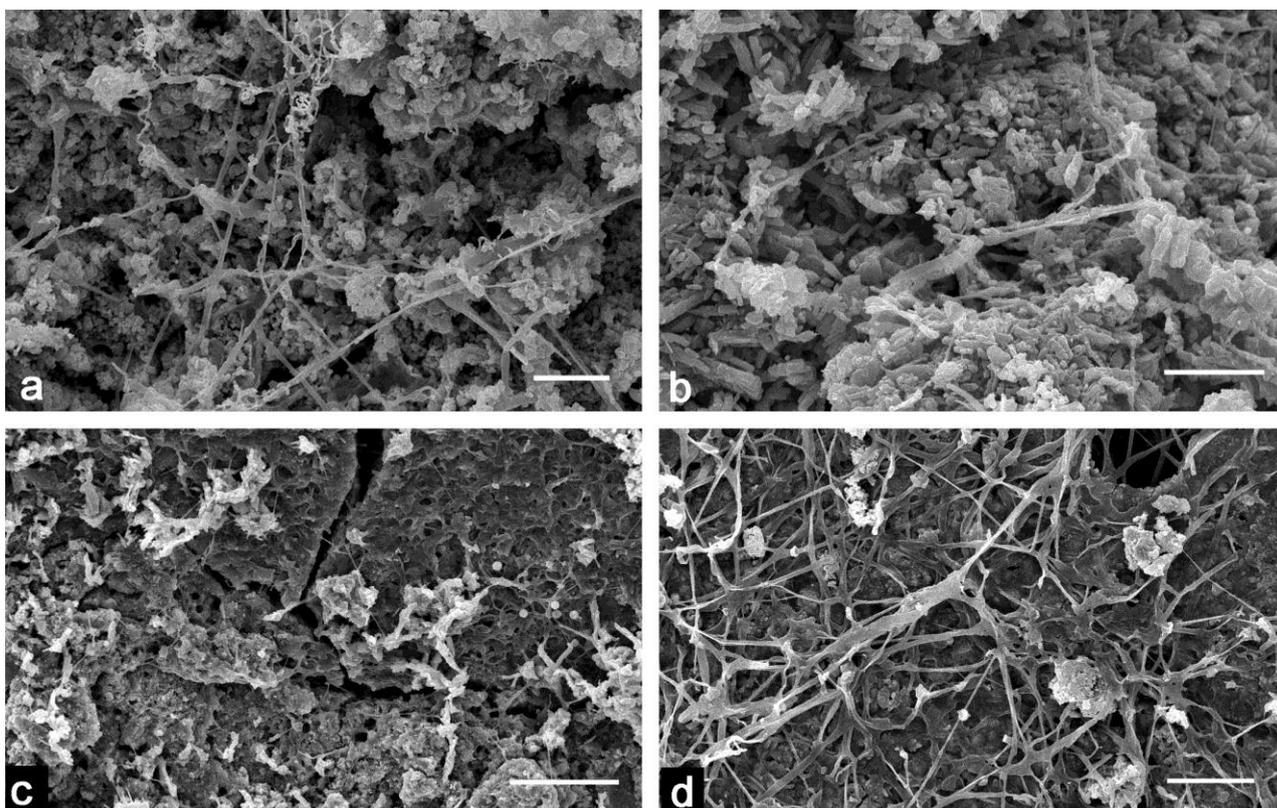


Рисунок 5. Участки штукатурки с признаками деструкции (СЭМ). **a, b** – обильный грибной мицелий, проникающий в минеральный субстрат; **c, d** – слизистая биопленка, развивающаяся на минеральном субстрате. Масштабные отрезки: a, b – 10 мкм; c – 50 мкм; d – 20 мкм.

Повышенное влагосодержание стен внутри обследованных объектов (табл. 3), по-видимому, было вызвано нарушением гидроизоляции ограждающих конструкций. Так, стены 11 исследованных объектов: двух библиотек и депозитария Государственной Третьяковской Галереи (ГТГ), бывшего путевого дворца Елизаветы Петровны, Георгиевского собора, музеев «Кусково» и «Останкино», Никитского корпуса Новгородского Кремля, соборов Боголюбивой иконы Божией Матери и Рождества Пресвятой Богородицы, церкви Бориса и Глеба были недостаточно защищены от почвенной влаги. Нарушение гидроизоляции стен залов экспозиции древнерусской живописи главного здания ГТГ было результатом неэффективной водосточной системы, которая недостаточно защищала стены от талого снега и дождевой воды, стекающих с крыши. В здании флигеля Тверской областной картинной галереи переувлажнение стен было связано либо с их незащищенностью от напора почвенной влаги, либо с аварийной ситуацией, в результате которой примерно за месяц до момента осмотра пол подвала был залит тало-дождевыми водами до уровня 1 м. Внутри соборов Боголюбивой иконы Божией Матери и Рождества Пресвятой Богородицы, а также церкви Бориса и Глеба (табл. 3), помимо нарушенной гидроизоляции ограждающих конструкций, отмечались

повышенные значения ОВ воздуха. Так, в соборе Боголюбивой иконы Божией Матери ОВ воздуха на момент осмотра составляла 89% ($t = 16,9\text{ }^{\circ}\text{C}$), в соборе Рождества Пресвятой Богородицы – 72% ($t = 19\text{ }^{\circ}\text{C}$), а в церкви Бориса и Глеба – 71% ($t = 24\text{ }^{\circ}\text{C}$).

В соборах Рождества Пресвятой Богородицы и количество грибных пропагул в зонах деструкции достигало 10^6 КОЕ/г, в соборе Боголюбивой иконы Божией Матери и в здании флигеля Тверской областной картинной галереи – 10^5 КОЕ/г. В участках с признаками деструкции внутри помещений двух библиотек и экспозиционных залов ГТГ, музея-усадьбы «Кусково», бывшего дворца Елизаветы Петровны и церкви Бориса и Глеба количество грибных КОЕ достигало порядка 10^4 на грамм пробы. В помещениях Георгиевского собора, депозитария ГТГ, Никитского корпуса Новгородского Кремля, музея-усадьбы «Останкино» количество грибных КОЕ достигало порядка 10^3 КОЕ/г пробы.

Как показывает кладограмма сходства между исследованными объектами (рис. 6) на видовой состав не оказывают очевидного влияния ни географическое положение объектов, ни тип материала.

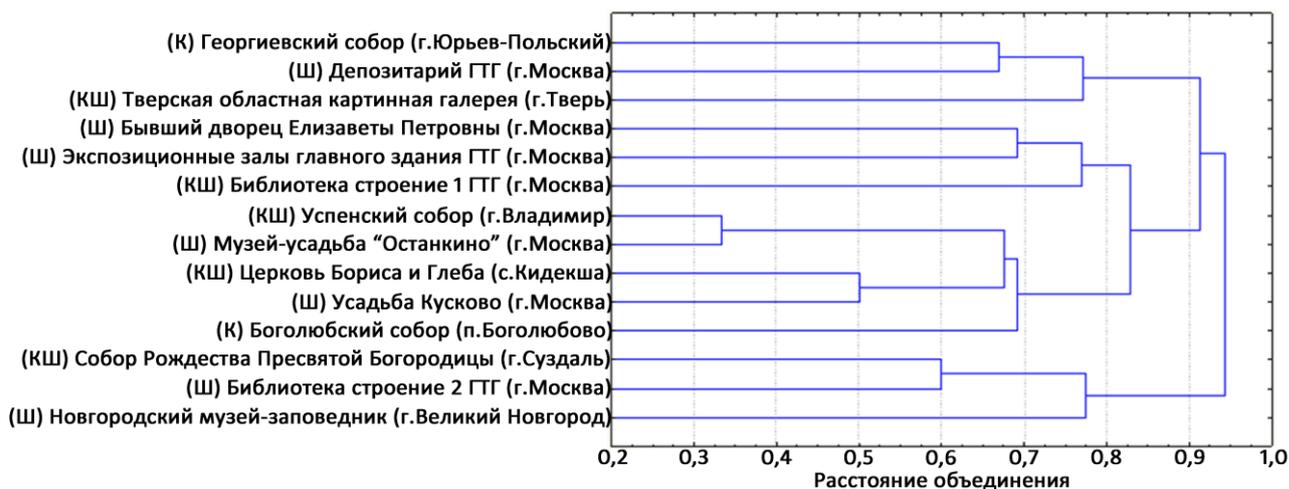


Рисунок 6. Кладограмма сходства видовой состава микромицетов в исследованных памятниках культуры на основе коэффициентов Сьеренсена. **(К)** – пробы белого камня известняка; **(Ш)** – пробы штукатурки; **(КШ)** – пробы белого камня известняка и штукатурки; **ГТГ** – Государственная Третьяковская галерея.

3.2. *Lecanicillium gracile* V.B. Ponizovskaya, A.A. Grum-Grzhim., Georgieva & Bilanenko, sp. nov.

Из образцов штукатурки и белого камня известняка нами были выделены изоляты *Lecanicillium* spp. Филогенетические построения на основании локусов ITS rDNA и TEF1a (рис. 7) выявили, что три изолята *Lecanicillium* (57-9-2 = CBS 142816; G4-5 = VKPM F-1421; Kd1 = CBS 142821) образуют хорошо поддержанную кладу (1,00, PP/96 %, ML) и

при этом филогенетически близки *Parengyodontium album*. Другие два изолята *Lecanicillium* (G42 = CBS 142817 и GTG12-1 = CBS 142818) группировались с *L. testudineum* и *L. coprophilum* с высокой поддержкой (0,92, PP/100 %, ML), поэтому установить видовую принадлежность изолятов G42 и GTG12-1 на основании анализа регионов ITS rDNA и TEF1a невозможно. Следовательно, эти изоляты рассматриваются нами как *Lecanicillium* sp. Изолят *Parengyodontium album* Kd7 = CBS 142824 с высокой поддержкой (1,00, PP/95 %, ML) группировался с типовым изолятом *Parengyodontium album* CBS 504.83.

Lecanicillium gracile V.B. Ponizovskaya, A.A. Grum-Grzhim., Georgieva & Bilanenko, sp. nov. (рис. 8, 9).

МусоBank MB830764

Этимология: *gracile* (лат.) – тонкий, стройный; эпитет присвоен благодаря тонким фиалидам и тонкому мицелию гриба.

Данные типового изолята. Россия, Владимирская обл., поселок Кидекша, Церковь Бориса и Глеба, стена из белого камня известняка, размягченный участок стены внутри церкви с высоким влагосодержанием и выходом солей на поверхность, образец отобран 13 июня 2013 г. Понизовской В.Б. и Ребриковой Н.Л., изолят выделен Понизовской В.Б. (голотип CBS Н-23932), типовой изолят Kd1 = CBS 142821.

Культуральные характеристики. Колонии на КГА достигают 14–30 мм в диаметре за 10 дней и 20–39 мм за 14 дней при 25 °С. Колонии белые, ватообразные, приподнятые в центре, поверхность колоний в той или иной степени радиально складчатая, особенно у краев, край ровный, экссудат и выделение в среду пигментов отсутствуют, реверс желтоватый до кремоватого. На КМА колонии достигают 19–24 мм в диаметре за 10 дней и 26–31 мм за 14 дней при 25 °С. Колонии белые, шерстистые, иногда по краям воскообразные, центр колоний в большей или меньшей степени приподнят, край ровный, погруженный в субстрат, экссудат и выделение в среду пигментов отсутствуют, реверс кремоватый. На СДА колонии достигают 21–26 мм в диаметре за 10 дней и 27–33 мм за 14 дней при 25 °С. Колонии белые, ватообразные, более или менее приподнятые в центре, поверхность колоний в той или иной степени радиально складчатая, особенно у краев, край колоний ровный, экссудат и выделение в среду пигментов отсутствуют, реверс кремоватый до коричневатого.

Фиалиды (6–)10–23(–33) мкм длиной (среднее значение ± стандартное отклонение 15,7±5,3), в базальной части ширина фиалид составляет (0,5–)0,8–1,5 (1±0,2) мкм, ширина кончика фиалид 0,2–0,9 мкм (0,5±0,1), узкие, сужающиеся к апикальной части; одиночные

или реже в пучках из 2–3 (реже 4–5) на простратных (стелющихся) конидиеносцах, иногда на коротких прямых конидиеносцах, или развиваются вторичные фиалиды на предшествующих фиалидах. **Конидии** в головках, формируются на кончиках фиалид, диморфные; **макроконидии** в основном с заостренными кончиками, веретеновидные или слегка серповидные, гладкостенные, одноклеточные, $3,6–8,0 \times 1,7–0,8$ мкм ($5,4 \pm 0,9 \times 1,2 \pm 0,2$); **микроконидии** яйцевидные, обратнойцевидные, эллипсоидные, иногда веретеновидные или немного изогнутые, гладкостенные, одноклеточные, $1,1–3,3 \times 0,7–1,4$ мкм ($2,3 \pm 0,45 \times 1,1 \pm 0,2$). Микроскопические кристаллы в культуре обнаружены не были.

Половая стадия не обнаружена.

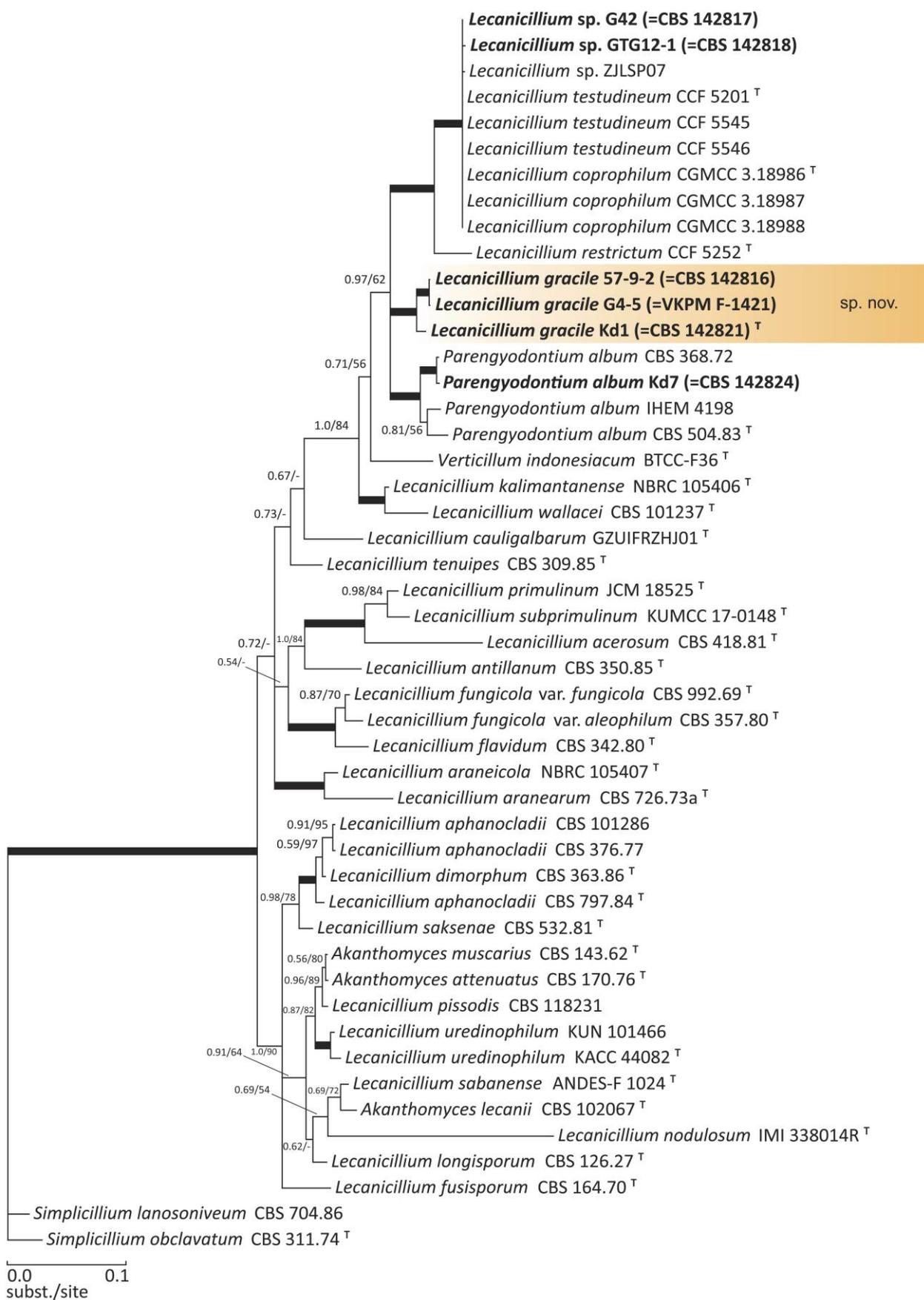


Рисунок 7. Молекулярно-филогенетическое дерево представителей рода *Lecanicillium* и близкородственных им видов, построенное по двум участкам (ITS rDNA+TEF1a).

Изоляты, полученные нами, выделены жирным шрифтом. Ветви с высокой поддержкой (ML > 90 % и PP > 0,94) выделены утолщенными линиями. Т – типовые изоляты.

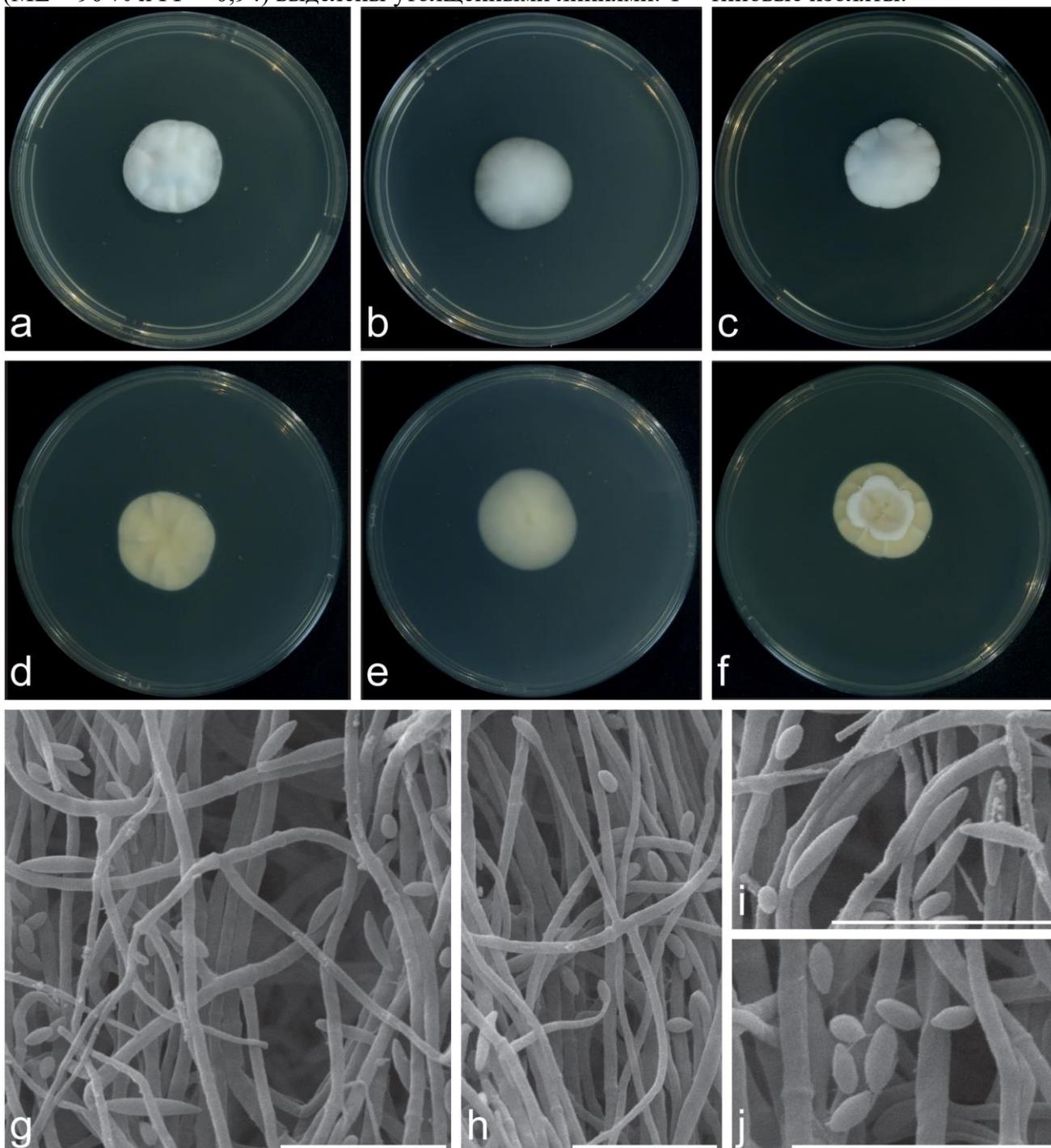


Рисунок 8. *Lecanicillium gracile* (Kd1 = CBS 142821): **a–c** – 14-суточные колонии (режим инкубации: 25 °С, в темноте) на средах КГА (Sigma), КМА и СДА (Sigma) соответственно на чашках Петри диаметром 9 см. **d–f** – реверсы 14-суточных колоний (режим инкубации: 25 °С, в темноте) на средах КГА (Sigma), КМА и СДА (Sigma) соответственно на чашках Петри диаметром 9 см. **g, h** – фиалиды и конидии (СЭМ). **i, j** – конидии. Масштабные отрезки: **g–j** = 10 мкм.

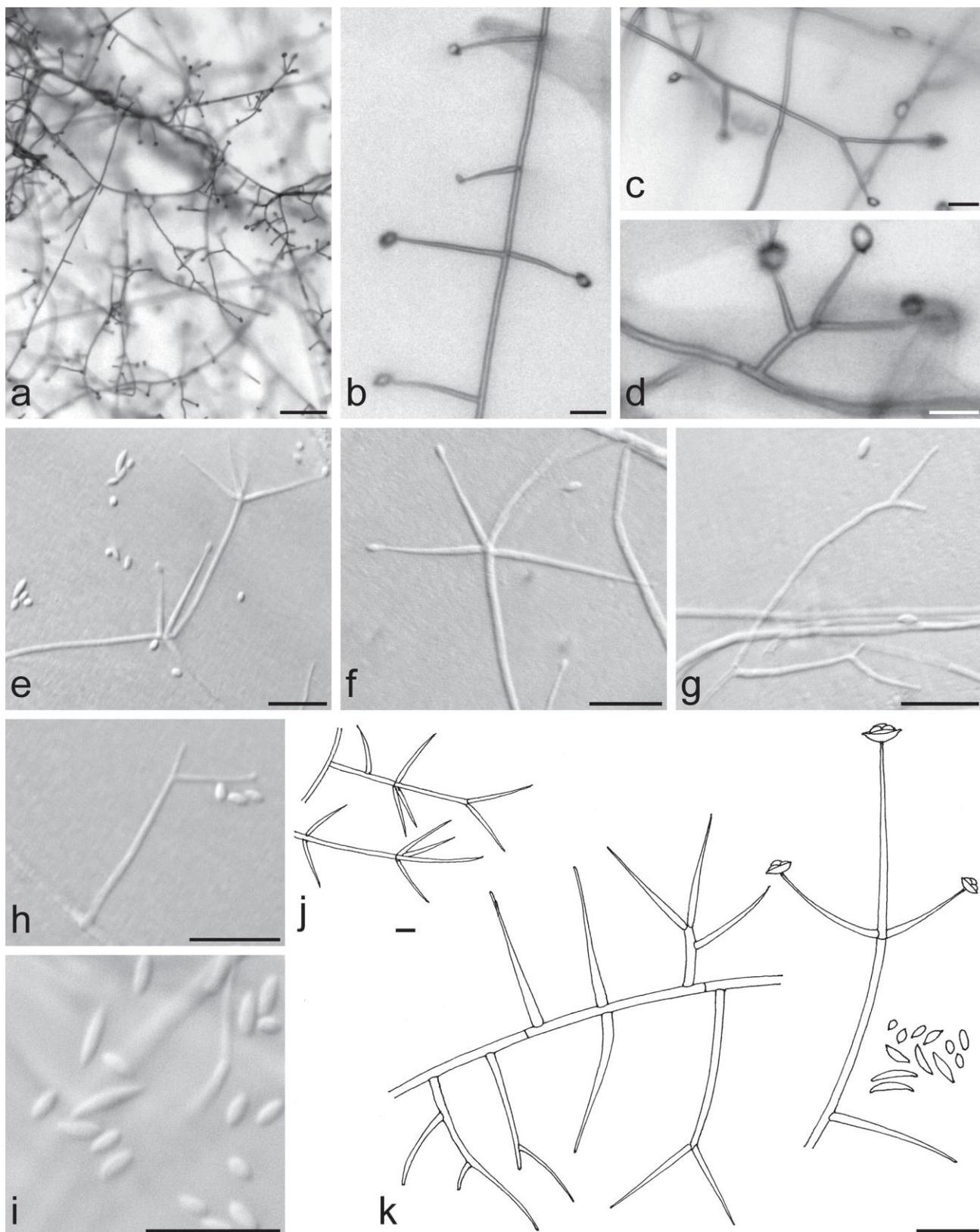


Рисунок 9. *Lecanicillium gracile* (Kd1 = CBS 142821): **a–c** – простратные конидиеносцы, несущие одиночные фиалиды и пучки фиалид (СМ). **d** – Короткий прямой конидиеносец с фиалидами (СМ). **e, f** – простратные конидиеносцы, несущие пучки фиалид (СМ). **g, h** – вторичные фиалиды, которые развиваются на предшествующих фиалидах (СМ). **i** – конидии (СМ). **j** – схема простратных конидиеносцев с фиалидами. **k** – схема простратных конидиеносцев с фиалидами и конидиями. Масштабные отрезки: 10 мкм.

Температурный оптимум: 20–23 °С (изолят Kd1 = CBS 142821, диаметр колоний достигал 19–33 мм в диаметре за 14 суток), 23–25 °С (изоляты 57-9-2 = CBS 142816 и G4-5 = VKPM F-1421, диаметр колоний достигал 30–38 и 26–39 мм соответственно за 14 суток).

При повышении температуры, слабый рост отмечался у изолята Kd1 = CBS 142821 при 28 °С (диаметр его колоний достигал 5–7 мм за 14 суток), у изолятов 57-9-2 = CBS 142816 и G4-5 = VKPM F-1421 при 33 °С (диаметр их колоний достигал 3–7 и 2–3 мм соответственно за 14 суток). Полное отсутствие роста у изолята Kd1 = CBS 142821 наступало при 30 °С, а у изолятов 57-9-2 = CBS 142816 и G4-5 = VKPM F-1421 – при 35 °С (рис. 10).

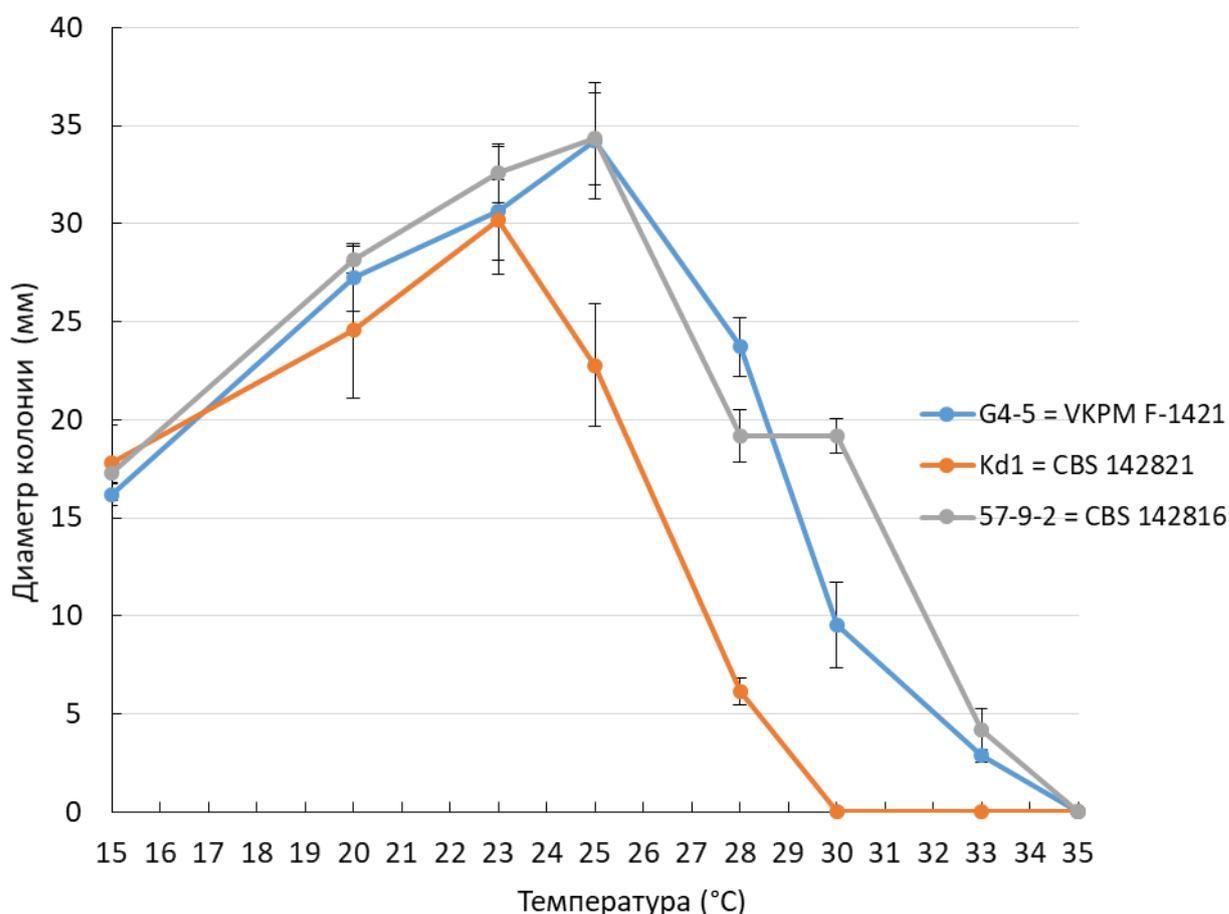


Рисунок 10. Зависимость диаметра колоний изолятов *Lecanicillium gracile* от температуры (на 14 сутки инкубации на среде КГА). На графиках представлены средние значения по шести повторностям и стандартное отклонение.

Морфологическое отличие от близкородственных видов. *Lecanicillium gracile* по морфологии схож с близкородственными ему видами, а именно с *L. coprophilum*, *L. restrictum* и *L. testudineum*. Тем не менее, он четко отличается от этих видов формированием вторичных фиалид на предшествующих фиалидах (рис. 9 g,h), которые не обнаружены у *L. coprophilum*, *L. restrictum* и *L. testudineum* (Crous et al., 2018, Su et al.,

2019). Более того, у *L. gracile* размер макроконидий ($3,6-8,0 \times 1,7-0,8$ мкм ($5,4 \pm 0,9 \times 1,2 \pm 0,2$) меньше, чем у *L. restrictum* ($(5-6-10(-12) \times 1-1,5$ мкм ($7,5 \pm 1,3 \times 1,1 \pm 0,1$)) (Crous et al., 2018). Также у *L. gracile* отсутствуют диктиохламидоспоры, которые характерны для *L. coprophilum* (Su et al., 2019). Выделенные нами изоляты *Lecanicillium* spp. хорошо отличаются от филогенетически близкого им вида *Parengyodontium album* отсутствием конидиеносцев зигзагообразной формы (Šimonovičová et al., 2004, Tsang et al., 2016).

3.3. Характеристика комплексов микромицетов штукатурки и белого камня известняка

Из образцов *штукатурки* выделено 150 штаммов, включающих 43 вида из 17 родов, без учета четырех изолятов стерильного мицелия. Большинство видов принадлежало классам Eurotiomycetes (41,9%) и Sordariomycetes (32,6%) (Ascomycota). Остальные виды были распределены среди Dothideomycetes (9,3%), Leotiomycetes (2,3%) (Ascomycota) и Mortierellomycetes (2,3%) (Mortierellomycota); 2,3% видов занимали неясное таксономическое положение внутри Basidiomycota; еще 9,3% видов были представлены изолятами *Mycelia sterilia*.

Из образцов *белого камня известняка* выделено 70 штаммов, включающих 34 вида из 17 родов, без учета двух изолятов стерильного мицелия. Большинство видов принадлежало Sordariomycetes (43,3%) и Eurotiomycetes (23,3%). Остальные виды были распределены среди Dothideomycetes (16,7%), Leotiomycetes (3,3%) (Ascomycota) и Umbelopsidomycetes (3,3%) (Mucoromycota); 3,3% видов занимали неясное таксономическое положение внутри отдела Ascomycota; еще 6,7% видов были представлены изолятами *Mycelia sterilia*. Информация о выделенных видах представлена в Таблицах 3 и 6.

Индекс видового разнообразия Симпсона штукатурки был 0,80, а белого камня – 0,79. Коэффициент сходства видового состава Сьеренсена между штукатуркой и белым камнем был 0,3.

Показатели численности и относительного обилия микромицетов отражают степень их развития в исследуемых материалах (Gómez-Cornelio et al., 2012).

Таблица 8. Относительное обилие, частота встречаемости и максимальное число КОЕ/г видов, выделенных (+) из деструктурированных участков.

Вид	Тип материала		Относительное обилие, %	Максимальное число КОЕ/г данного вида	Частота встречаемости, %	Номера объектов
	известняк	штукатурка				
<i>Parengyodontium album</i> (Limber) C.C. Tsang, J.F.W. Chan, W.M. Pong, J.H.K. Chen, A.H.Y. Ngan, M. Cheung, C.K.C. Lai, D.N.C. Tsang, S.K.P. Lau & P.C.Y. Woo	+	+	29,40	10 ⁵	23,0	1, 6, 7, 8, 11
<i>Sarocladium kiliense</i> (Grütz) Summerb.	+	+	14,87	10 ⁵	14,8	1, 2, 7, 10, 14
<i>Lecanicillium gracile</i> V.B. Ponizovskaya, A.A. Grum-Grzhim., Georgieva & Bilanenko	+	+	13,41	10 ⁵	4,1	1, 6, 9
<i>Acremonium charticola</i> (Lindau) W. Gams	+	+	11,61	10 ⁵	1,6	1, 4, 5
<i>Purpureocillium lilacinum</i> (Thom) Luangsa-ard, Houbraken, Hywel-Jones & Samson		+	7,97	10 ⁵	12,3	1, 9, 10
<i>Acremonium furcatum</i> C. Moreau & Moreau ex W. Gams	+	+	7,29	10 ⁵	4,9	6, 14
<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	+	+	3,71	10 ⁴	18,9	1, 6 – 11
<i>Cladosporium langeronii</i> (Fonseca, Leão & Nogueira) Vuill.	+		3,65	10 ⁴	0,8	4
<i>Lecanicillium</i> sp.2		+	1,09	10 ⁴	1,6	1, 9
<i>Mortierella alpina</i>		+	0,90	10 ⁴	2,5	1

Peyronel						
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i> (Link) Minnis & D.L. Lindner	+		0,74	10 ⁴	1,6	2, 4
<i>Verticillium zaregamsianum</i> Inderb., Usami, Kanto, R.M. Bostock, R.M. Davis & Subbarao	+		0,74	10 ⁴	4,9	4
<i>Aspergillus versicolor</i> (Vuill.) Tirab.	+	+	0,61	10 ⁴	13,9	1, 7, 8, 13
<i>Aspergillus flavus</i> Link	+	+	0,60	10 ³	17,2	4, 6, 7, 9, 12
<i>Penicillium</i> sp.1	+	+	0,45	10 ³	8,2	14
<i>Fusarium</i> sp.		+	0,42	10 ³	1,6	7
<i>Chordomyces antarcticus</i> Bilanenko, Georgieva & Grum-Grzhim.		+	0,26	10 ³	1,6	14
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx	+	+	0,26	10 ³	13,9	1, 2
<i>Talaromyces funiculosus</i> (Thom) Samson, N. Yilmaz, Frisvad & Seifert	+	+	0,24	10 ³	10,7	4, 6, 11, 12
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries	+		0,15	10 ³	1,6	2
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	+		0,14	10 ³	1,6	2
<i>Aspergillus sclerotiorum</i> G.A. Huber		+	0,13	10 ³	1,6	7
<i>Umbelopsis nana</i> (Linnem.) Arx	+		0,11	10 ³	1,6	14
<i>Acremonium</i> sp.1		+	0,11	10 ³	1,6	7
<i>Penicillium glabrum</i> (Wehmer) Westling	+		0,10	10 ³	0,8	7

<i>Emericellopsis</i> sp.	+	+	0,09	10 ³	1,6	5
<i>Acremonium</i> sp.2		+	0,05	10 ³	0,8	8
<i>Acremonium</i> sp.3	+		0,03	10 ³	0,8	4
<i>Tritirachium oryzae</i> (Vincens) de Hoog		+	0,03	10 ³	0,8	13
<i>Alternaria</i> sp.	+		0,02	10 ²	0,8	2
<i>Acremonium camptosporum</i> W. Gams		+	0,01	10 ²	1,0	9
<i>Acrostalagmus luteoalbus</i> (Link) Zare, W. Gams & Schroers	+		0,02	10 ²	1,6	6
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	+	+	0,02	10 ²	3,3	1, 2
<i>Geotrichum candidum</i> Link		+	0,02	10 ²	1,6	1
<i>Mycelia sterilia</i> 1	+	+	0,02	10 ²	2,5	14
<i>Mycelia sterilia</i> 2		+	0,02	10 ²	0,8	1
<i>Cladosporium</i> sp.		+	0,02	10 ²	0,8	10
<i>Aspergillus nidulans</i> (Eidam) G. Winter		+	0,01	10 ²	0,8	8
<i>Epicoccum nigrum</i> Link	+		0,01	10 ²	0,8	2
<i>Mycelia sterilia</i> 3		+	0,01	10 ²	0,8	1
<i>Penicillium verrucosum</i> Dierckx		+	0,01	10 ²	0,8	14
<i>Trichoderma atroviride</i> P. Karst.		+	0,01	10 ²	1,6	6
<i>Mycelia sterilia</i> 4	+		0,007	10 ²	0,8	7
<i>Alternaria botrytis</i> (Preuss) Woudenb. & Crous		+	0,005	10 ²	0,8	1
<i>Aspergillus niger</i> Tiegh.		+	0,005	10 ²	0,8	14
<i>Aspergillus ochraceus</i> G. Wilh.		+	0,005	10 ²	0,8	13
<i>Aspergillus repens</i> (Corda) Sacc.		+	0,005	10 ²	0,8	8

<i>Aspergillus</i> sp.1		+	0,005	10 ²	0,8	13
<i>Aspergillus</i> sp.2		+	0,005	10 ²	0,8	14
<i>Aspergillus ustus</i> (Bainier)		+	0,005	10 ²	0,8	7
Thom & Church						
<i>Botrytis</i> sp.		+	0,005	10 ²	0,8	4
<i>Chaetomella</i> sp.		+	0,005	10 ²	0,8	1
<i>Chaetomium globosum</i>		+	0,005	10 ²	0,8	1
Kunze						
<i>Cladosporium oxysporum</i>		+	0,005	10 ²	0,8	1
Berk. & M.A. Curtis						
<i>Mycelia sterilia</i> 5		+	0,005	10 ²	0,8	7
<i>Mycelia sterilia</i> 6		+	0,005	10 ²	0,8	1
<i>Penicillium</i>		+	0,005	10 ²	0,8	7
<i>brevicompectum</i> Dierckx						
<i>Penicillium</i> sp.2		+	0,005	10 ²	0,8	7
<i>Trichoderma</i> sp.		+	0,005	10 ²	0,8	2

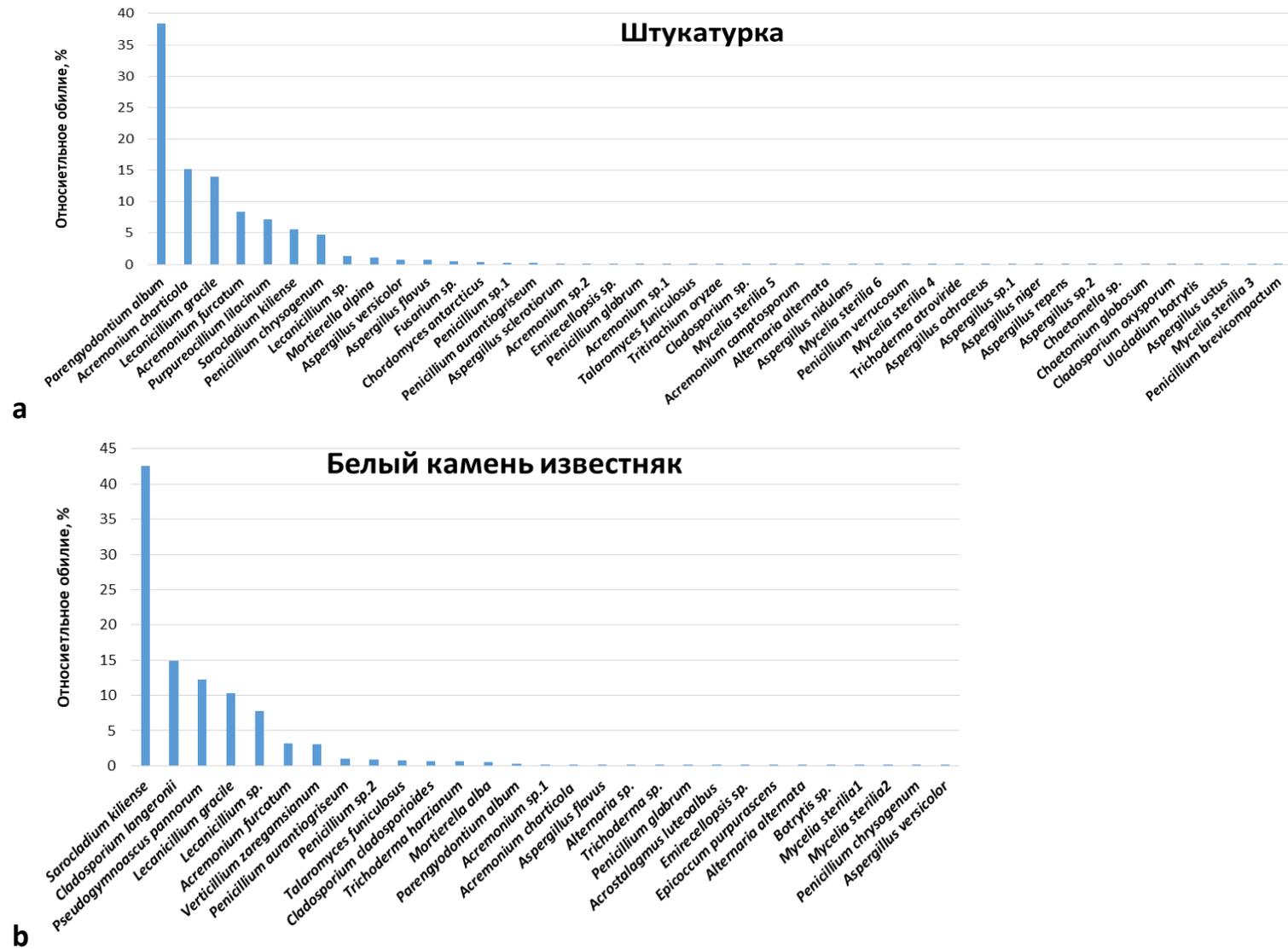


Рисунок 11. Относительное обилие (%) видов, выделенных из штукатурки (а) и белого камня известняка (б).

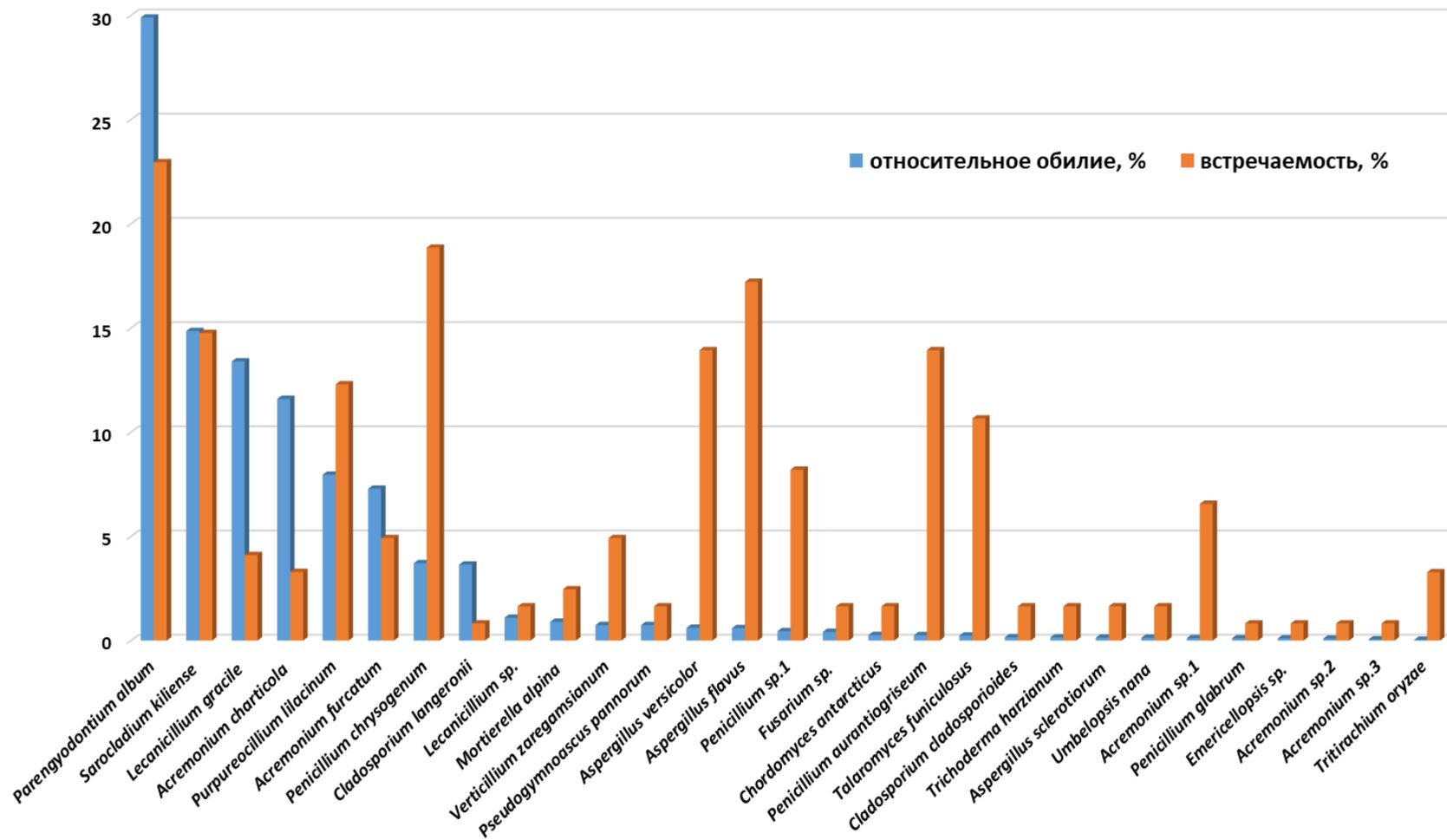


Рисунок 12. Относительное обилие (%) и встречаемость (%) видов, выделенных из всех исследованных материалов в количествах не менее 10^3 КОЕ/г.

Наибольшие показатели относительного обилия в образцах **штукатурки** были у *Parengyodontium album* (38%), *Acremonium charticola* (15%), *Lecanicillium gracile* sp. nov. (14%), *Acremonium furcatum* (8%), *Purpureocillium lilacinum* (7%), *Sarocladium kiliense* (6%) и *Penicillium chrysogenum* (5%), следовательно, перечисленные виды наиболее активно развивались в этом материале (рис. 11а). Численность этих видов в пробах штукатурки была велика и достигала 10^5 КОЕ/г у *P. album*, *A. charticola*, *L. gracile* sp. nov., *A. furcatum*, *P. lilacinum* и 10^4 КОЕ/г у *S. kiliense* и *P. chrysogenum*. Отметим, что в 2019 году на основании вида *A. furcatum* был описан новый род *Furcasterigmium* Giraldo López & Crous, и предложена новая комбинация *Furcasterigmium furcatum*, которая является типовым видом рода *Furcasterigmium* (Giraldo, Crous, 2019). Однако в нашей работе мы будем придерживаться названия *A. furcatum*, поскольку оно подчеркивает *Acremonium*-подобную морфологию гриба, что важно для наших исследований.

Наибольшие показатели относительного обилия в образцах **белого камня известняка** были у *Sarocladium kiliense* (43%), *Cladosporium langeronii* (15%), *Pseudogymnoascus pannorum* (12%), *Lecanicillium gracile* sp. nov. (10%), *Lecanicillium* sp. (8%), *Acremonium furcatum* (3%) и *Verticillium zaregamsianum* (3%), из чего следует, что именно эти виды наиболее активно в нем развивались (рис. 11б). Численность этих видов в пробах известняка была велика и достигала 10^5 КОЕ/г у *S. kiliense* и 10^4 КОЕ/г у *C. langeronii*, *P. pannorum*, *L. gracile* sp. nov., *L. wallacei*, *A. furcatum* и *V. zaregamsianum*.

Наибольшей частотой встречаемости в выделенном комплексе микромицетов строительных материалов на минеральной основе (штукатурки и белого камня известняка) обладали *Parengyodontium album*, *Purpureocillium lilacinum*, *Sarocladium kiliense*, а также представители родов *Aspergillus* и *Penicillium* (рис. 12; табл. 8). При этом видами с наиболее высокими показателями относительного обилия (29,94%–7,29%) и численности (достигающими 10^5 КОЕ/г), то есть наиболее активно развивающимися в изученных материалах, были *Parengyodontium album*, *Sarocladium kiliense*, *Acremonium charticola*, *Lecanicillium gracile* sp. nov., *Purpureocillium lilacinum* и *Acremonium furcatum* (виды перечислены в порядке уменьшения их относительного обилия) (рис. 12, табл. 8).

Видами, обладавшими меньшими показателями относительного обилия, чем предыдущие (3,71%–0,61%), однако выделенными из материалов в существенных количествах, достигающих 10^4 КОЕ/г, были *Penicillium chrysogenum*, *Cladosporium langeronii*, *Lecanicillium* sp., *Mortierella alpina*, *Verticillium zaregamsianum*, *Pseudogymnoascus pannorum*, *Aspergillus versicolor* (виды перечислены в порядке уменьшения их относительного обилия) (рис. 12, табл. 8).

Наконец, виды, выделенные из материалов в небольших количествах, достигающих в пробах 10^3 КОЕ/г, и обладающие очень низким относительным обилием (0,60%–0,03%), это *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp.1, *Fusarium* sp., *Chordomyces antarcticus*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Talaromyces funiculosus*, *Cladosporium cladosporioides*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus sclerotiorum*, *Umbelopsis nana*, *Acremonium* sp.1, *Penicillium glabrum*, *Emericellopsis* sp., *Acremonium* sp.2, *Acremonium* sp.3 и *Tritirachium oryzae* (виды перечислены в порядке уменьшения их относительного обилия) (рис. 12, табл. 8).

Остальные 30 видов с крайне низким относительным обилием (0,02%–0,005%) были выделены из деструктированных материалов в небольших количествах, не отличающихся от таковых в контрольных пробах (10^2 КОЕ/г) и, следовательно, не развивались в исследованных материалах (табл. 8).

Интересно отметить, что на участках с выходом солей на поверхность (высолами) (табл. 4) было обнаружено активное развитие трех видов, *Lecanicillium gracile* sp. nov., *Parengyodontium album* и *Penicillium chrysogenum*, в количествах, достигающих 10^4 КОЕ/г. Также из этих участков были выделены *Acremonium furcatum*, *Acremonium* sp.1, *Sarocladium kiliense* и *Umbelopsis nana* в количествах, достигающих 10^3 КОЕ/г, и *Aspergillus nidulans*, *A. repens*, *A. versicolor*, *Penicillium aurantiogriseum* и *Talaromyces funiculosus* в очень низких количествах (10^2 КОЕ/г). Индекс разнообразия Симпсона комплекса микромицетов, выделенного из участков с обильным выходом солей, составил 0,68. Для сравнения, индекс разнообразия Симпсона комплекса микромицетов, выделенного из участков с признаками деструкции, без учета мест с обильным выходом солей, составил 0,84.

Из проб, отобранных из контрольных участков, были выделены *Cladosporium cladosporioides* (10^2 КОЕ/г), *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* и *Talaromyces funiculosus* (10 КОЕ/г).

3.4. Способность микромицетов, выделенных из материалов, развиваться в образцах штукатурки

Для выяснения способности микромицетов развиваться в штукатурке, было проведено заражение последней тремя видами грибов с наибольшими показателями относительного обилия (рис. 12, табл. 8), *Lecanicillium gracile* sp. nov., *Parengyodontium album* и *Sarocladium kiliense*. Уже через 7 суток после инокуляции стерильных образцов штукатурки спорами этих грибов можно было оценить результат заражения как визуально, так и с использованием микроскопии. Невооруженным глазом развитие перечисленных микромицетов в образцах штукатурки было едва заметно, однако, с

помощью СЭМ, было отмечено, что микромицеты успешно колонизировали материал, образуя обильное спороношение (рис. 13). Видно, что *Sarocladium kiliense* образует обильную слизь, в которую погружен мицелий гриба (рис. 13d,e). Все это, в соответствии с ГОСТ 9.048-89, позволило оценить развитие микромицетов 3 баллами и, вместе с тем, подтвердить их способность развиваться в штукатурке.

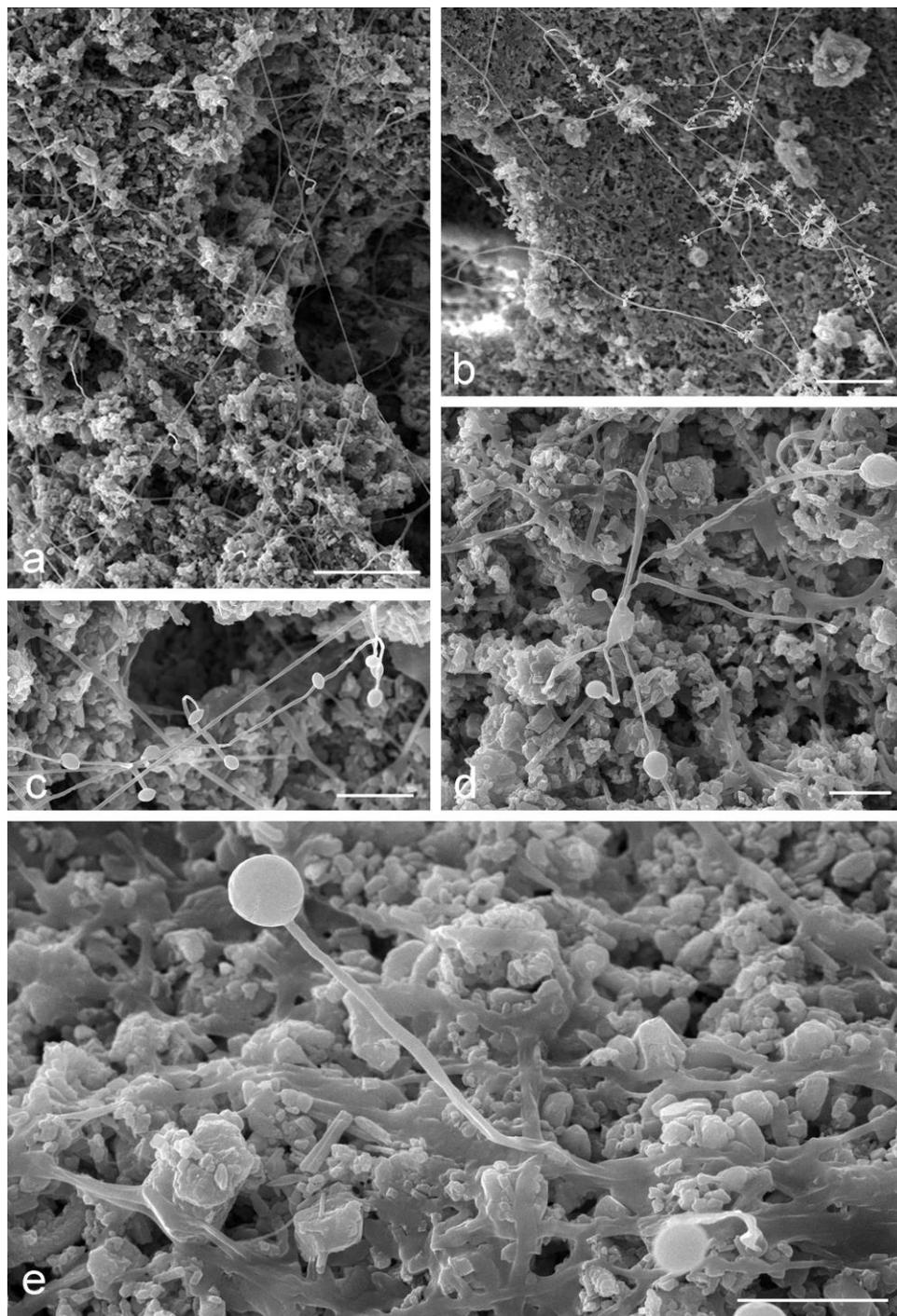
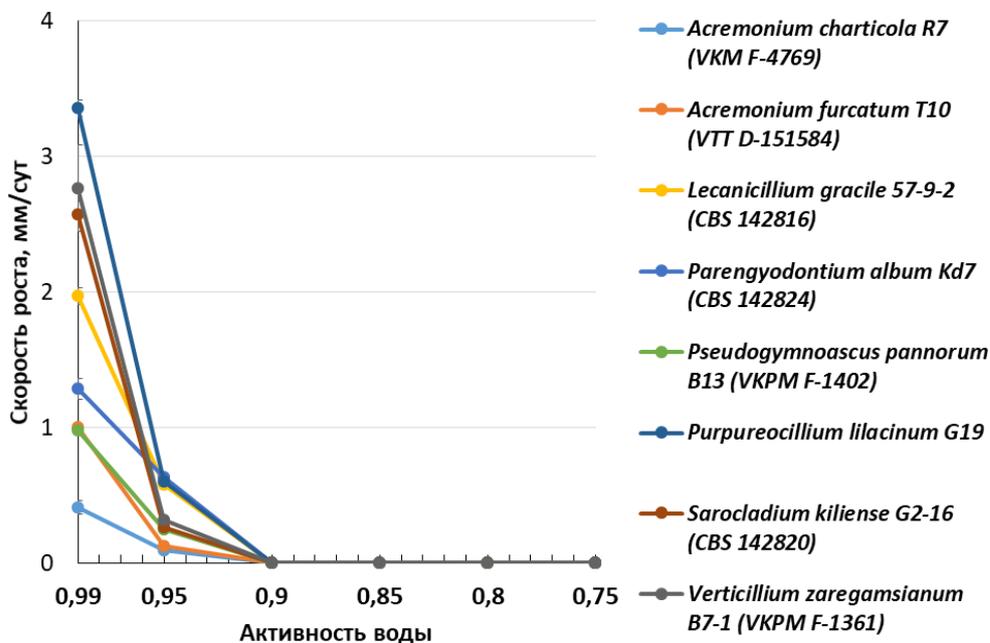


Рисунок 13. Развитие микромицетов в образцах деструктированной штукатурки на 7-е сутки инкубации при ОВ = 99% и температуре 25°C: **a, c** – *Lecanicillium gracile* sp. nov. Kd1 = CBS 142821; **b** – *Parengyodontium album* Kd7 = CBS 142824; **d, e** – *Sarocladium kiliense* G2-16 = CBS 142820. Масштабные отрезки: a, b – 30 мкм; c, e – 10 мкм; d – 20 мкм.

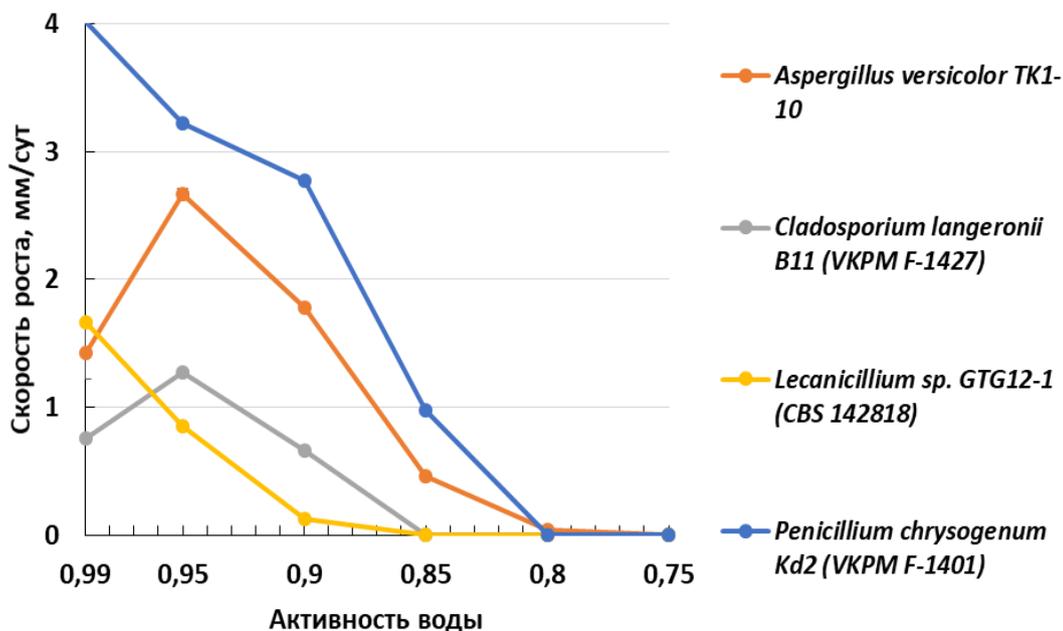
3.5. Экофизиологические особенности микромицетов штукатурки и белого камня известняка

3.5.1. Влияние активности воды субстрата на скорость роста микромицетов

Результат исследования влияния активности воды субстрата на рост и развитие грибов представлен на рисунке 14.



а



б

Рисунок 14. Зависимость скорости роста колоний грибов от a_w среды: **а** – мезофилов; **б** – ксеротолерантов. На графиках представлены средние значения по четырем повторностям и стандартное отклонение.

Как видно из рисунка 14а, среди видов, обнаруженных в материалах в больших количествах (достигающих 10^4 – 10^5 КОЕ/г), 8 (67%) прекращали свой рост при $a_w = 0,90$ и были отнесены к мезофилам. Это *A. charticola*, *A. furcatum*, *L. gracile* sp. nov., *P. album*, *P. lilacinum*, *P. pannorum*, *S. kiliense* и *V. zaregamsianum*. Эти виды обладали наибольшей скоростью роста при $a_w = 0,99$ и значительно замедляли рост уже при $a_w = 0,95$.

Оставшиеся 4 вида (33%) развивались при $a_w = 0,90$ и были отнесены к ксеротолерантам. Рост этих грибов прекращался при $a_w = 0,85$ (*C. langeronii*, *Lecanicillium* sp.), $a_w = 0,80$ (*P. chrysogenum*) или $a_w = 0,75$ (*A. versicolor*). *Lecanicillium* sp. и *P. chrysogenum* предпочитали среду с $a_w = 0,99$, однако могли хорошо переносить и $a_w = 0,95$. *Aspergillus versicolor* и *C. langeronii* предпочитали среду с $a_w = 0,95$.

3.5.2. Скорость роста микромицетов при разных значениях рН среды

Практически все виды грибов, которые присутствовали в материалах в больших количествах, достигающих 10^4 – 10^5 КОЕ/г, хорошо росли в чрезвычайно широком диапазоне значений рН, от слабокислых до щелочных. Исключение составил лишь *P. chrysogenum* (рис. 15d; приложение, рис. П4). Разные штаммы одного и того же вида могли проявлять разный характер адаптации к фактору рН.

Изоляты 9 видов (64%), *Acremonium charticola*, *A. furcatum*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium langeronii*, *Lecanicillium gracile* sp. nov., *Parengyodontium album*, *Pseudogymnoascus pannorum*, *Sarocladium kiliense* и *Verticillium zaregamsianum*, были **сильными алкалотолерантами**. Перечисленные виды слабо снижали, или не снижали совсем скорость роста на средах со щелочными значениями рН. Оптимум значений рН для их роста был часто широким, и всегда включал рН 7. Так, у *A. charticola* (R7), *P. album* (K8), *S. kiliense* (TK1-21; G3-6) и *P. pannorum* (B13) оптимум значений рН лежал в диапазоне рН = 7–9, у *A. furcatum* (KD3) и *S. kiliense* (T03) – в диапазоне рН = 7–10, следовательно, перечисленные виды одинаково хорошо росли как при нейтральных, так и при щелочных значениях рН. *Aspergillus versicolor* (TK1-10), *L. gracile* sp. nov. (Kd1) и *V. zaregamsianum* (B7-1) одинаково быстро росли в широком диапазоне значений рН, 4–9, 5–9 и 5–10 соответственно. У *C. langeronii* (B11), *L. gracile* sp. nov. (57-9-2; G4-5) и *P. album* (B5-1) оптимум рН для роста составил 4–7, 7 и 5–7 соответственно, хотя их скорость роста на средах с щелочными значениями рН была лишь немного ниже, чем с нейтральным рН (рис. 15а; приложение, рис. П1).

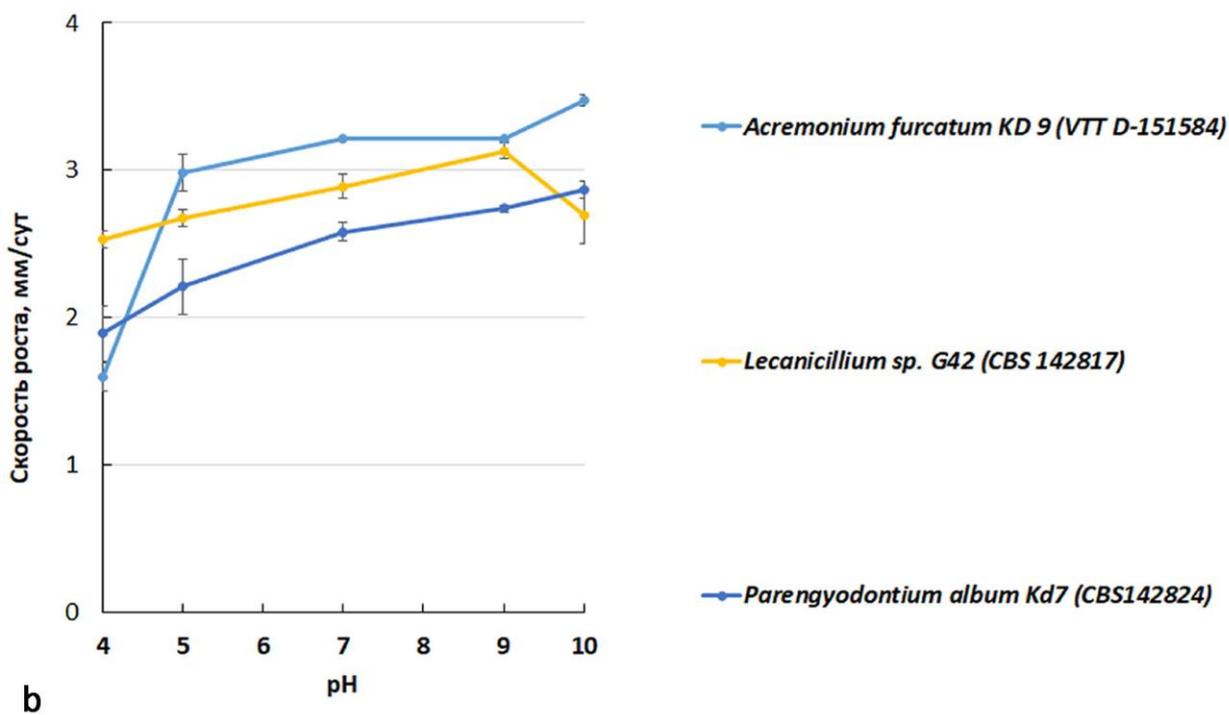
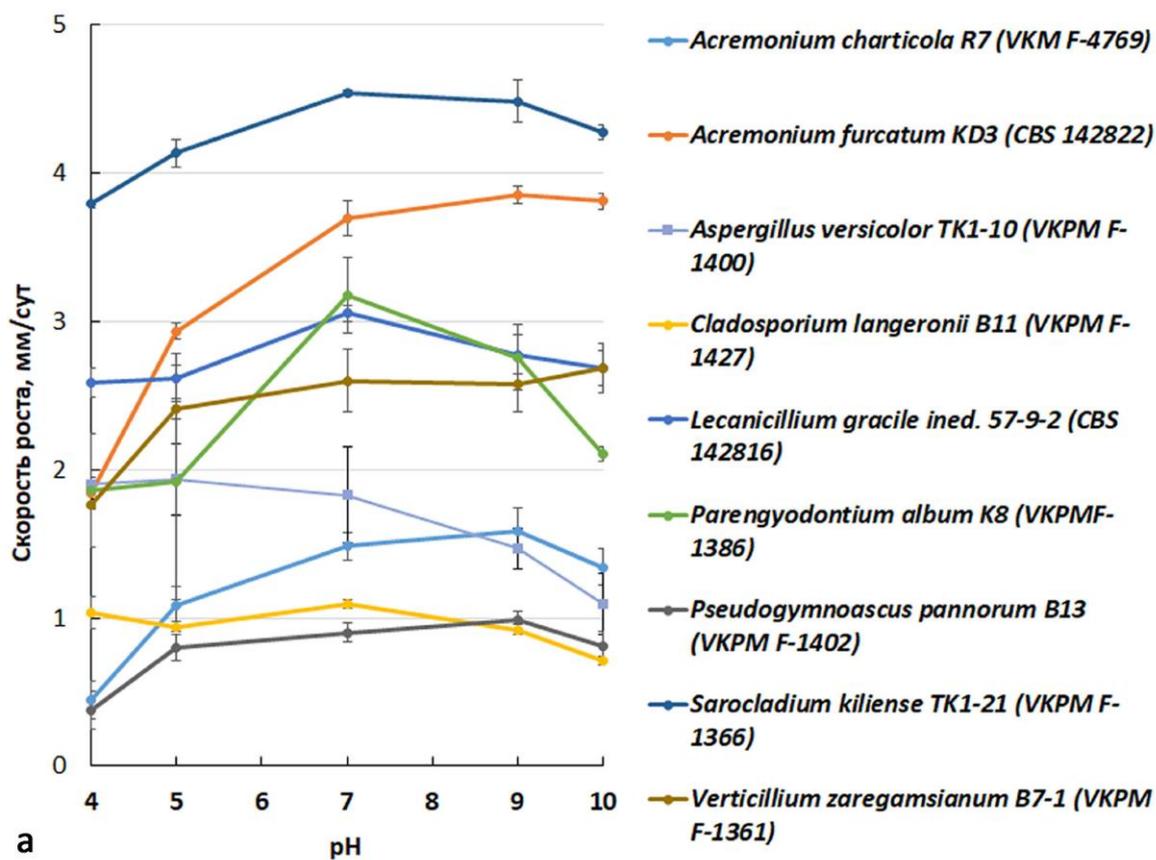
Далее, изоляты 3 видов, *A. furcatum* (KD9; T10), *Lecanicillium* sp. (G42) и *P. album* (Kd7) были **алкалофилами**, так как они наиболее быстро росли на средах с щелочными значениями (рН = 10, рН = 9 и рН = 10 соответственно) (рис. 15b; приложение, рис. П2).

Изоляты одного вида, *Purpureocillium lilacinum*, были **умеренными алкалотолерантами**: наибольшая скорость их роста отмечалась при pH = 5–7 (изолят GTG12-12) и pH = 7 (изоляты G19 и G15), и они заметно снижали скорость роста при щелочных значениях pH (рис.15с; приложение, рис. П3).

Наконец, изоляты *P. chrysogenum* (KD2; ТК1-7; GTG1) были **ацидофилами**, предпочитающими кислую среду и резко снижающими скорость роста в щелочном диапазоне значений pH (рис. 15d; приложение, рис. П4b,c).

Виды, которые присутствовали в материалах в количествах, достигающих 10^3 КОЕ/г, проявили разный характер адаптации к параметру pH. Так, *Acremonium* sp.1 (ТК1-22) и *Fusarium* sp. (ТК1-14) оказались **сильными алкалотолерантами**, предпочитая для роста pH = 7–9 и pH = 7–10 соответственно (рис. 16a). *Chordomyces antarcticus* и *Emericellopsis* sp. были **алкалофилами**, предпочитая pH 10 и pH 9 соответственно (рис. 16b). *Aspergillus flavus* (B4; O1; ТК1-4) и *T. funiculosus* (B2; K3; KD4) были **ацидофилами**, при этом их рост был сильно подавлен при щелочных значениях pH (рис. 16с,d; приложение, рис. П4).

Из 10 образцов деструктированной штукатурки, которые были случайным образом отобраны для измерения pH, один показал слабокислую реакцию (pH = 6), два – нейтральную (pH = 7) и шесть – щелочную (pH = 8 у пяти образцов, pH = 9 у одного образца).



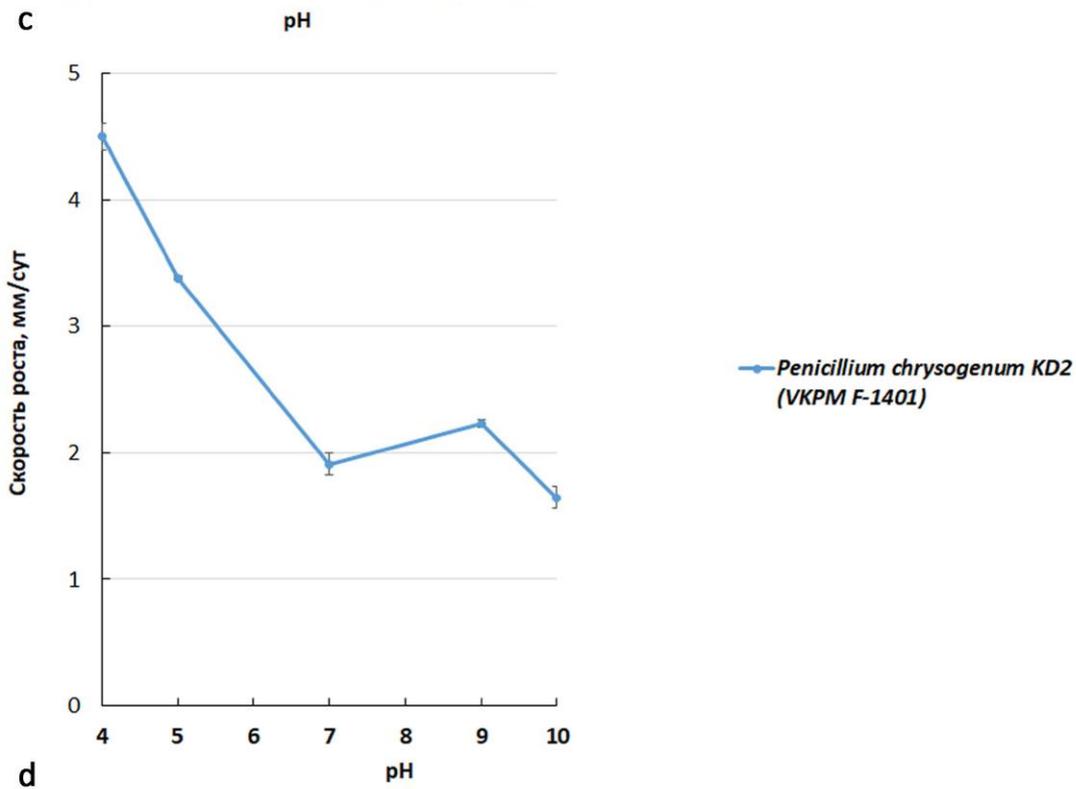
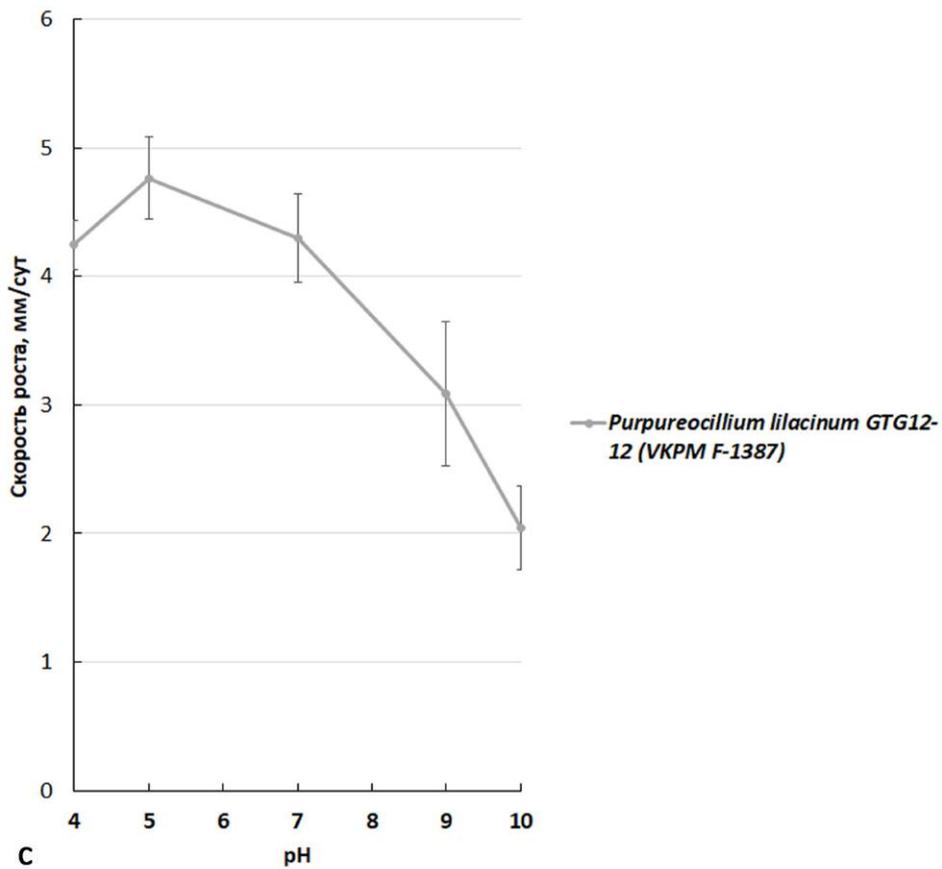
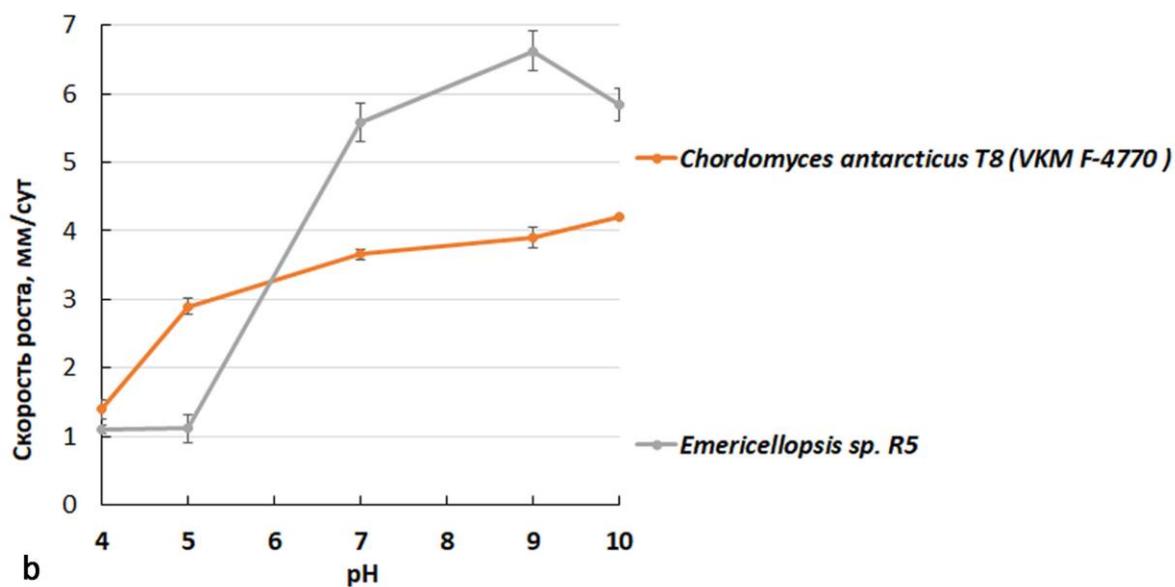
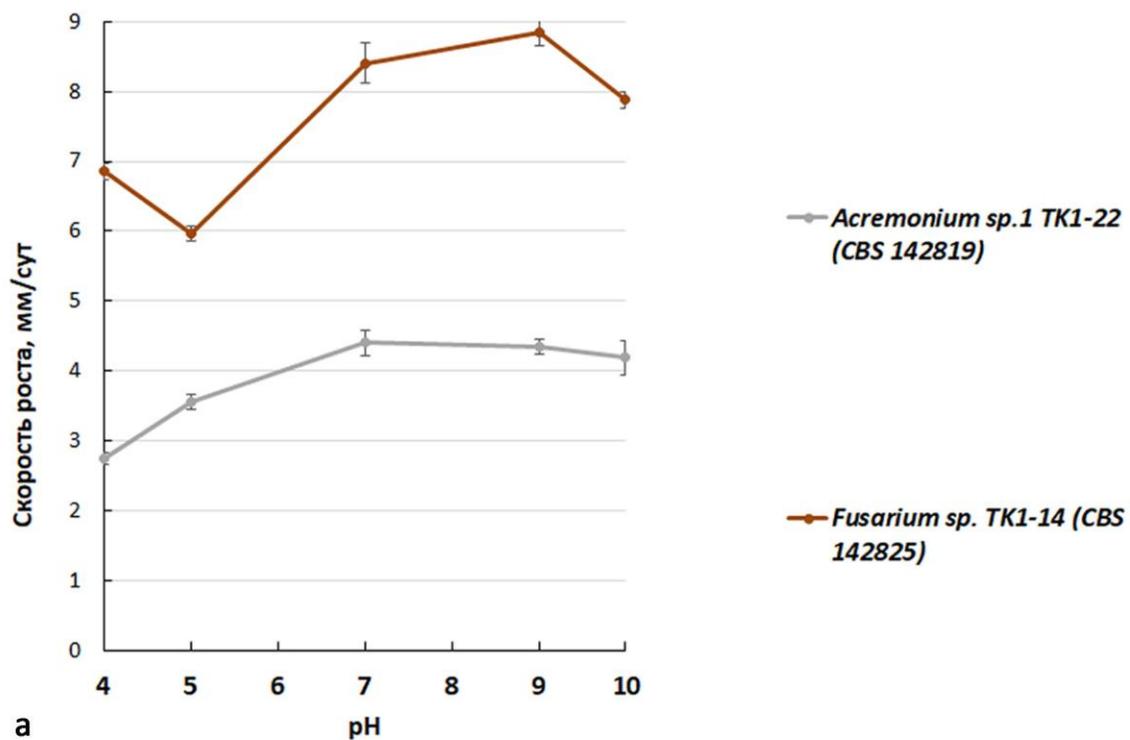


Рис. 15. Зависимость скорости роста колоний грибов, достигающих в материалах 10^4 – 10^5 КОЕ/г, от значений рН среды: **a** – сильных алкалотолерантов; **b** – алкалофилов; **c** – умеренных алкалотолерантов; **d** – ацидофилов. На графиках представлены средние значения по шести повторностям и стандартное отклонение.



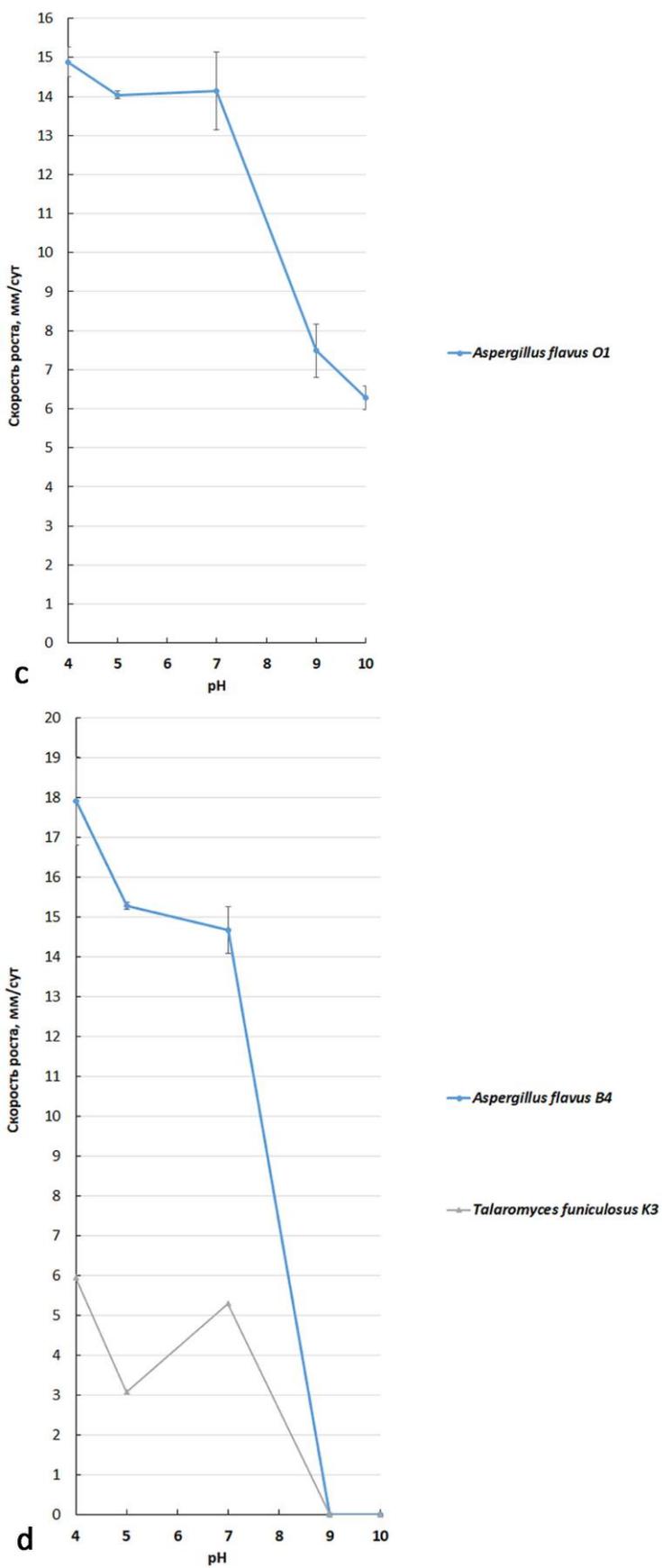


Рис. 16. Зависимость скорости роста колоний грибов, достигающих в материалах 10^3 КОЕ/г, от значений pH среды: **a** – сильных алкалотолерантов; **b** – алкалофилов; **c** –

умеренных акалотолерантов; **d** – ацидофилов. На графиках представлены средние значения по шести повторностям и стандартное отклонение.

3.5.3. Способность микромицетов к растворению карбоната кальция

Результаты теста на способность микромицетов растворять CaCO₃ представлены в таблице 9.

Таблица 9. Способность микромицетов (+) растворять карбонат кальция

Виды	Номер штамма	Номер в коллекции	Растворение CaCO ₃
<i>Acremonium charticola</i>	R7	VKM F-4769	+ ^a
<i>Acremonium furcatum</i>	Kd3	CBS 142822	-
<i>Acremonium furcatum</i>	Kd9	VTT D-151581	-
<i>Acremonium furcatum</i>	T10	VTT D-151584	-
<i>Aspergillus flavus</i>	B4		-
<i>Aspergillus flavus</i>	O1		-
<i>Aspergillus flavus</i>	TK1-4		-
<i>Aspergillus versicolor</i>	N6		-
<i>Aspergillus versicolor</i>	T10		-
<i>Cladosporium langeronii</i>	B11	VKPM F-1427	-
<i>Lecanicillium gracile</i> sp. nov.	57-9-2	CBS 142816	+
<i>Lecanicillium gracile</i> sp. nov.	G4-5	VKPM F-1421	-
<i>Lecanicillium gracile</i> sp. nov.	Kd1	CBS 142821	+
<i>Lecanicillium</i> sp.	G42	CBS 142817	+
<i>Lecanicillium</i> sp.	GTG12-1	CBS 142818	+

<i>Parengyodontium album</i>	B5-1	VKPM F-1422	-
<i>Parengyodontium album</i>	K8	VKPM F-1386	-
<i>Parengyodontium album</i>	Kd7	CBS 142824	-
<i>Penicillium chrysogenum</i>	GTG1		+
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Kd2	VKPM F-1401	+
<i>Penicillium chrysogenum</i>	TK1-7		+
<i>Pseudogymnoascus pannorum</i>	B13	VKPM F-1402	-
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	G15		-
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	G19		-
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	GTG12-2	VKPM F-1387	-
<i>Sarocladium kiliense</i>	G3-6	VKPM F-1362	-
<i>Sarocladium kiliense</i>	To3	VKPM F-1368	-
<i>Sarocladium kiliense</i>	TK1-21	VKPM F-1366	-
<i>Verticillium zaregamsianum</i>	B7-1	VKPM F-1361	-

a – растворение карбоната кальция выражено слабо

Четыре вида из 12 (33 %), достигающих в материалах 10^4 – 10^5 КОЕ/г, показали способность к растворению CaCO_3 . Это *A. charticola*, *Lecanicillium gracile* sp. nov. (виды с высокими показателями численности и относительного обилия), *Lecanicillium* sp. и *P. chrysogenum* (виды с более низкими показателями численности и относительного обилия). При этом способность к растворению CaCO_3 у *Lecanicillium gracile* sp. nov. варьировала в зависимости от штамма (табл. 9). У *A. charticola* способность к растворению CaCO_3 была слабо выражена, зона просветления вокруг колонии гриба была узкой (табл. 9, рис. 17).

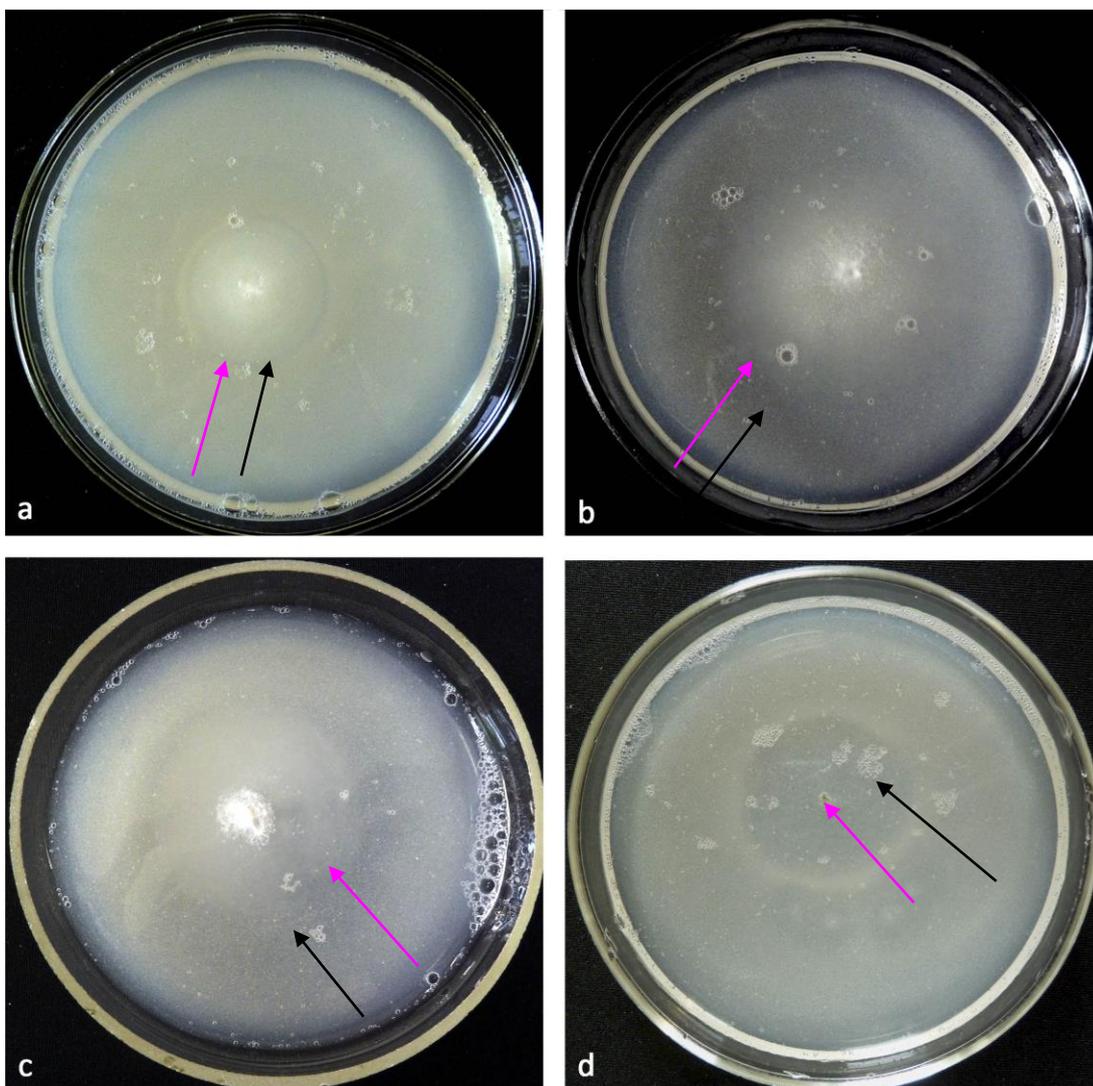


Рис. 17. Растворение CaCO_3 на среде агар с глюкозой и CaCO_3 : **a** – *Acremonium charticola* (R7); **b** – *Lecanicillium* sp. (G42); **c** – *Lecanicillium gracile* sp. nov. (57-9-2); **d** – *Penicillium chrysogenum* (GTG1). **Черной стрелкой** отмечена зона просветления, **розовой стрелкой** отмечен край колонии гриба. Диаметр чашек Петри – 10 см.

3.6. Развитие микромицетов в пыли (Понизовская и др., 2011)

Пыль помещений была пригодна как субстрат для роста всех изученных микромицетов, которые в ней успешно развивались и формировали спороношение (рис. 18–19, табл. 8). При ОВ 99% и 95% у всех изученных видов спороношение наступало уже на 2-е или 3-и сутки от момента посева. Далее, при снижении ОВ до 85%, развитие грибов в пыли замедлялось. Так, нарастание числа проросших спор и образование мицелия происходило медленнее, чем при более высоких ОВ. Спороношение также наступало позже: у *Penicillium aurantiigriseum* – на 16-е сутки, у *Aspergillus versicolor* и *Penicillium chrysogenum* – на 12-е сутки, у *Aspergillus repens* – на 7-е. Развитие двух видов при ОВ 85% было подавлено: конидии *Cladosporium cladosporioides* не проросли вовсе, а у *Alternaria alternata*, хотя и было отмечено прорастание конидий, мицелий не

формировался. При ОВ 75% лишь *Aspergillus repens* был способен прорасти (через неделю от момента посева) и даже формировать спороношение (через 3 недели от момента посева) (рис. 18, табл. 8). При ОВ 65% конидии ни одного из исследованных видов не проросли. Необходимо подчеркнуть, что все изученные микромицеты формировали в пыли помещений полноценные структуры, не отличающиеся по микроморфологии от таковых на стандартных агаризованных средах. Пример спороношения грибов в пыли представлен на рисунке 20.

Динамика роста и развития микромицетов в пыли при различных ОВ была сходна с таковой на агаризованных питательных средах с аналогичными a_w (рис. 19, табл. 10). Также, как и в пыли с понижением ОВ, на агаризованных средах с понижением a_w увеличивались сроки от момента посева до формирования ростовых трубок у конидий (лаг-фаза), образования мицелия и начала спороношения микромицетов. Минимальные значения ОВ, требуемые для прорастания спор в пыли, совпадали с аналогичными минимальными значениями a_w , необходимыми для прорастания спор на средах. Однако длительность фаз при развитии грибов в пыли была, как правило, больше. Так, лаг-фаза прорастания спор в пыли часто превышала таковую на агаризованных средах при аналогичных значениях a_w . Образование мицелия в пыли происходило, как правило, позже, чем на средах. Однако во многих случаях спороношение в пыли наступало раньше, чем на средах. Также, как и в пыли при ОВ 85%, на среде с a_w 0,85 конидии *S. cladosporioides* не прорастали. Интересным является тот факт, что микромицеты *A. versicolor* и *P. aurantiogriseum* при 85% ОВ формировали в пыли зрелые конидии, на средах же с 0,85 a_w спороношения этих грибов не наблюдалось. Аналогично развитию в пыли, на агаризованных средах наиболее устойчивым к низкому уровню влаги оказался *A. repens*. Лишь *A. repens* был способен прорасти при a_w 0,75, и более того, формировать спороношение. Пример прорастания конидий микромицетов при разных значениях a_w представлен на рисунке 17.

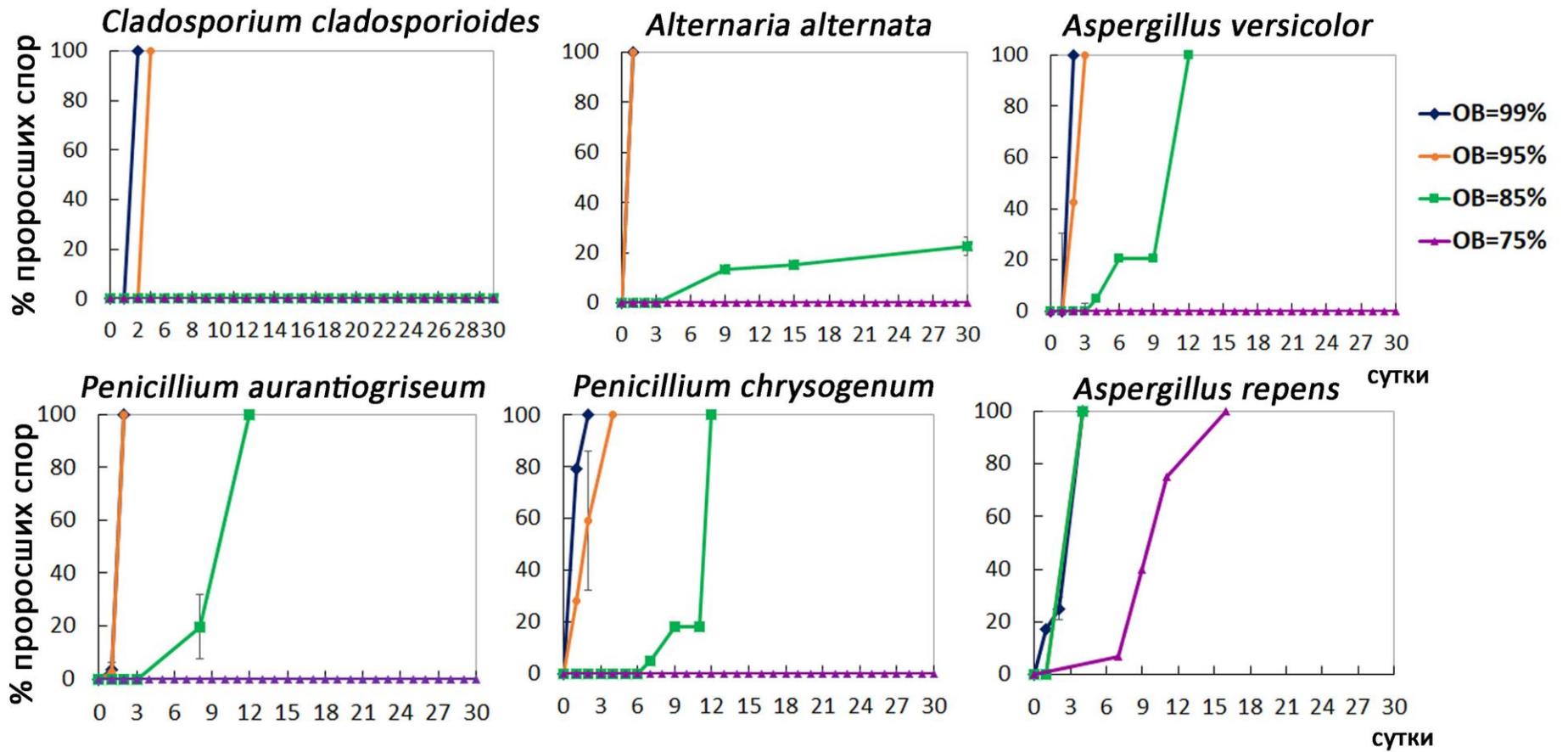


Рис. 18. Динамика прорастания конидий микромицетов в пыли при различной ОВ. Образование мицелия условно обозначали на графиках как 100%-ное прорастание.

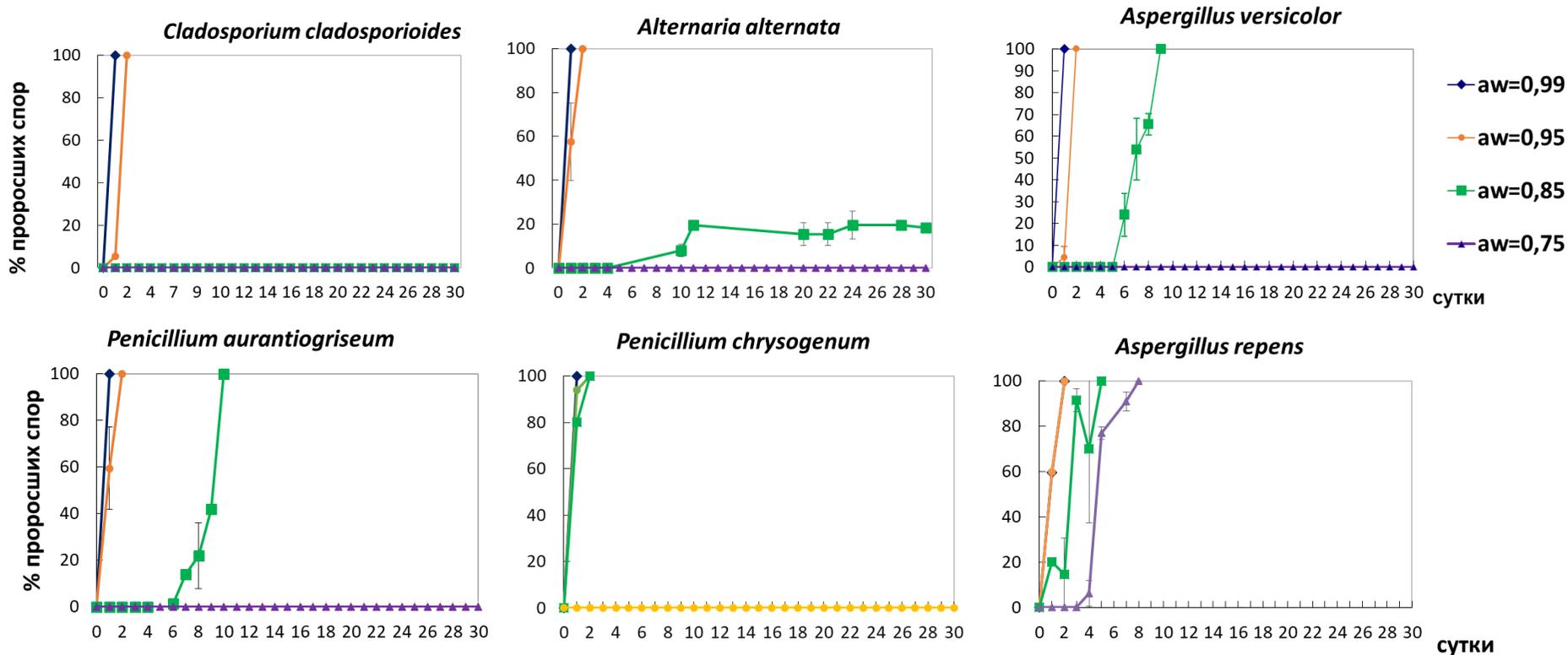


Рис. 19. Динамика прорастания конидий микромицетов на агаризованной среде при различной a_w . Образование мицелия условно обозначали на графиках как 100%-ное прорастание.

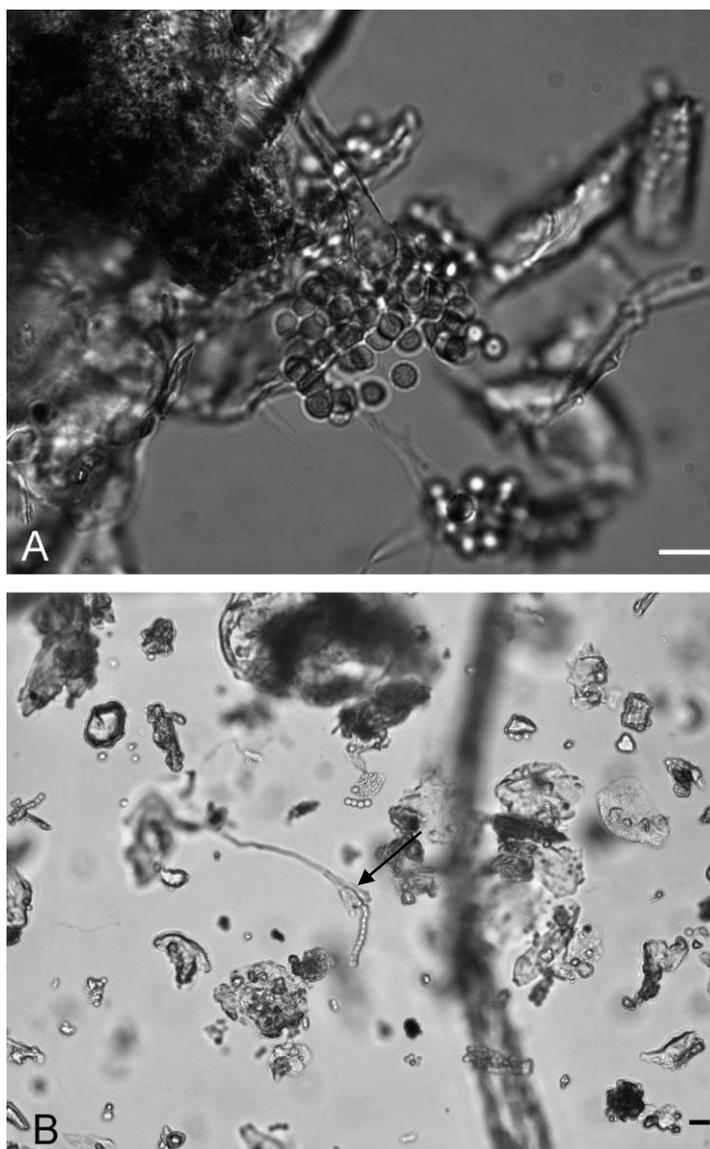


Рисунок 20. Формирование спороношения микромицетов в пыли при ОВ 99%, 3-и сутки. **А** – *Aspergillus repens*; **В** – *Penicillium chrysogenum*. Масштабные отрезки: **А, В** – 10 мкм. Стрелкой указано спороношение микромицета.



Рисунок 21. Проращение конидий *Aspergillus repens* на 1-е сутки инкубации на агаризованных средах при разных значениях a_w : **а** – $a_w = 0,99$; **б** – $a_w = 0,95$; **с** – $a_w = 0,85$; **д** – $a_w = 0,75$. Масштабные отрезки: **а, с, д** – 10 мкм; **б** – 20 мкм.

Что касается зависимости скорости роста колоний исследованных грибов от a_w субстрата, наиболее быстро колонии росли при $a_w 0,99$ и $a_w 0,95$, при дальнейшем снижении a_w рост колоний замедлялся, что соответствует динамике проращения спор грибов (рис. 22).

Таблица 10. Влияние a_w и ОВ на время прорастания, образование мицелия и начало спороношения микромицетов (в сутках) на твердых агаризованных средах и в домашней пыли.

a_w /ОВ	Фазы развития, сутки	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Aspergillus repens</i>	<i>Aspergillus versicolor</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>
0,99/99	Прорастание	1/1	1/1	2/2	1/2	1/1	1/1
	Образование мицелия	1/1	2/3	2/2	1/2	1/2	1/3
	Начало спороношения	2/2	2/3	6/2	2/3	2/2	4/3
0,95/95	Прорастание	1/1	1/2	1/2	1/3	1/1	1/1
	Образование мицелия	1/1	2/3	2/3	2/3	2/2	2/3
	Начало спороношения	4/3	3/3	4/3	3/3	3/3	4/3
0,85/85	Прорастание	10/9	1/3	6/4	-/-	6/8	1/7
	Образование мицелия	-/-	5/4	9/12	-/-	10/12	2/12
	Начало спороношения	-/-	14/7	-/12	-/-	-/16	21/12
0,75/75	Прорастание	-/-	4/7	-/-	-/-	-/-	-/-

	Образование мицелия	-/-	8/16	-/-	-/-	-/-	-/-
	Начало спороношения	-/-	21/21	-/-	-/-	-/-	-/-
0,65/65	Прорастание	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	Образование мицелия	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	Начало спороношения	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-

«-»- отсутствие прорастания, мицелия, спороношения,

«.../...» - длительность фаз развития (в сутках): на средах / в домашней пыли

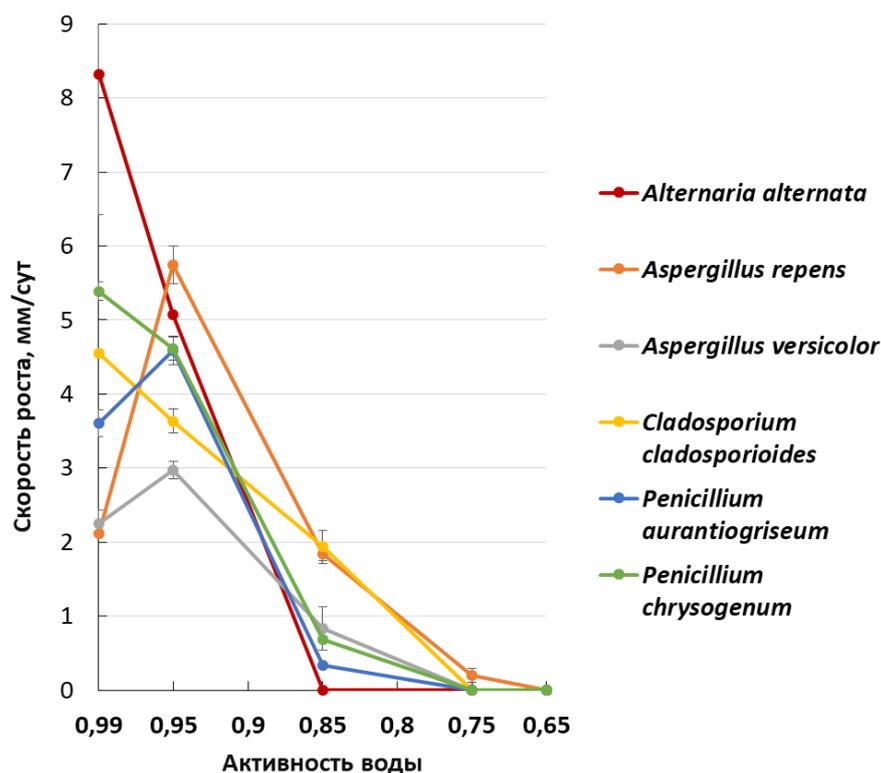


Рисунок 22. Зависимость скорости роста колоний микромицетов от значений a_w среды. На графиках представлены средние значения по четырем повторностям и стандартное отклонение.

Скорость роста всех изученных грибов резко снижалась на среде с a_w 0,85, что соответствовало удлинению фаз развития грибов при данном значении a_w , и лишь колонии *A. repens* были способны расти при 0,75 a_w .

3.7. Сравнение фунгицидного действия препаратов

3.7.1. Сравнение фунгицидного действия препаратов методом бумажных дисков

Данные исследования фунгицидного действия ряда препаратов представлены на рисунках 23–25.

В контрольном варианте опыта зоны подавления роста грибов вокруг дисков отсутствовали. Более того, исследованные микромицеты развивались непосредственно на дисках, обработанных водой. В то же время в опыте препараты в той или иной степени проявили фунгицидный эффект. При этом диаметр зон подавления роста грибов зависел как от препарата, так и от вида гриба, а также от сочетания этих двух факторов (табл. 11).

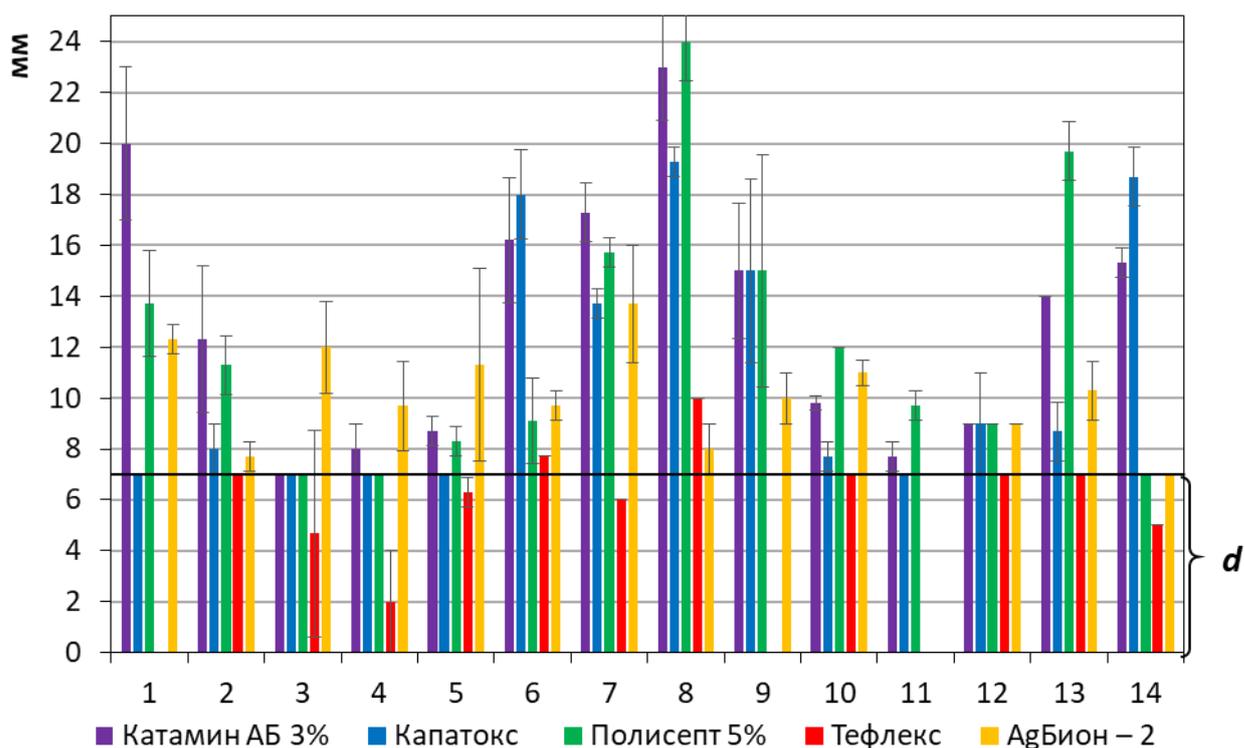


Рисунок 23. Диаметр зоны подавления роста грибов при обработке бумажных дисков 3% Катамином АБ, 5% Полисептом и AgБионом-2. Ось абсцисс – виды исследованных грибов: **1** – *Acrostalagmus luteoalbus*, **2** – *Alternaria alternata*, **3** – *Aspergillus flavus*, **4** – *A. niger*, **5** – *A. terreus*, **6** – *Aureobasidium pullulans*, **7** – *Chaetomium globosum*, **8** – *Microascus brevicaulis*, **9** – *Paecilomyces variotii*, **10** – *Penicillium chrysogenum*, **11** – *P. ochrochloron*, **12** – *Sarocladium kiliense*, **13** – *Stemphylium botryosum*, **14** – *Talaromyces funiculosus*; ось ординат – диаметр зоны подавления роста (мм); **d** – диаметр диска (7 мм).

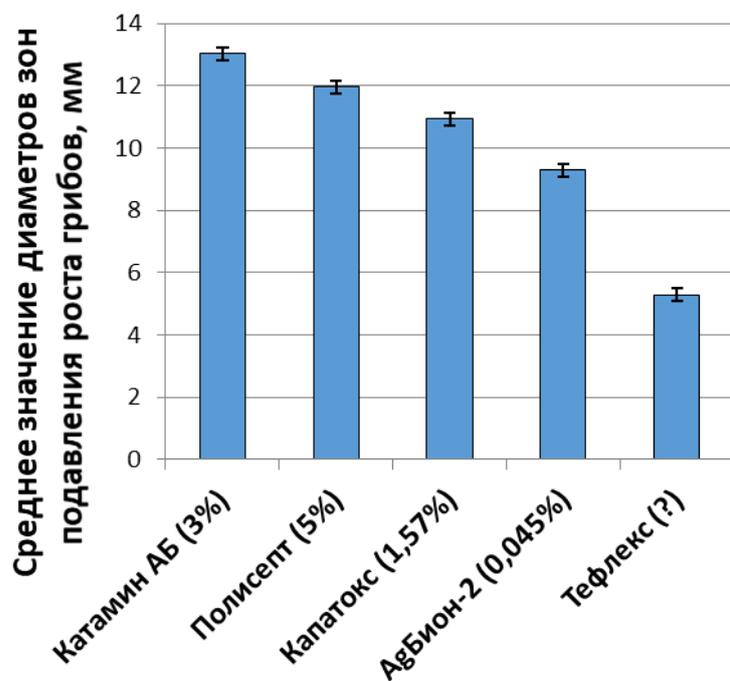


Рисунок 24. Средние значения диаметров зон подавления роста грибов с доверительным интервалом, построенные на основе двухфакторного (фунгицид и вид гриба) дисперсионного анализа.

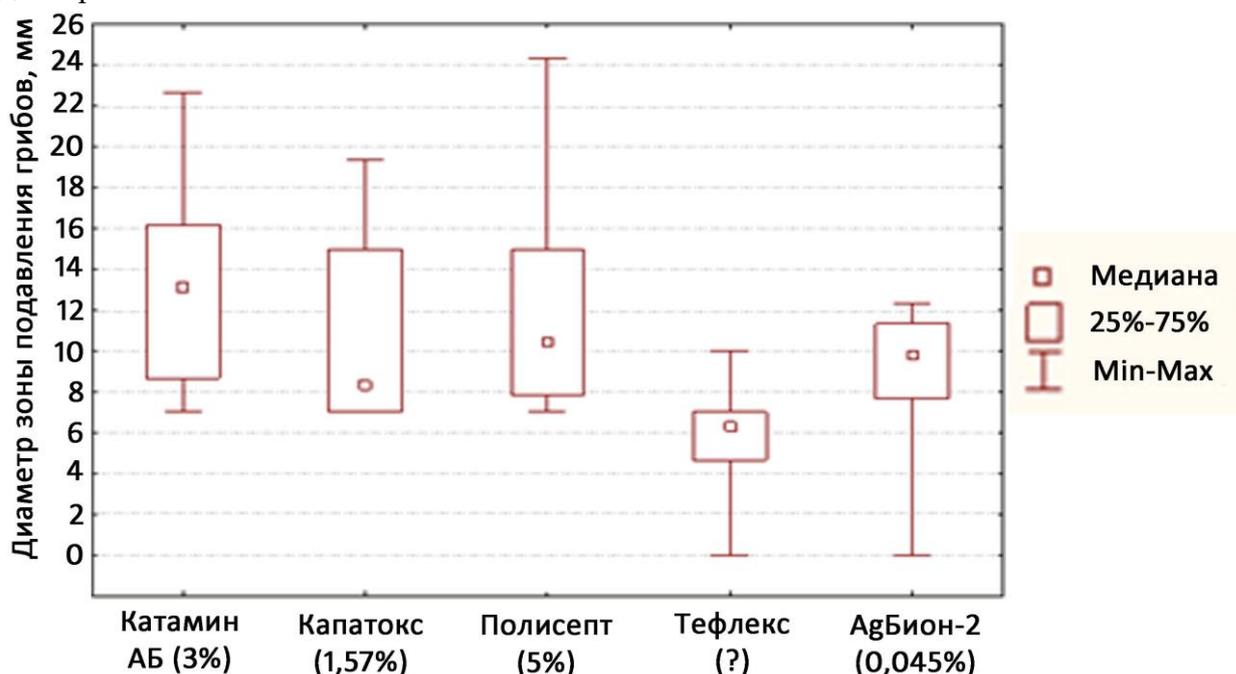


Рисунок 25. Диаграмма размаха диаметров зон подавления роста грибов. **Min-Max** – минимальное и максимальное значения диаметров зон подавления грибов при обработке дисков тем или иным биоцидом; **25%–75%** – межквартильный размах, т.е. 25% данных имеют значения большие, чем верхняя граница размаха, а 25% – меньшие, чем нижняя граница, или равные значению нижней границы.

Таблица 11. Двухфакторный дисперсионный анализ влияния фунгицида и вида гриба на диаметр зоны подавления.

Фактор	Сумма квадратов	Число степеней свободы	Средний квадрат	F-критерий	p (вероятность)
Вид гриба (Sp)	1624,154	13	124,9349	72,3262	0,00
Фунгицид (Fu)	1537,116	4	384,2790	222,4634	0,00
Sp*Fu	2116,147	52	40,6951	23,5589	0,00
Случайное варьирование	241,833	140	1,7274		

Наиболее сильное фунгицидное действие проявил Катамин АБ, далее в порядке убывания фунгицидного действия располагаются Полисепт, Капатокс, АгБион-2 и Тефлекс (рис. 24).

Среднее значение диаметра зон подавления грибов при обработке **Катамином АБ** (3% по ДВ) было больше, чем при обработке остальными исследованными препаратами (рис. 24). Более того, препарат был эффективен в отношении подавляющего большинства

(93%) изученных видов (рис. 23). Так, Катамин АБ хорошо ингибировал рост всех видов, за исключением *Aspergillus flavus*, у которого угнетение роста происходило только на обработанном диске, диаметр которого составлял 7 мм (рис. 23; минимальное значение, равное 7 мм, на рис. 25). В отношении *Acrostalagmus luteoalbus* препарат был эффективнее остальных исследованных фунгицидов (рис. 23).

Полисепт (5% по ДВ) проявил более слабое фунгицидное действие, чем Катамин АБ (рис. 24). Он вызывал подавление роста у 79% изученных видов. В отношении *A. flavus*, *Aspergillus niger* и *Talaromyces funiculosus* препарат проявил слабую активность, угнетение роста перечисленных видов происходило только на обработанном диске (рис. 23; минимальное значение, равное 7 мм, на рис. 25). В отношении *Penicillium chrysogenum*, *P. ochrochloron* и *Stemphylium botryosum* действие Полисепта было эффективнее остальных исследованных препаратов (рис. 23).

Капатокс (1,57% по ДВ) проявил выраженное фунгицидное действие в отношении 64% изученных видов. *Acrostalagmus luteoalbus*, *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. terreus* и *P. ochrochloron* проявили устойчивость к препарату, подавление роста перечисленных видов происходило только на обработанном диске (рис. 23; нижняя граница межквартильного размаха, равная 7 мм, на рис. 25). В отношении *T. funiculosus* действие Капатокса было эффективнее остальных исследованных препаратов (рис. 23).

АгБион-2 (0,045% по ДВ) проявил выраженное фунгицидное действие в отношении 86% от числа изученных видов. Между тем среднее значение диаметров зон подавления при обработке этим препаратом было ниже таковых Полисепта и Капатокса (рис. 24). У *T. funiculosus* подавление роста происходило только на обработанном диске, в то время как на *P. ochrochloron* препарат не действовал вовсе, рост этого гриба наблюдался даже на обработанном диске (рис. 23; минимальное значение, равное 0 мм, на рис. 25). Вместе с тем, лишь АгБион-2 ингибировал развитие *A. flavus* (рис. 23). К АгБиону-2, разведенному в 10 раз, оказался чувствителен лишь *Sarocladium kiliense* (зона ингибирования 9 мм). Все остальные виды развивались даже на обработанных дисках.

Тефлекс проявил наиболее слабое фунгицидное действие из всех изученных препаратов (рис. 24). Лишь у двух видов (14%), *Aureobasidium pullulans* и *Microascus brevicaulis*, была зона подавления роста при обработке этим препаратом (рис. 23). В отношении трех видов (21%) действие препарата было таким же, как в контроле, то есть при обработке дисков водой (рис. 23; минимальное значение, равное 0 мм, на рис. 25).

Наибольшую устойчивость к исследованным биоцидам проявил *A. flavus*, у которого зона подавления роста вокруг диска была отмечена лишь при применении

AgБиона-2. Наименьшей устойчивостью обладал *M. brevicaulis*, он был чувствителен ко всем изученным биоцидам. Зона подавления его роста при обработке 3% Катамином АБ и 5% Полисептом была максимальна по сравнению с остальными видами грибов и составила 22,6 мм и 24,3 мм соответственно (рис. 23).

При воздействии биоцидов на микромицеты в условиях пониженной a_w , у большинства видов зона подавления роста вокруг диска увеличилась (рис. 26). Лишь у трех видов, *P. variotii*, *M. brevicaulis* и *S. botryosum*, зоны подавления на средах со значениями $0,99 a_w$ и $0,95 a_w$ не различались.

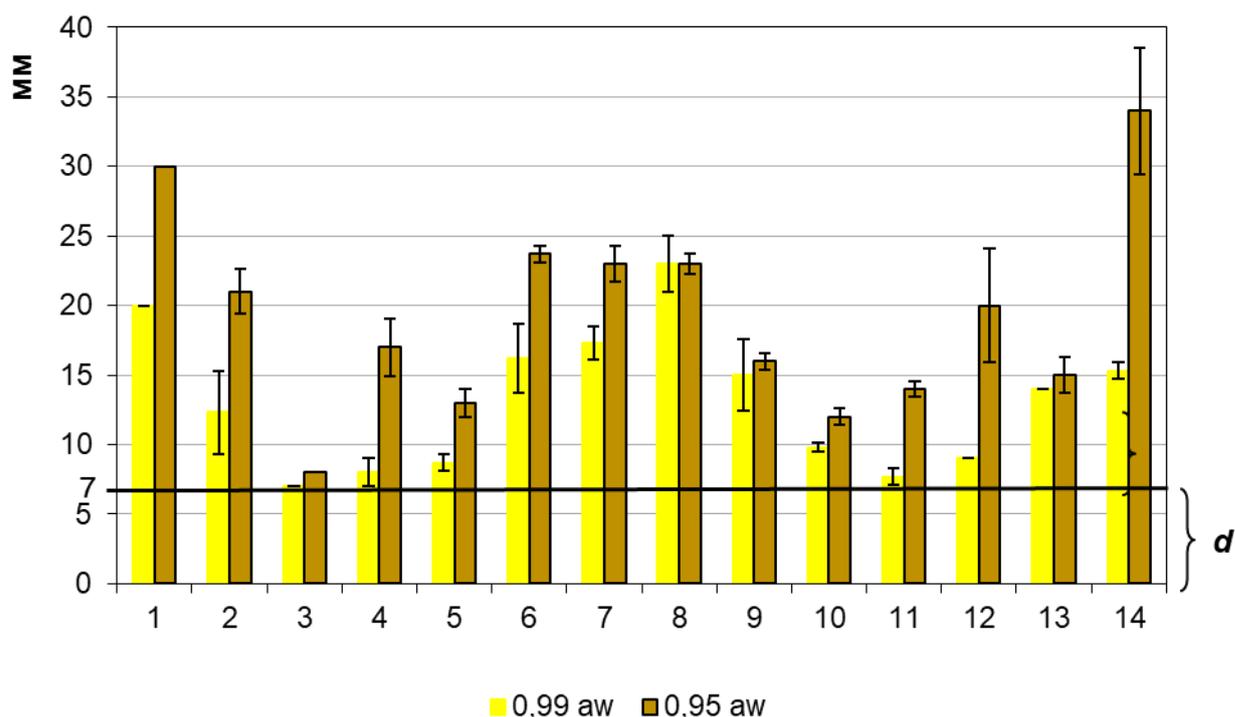


Рисунок 26. Зависимость фунгицидного действия 3%-го Катамина АБ от уровня активности воды (a_w) при обработке бумажных дисков. Ось абсцисс – виды исследованных грибов: **1** – *Acrostalagmus luteoalbus*, **2** – *Alternaria alternata*, **3** – *Aspergillus flavus*, **4** – *A. niger*, **5** – *A. terreus*, **6** – *Aureobasidium pullulans*, **7** – *Chaetomium globosum*, **8** – *Microascus brevicaulis*, **9** – *Paecilomyces variotii*, **10** – *Penicillium chrysogenum*, **11** – *P. ochrochloron*, **12** – *Sarocladium kiliense*, **13** – *Stemphylium botryosum*, **14** – *T. funiculosus*; ось ординат – диаметр зоны подавления роста (мм); **d** – диаметр диска (7 мм).

3.7.2. Сравнение фунгицидного действия препаратов при обработке строительных материалов

При обработке участка стены водой (контрольный вариант опыта) число КОЕ выделяемых грибов до обработки, через 1, 7, 14 и 30 суток было приблизительно одинаковым.

Таблица 12. Динамика КОЕ грибов при обработке фунгицидами.

Фунгицид	Основные контаминанты	КОЕ/г				
		До обработки	После обработки через:			
			1 сутки	7 суток	14 суток	30 суток
Контроль	<i>Parengyodontium album</i>	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
	<i>Acremonium</i> sp.	10 ³	0	0	10 ³	10 ⁴
	Другие	10 ²	10 ²	0	0	10 ²
	Всего	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
Катамин АБ	<i>Parengyodontium album</i>	10 ³	0	0	0	0
	<i>Acremonium</i> sp.	10 ³	0	0	10	0
	Другие	10 ³	10 ²	10 ²	10 ²	10 ²
	Всего	10 ⁴	10 ²	10 ²	10 ²	10 ²
Капатокс	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	10 ⁴	10 ⁴	0	10 ³	0
	Другие	0	0	10 ²	10 ⁴	10 ⁴
	Всего	10 ⁴	10 ⁴	10 ²	10 ⁴	10 ⁴
Полисепт	<i>Mortierella alpina</i>	10 ³	0	0	0	0
	Другие	0,5	10 ³	10 ³	10 ³	10 ⁴
	Всего	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ⁴
АгБион-2	<i>Parengyodontium album</i>	10 ³	0	10 ²	0	0
	<i>Sarocladium strictum</i>	10 ⁴	10 ³	10 ²	10 ³	0
	<i>Purpureocillium lilacinum</i>	10 ⁴	10 ²	0	10 ²	0
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	10 ²	0	0	0	0
	Другие	10 ³	10 ³	10 ²	0	10 ²
	Всего	10 ⁴	10 ³	10 ³	10 ³	10 ²

Наибольшую активность из всех исследованных биоцидов проявил 3% Катамин АБ (табл. 12). Уже через сутки после обработки этим препаратом численность выделяемых из

штукатурки грибов снизилось с 10^4 до 10^2 КОЕ/г, причем в пробах исчезли основные контаминанты *Parengyodontium album* и *Acremonium* sp. Через 7 и 14 суток после обработки число КОЕ грибов осталось примерно на том же уровне, что и через сутки. *Parengyodontium album* не был обнаружен за все время наблюдения, а *Acremonium* sp. был выделен через 14 суток в очень низких количествах (10 КОЕ/г). Снижение численности грибов имело устойчивый характер, и через 30 суток после обработки число грибных КОЕ не увеличилось.

На втором месте по эффективности фунгицидной обработки оказался AgБион-2. Через сутки после обработки основной контаминант *Parengyodontium album* элиминировался, а количество других грибов уменьшилось: *Sarocladium strictum* с 10^4 до 10^3 КОЕ/г, *Purpureocillium lilacinum* с 10^3 до 10^2 КОЕ/г, а общее число грибных КОЕ с 10^4 до 10^3 КОЕ/г. Однако действие AgБиона-2 было неравномерным, и в некоторых участках число КОЕ/г пробы оставалось высоким.

Полисепт и Капатокс оказались неэффективны: после обработки Капатоксом число КОЕ не изменилось, составляя 10^4 КОЕ/г, а Полисептом – даже возросло через 30 суток после обработки с 10^3 КОЕ/г до 10^4 КОЕ/г.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

4.1. Особенности комплексов микромицетов штукатурки и белого камня известняка в интерьерах памятников культуры

Факт обнаружения с помощью СЭМ грибного мицелия и биопленок в образцах штукатурки, отобранных нами внутри помещений (рис. 5), и активного развития микромицетов в стерильных образцах штукатурки при инокуляции образцов спорами грибов (рис. 13) согласуется с данными о том, что микромицеты способны осваивать каменистые субстраты внутри помещений (Sterflinger, 2000; Warscheid, Braams, 2000; Gorbushina et al., 2004; Gadd, 2007, 2017; Suihko et al., 2007; Scheerer et al., 2009).

В нашем исследовании не было выявлено взаимосвязи между видовым составом выделенных микромицетов и местонахождением памятников. Также не выявлено взаимосвязи между видовым составом и типом материала (рис. 6). Это согласуется с данными литературы о том, что на развитие и структуру комплексов микромицетов минеральных строительных материалов влияют, в первую очередь, локальные микроклиматические параметры, такие как доступность воды, питательных веществ, значение рН субстрата и проч., которые могут значительно варьироваться в пределах одного помещения, и даже на соседних участках одной и той же стены (Dornieden et al., 2000; Warscheid, Braams, 2000; Власов, 2008; Gómez-Cornelio et al., 2012, 2016; Trovão et

al., 2019). Метагеномные исследования каменистых субстратов в помещениях подтверждают, что видовой состав и структура биоты строительного камня значительно отличаются на разных участках одного и того же материала (De Natale et al., 2020).

По мнению исследователей (Ребрикова, 1999; Sterflinger, Piñar, 2013), даже немного повышенная ОВ в помещении при плохой циркуляции воздуха может привести к локальному значительному повышению уровня увлажненности субстратов в застойных, плохо проветриваемых зонах из-за перепада температур, и, как следствие, к грибной контаминации субстратов в этих зонах. В частности, при повышенной ОВ воздуха из-за разницы температур между воздухом помещения и поверхностью стен, которые медленно прогреваются, может происходить образование конденсата на стенах (Ребрикова, 1999), что в результате провоцирует колонизацию стен микромицетами. Неблагоприятными для развития микроорганизмов нужно считать следующие параметры: ОВ = 50–60% при температуре воздуха 18–20°C. Именно их рекомендуют специалисты для поддержания микроклимата в музейных фондах (Ребрикова, 1999), хотя даже в таких условиях иногда отмечается слабый рост экстремально ксерофильных видов грибов на некоторых экспонатах, способных аккумулировать и удерживать в себе влагу (Ребрикова, 1999; Ребрикова, Понизовская, 2015). В трех объектах (21%) в нашем исследовании отмечалась ОВ воздуха, значительно превышающая рекомендованную.

Повышенный уровень влагосодержания субстратов не только провоцирует развитие микроорганизмов, но и влечет за собой химическое и физическое разрушение материалов. В сооружениях с нарушенной гидроизоляцией, а именно с незащищенностью конструкций от почвенной влаги (12 объектов, 86% исследованных) или от талых дождевых вод (1 объект, 7% исследованных), вода с растворенными в ней солями (карбонатами, хлоридами, нитратами, сульфатами и т.д.) мигрирует сквозь поры строительных материалов. Эти соли могут выкристаллизовываться при подсыхании материалов, что оказывает механическое давление на материалы и приводит к их разрушению. Могут происходить многократные циклы растворения и перекристаллизации минеральных веществ (активные геохимические процессы). Более того, вода из почвы может содержать в себе органические кислоты, которые химически разрушают материал (Ребрикова, 1999; Papida et al., 2000; Piñar et al., 2009). В нашем исследовании в зонах кристаллизации водорастворимых солей видовое разнообразие грибов было сильно ниже, чем таковое в других участках с признаками деструкции, что полностью согласуется с результатами предыдущих исследований (Piñar et al., 2009). Это объясняется тем, что высокий осмотический потенциал субстрата, который создается в этих участках за счет

повышенной концентрации солей, подавляет развитие грибов (Ребрикова, 1999; Piñar et al., 2009). Между тем, в зонах кристаллизации солей получают преимущество галофильные и галотолерантные виды грибов (Piñar et al., 2009). Эта закономерность в нашем исследовании была подтверждена активным развитием на данных участках трех видов, а именно *Lecanicillium gracile* sp. nov., *P. album* и *P. chrysogenum*. Галотолерантные свойства *P. album* и *P. chrysogenum* были отмечены ранее и другими исследователями (Gorbushina, Petersen, 2000; Gunde-Cimerman et al., 2009).

Примерно одинаково высокие показатели видового разнообразия микромицетов в обоих исследованных материалах, по-видимому, отражают сильную зависимость микобиоты от микроклиматических параметров, создающихся в каждом отдельном участке материала. Различие же видового состава грибов, выделенных из этих материалов, связано как с влиянием параметров микроклимата, так и с разницей в химических и физических свойствах штукатурки и известняка. Однако комплексы видов микромицетов, которые наиболее активно развивались в исследованных материалах и обладали высокой функциональной значимостью в процессе их биоповреждения, были сходными. Так, подавляющее большинство представителей указанных комплексов (85,7% на штукатурке и 71% на известняке соответственно) принадлежали к Нуросреомыцетиде (Sordariomycetes). Более того, для обоих комплексов были характерны микромицеты с *Acremonium*-подобной морфологией. Это представители родов *Acremonium*, *Lecanicillium*, *Sarocladium* и *Verticillium* (рис. 11). По данным литературы (Grum-Grzhimaylo et al., 2016), для Нуросреомыцетиде характерны щелочеустойчивые виды. Своеобразие комплексов грибов, способных активно развиваться на изученных материалах, является следствием того, что штукатурка и белый камень известняк характеризуются недостатком легкодоступных органических веществ, обилием минеральных солей, а также диапазоном значений pH от слабокислых до щелочных (pH = 6–9 в наших образцах).

Видами, обладающими наибольшими показателями относительного обилия, и следовательно, наиболее активно развивающимися в помещениях исследованных объектов на штукатурке и белом камне, были *Acremonium charticola*, *A. furcatum*, *Lecanicillium gracile* sp. nov., *Parengyodontium album*, *Purpleocillium lilacinum* и *Sarocladium kiliense* (рис. 12). *Acremonium charticola*, *A. furcatum*, *P. album*, *P. lilacinum* и *S. kiliense* встречаются в различных местообитаниях и способны переносить стрессовые условия. Так, *A. charticola*, *A. furcatum*, *P. lilacinum* и *S. kiliense* были отмечены на известняке в природных местообитаниях (Ellanskaya et al., 2000; Nagai et al., 1998; Wasser et al., 1995), *A. furcatum* и *P. lilacinum* были выделены из содовых солончаков (Grum-

Grzhimaylo et al., 2016), *A. furcatum* – из морской воды (Gallardo et al., 2006), а *P. album* – из морских отложений (Tsang et al., 2016). Кроме того, *P. album*, *P. lilacinum* и *S. kiliense* вызывают оппортунистические инфекции у позвоночных животных (Luangsa-ard et al., 2011; Perdomo et al., 2011; Tsang et al., 2016). Эти три вида выделяются из шерсти животных, причем показано, что *P. album* и *P. lilacinum* обладают кератинофильными свойствами (Šimonovičová et al., 2004a; Włyskal, 2009). Более того, *Parengyodontium album* и *P. lilacinum* также являются патогенами беспозвоночных (Lopez et al., 2014; Luangsa-ard et al., 2011; Tsang et al., 2016). И наконец, изоляты *A. charticola*, *A. furcatum*, *P. album*, *P. lilacinum* и *S. kiliense* были отмечены в растительном материале (Gams, 1971; Lou et al., 2013; Luangsa-ard et al., 2011; Tsang et al., 2016). Представители рода *Lecanicillium* известны своими энтомопатогенными и микофильными свойствами (Zare, Gams, 2001).

Для перечисленных видов характерно отсутствие выраженных трофических предпочтений. Вследствие высокой ферментативной активности (табл. 13) они способны использовать для питания широкий спектр органических веществ, таких как остатки растений, членистоногих, бактерии, другие грибы (Gallardo et al., 2006; Gams, 1971; Gorbushina, Petersen, 2000; Lou et al., 2013; Luangsa-ard et al., 2011; Srivastava et al., 1981; Tarayre et al., 2015; Tsang et al., 2016). Как можно видеть из таблицы 13, перечисленные виды способны разлагать различные клеточные компоненты благодаря активности протеаз, эстераз, фосфатаз и хитиназ. Эта способность крайне важна в условиях недостатка легкодоступных органических веществ, которые создаются на минеральных субстратах. Особенно это актуально для интерьеров, в которых органической составляющей, поступающей с атмосферными загрязнениями, крайне мало, и ведущую роль играют трофические отношения между организмами, входящими в сообщество колонизаторов каменистых субстратов (Dornieden et al., 2000).

Интересно отметить, что некоторые протеазы *P. album* и *S. kiliense*, а также кератинолитическая протеаза *P. lilacinum* обладают высокой активностью в очень широком диапазоне значений pH, а именно pH = 6–12, pH = 5–12,5 и pH = 4–9 соответственно (Van Heyningen, Secher, 1971; Chellappan et al., 2011; Cavello et al., 2013).

Таблица 13. Ферментативная активность видов, которые наиболее активно развивались на штукатурке и белом камне известняке.

Виды грибов	Ферменты						Ссылки
	целлюлаза	ксиланаза	α -амилаза	хитиназа	протеаза	эстераза	
<i>Acremonium charticola</i>	+						Semenov et al., 1996
<i>Acremonium furcatum</i>	+	+			+		Palaniswamy et al., 2008; Błyskal, 2009; Saleem et al., 2013
<i>Parengyodontium album</i>			+	+	+	+	Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Šimonovičová et al., 2004a; Błyskal, 2009; Chellappan et al., 2011; Ali et al., 2014
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	+	+		+	+	+	Błyskal, 2009; Cavello et al., 2013; Prasad et al., 2015; Wang et al., 2016; Xie et al., 2016
<i>Sarocladium kiliense</i>	+	+			+	+	Van Heyningen, Secher, 1971; Chesson et al., 1978; Błyskal, 2009; Tarayre et al., 2014

Таким образом, перечисленные протеазы могут быть активны при развитии этих видов на штукатурке и известняке.

Parengyodontium album, показатели относительного обилия и встречаемости которого значительно превышали таковые всех остальных выделенных видов, часто встречается в зонах деструкции настенной живописи (Jeffries, 1986; Gorbushina, Petersen, 2000), белого камня (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Rebrikova, 1999; Trovão et al., 2019), а также кладочных и штукатурных растворов (Berner et al., 1997; Rebrikova, 1999) внутри помещений. Более того, этот гриб, также как и в нашем исследовании, был обнаружен на участке стены из известняка, покрытом налетом солей, внутри собора (Trovão et al., 2019). Колонизирует он и каменистые субстраты, экспонирующиеся на открытом воздухе (Šimonovičová et al., 2004b).

Представители родов *Acremonium* и *Sarocladium* отмечаются на строительных материалах на минеральной основе многими авторами (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Berner et al., 1997; Ребрикова, 1999; Gorbushina, Petersen, 2000; Suihko et al., 2007). В частности, так же, как и в нашем исследовании, отмечено развитие *A. charticola*, *A. furcatum* и *S. kiliense* на каменистых субстратах внутри помещений (Berner et al., 1997; Ребрикова, 1999; Gorbushina, Petersen, 2000; Suihko et al., 2007). Кроме того, представители этих двух родов встречаются на каменистых субстратах, экспонирующихся на открытом воздухе (Gorbushina et al., 2002; Gómez-Cornelio et al., 2016).

Purpureocillium lilacinum отмечается на каменистых субстратах. Так, он встречается на известняковых отложениях (Wasser et al., 1995; Ellanskaya et al., 2000), а также на архитектурных памятниках из мыльного камня (талькохлорита) (Boniek et al., 2019). Более того, вид был обнаружен и на минеральных строительных материалах в помещениях: на деструктированном цементе внутри исторического здания (Guerra et al., 2019) и на поверхности стен из туфа внутри усыпальниц (Sugiyama et al., 2017). Интересно, что в обоих случаях наряду с *P. lilacinum* были выделены изоляты *Lecanicillium* spp. (Sugiyama et al., 2017; Guerra et al., 2019). Что касается представителей с *Lecanicillium*-подобной морфологией, есть упоминания об обнаружении *Akanthomyces lecanii* (*Lecanicillium lecanii*, *Verticillium lecanii*) на стенах внутри соборов в Австрии, Германии и России (Berner et al., 1997; Gorbushina and Petersen, 2000; Rebrikova, 1999), а также *Simplicillium lamellicola* (*Verticillium lamellicola*) на строительном камне внутри собора в России (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990). Однако в указанных работах микромицеты были идентифицированы только на основании морфологических признаков, которых недостаточно для определения представителей родов *Akanthomyces*, *Lecanicillium*,

Simplicillium и *Verticillium*. Sugiyama et al. (2017) предполагают ассоциацию *P. lilacinum* и *Lecanicillium* spp. с членистоногими, такими как клещи и коллемболы, которые способствуют развитию и расселению этих грибов. Существование ассоциации микромицетов, обитающих на поверхности минеральных субстратов, с членистоногими было выявлено также в исследовании Gorbushina, Petersen (2000). Так, авторами на минеральных поверхностях в интерьерах были обнаружены членистоногие и продукты их жизнедеятельности (такие как яйца, экзувий, паутина и т.д.), оплетенные грибным мицелием. Высказано предположение о том, что некоторые грибы способны разлагать хитин, содержащийся в грибных клетках, а также в останках и продуктах жизнедеятельности членистоногих, и, таким образом, играть роль «ассимиляторов хитина» в сообществе организмов, колонизирующих строительные материалы на минеральной основе в интерьерах (Gorbushina, Petersen, 2000). В нашем исследовании роль «ассимиляторов хитина», по-видимому, могут играть *Lecanicillium* spp., *P. album* и *P. lilacinum*. Тем не менее, хитиновая активность выделенных нами изолятов *Lecanicillium* spp. нуждается в подтверждении.

Aspergillus versicolor, *Cladosporium langeronii*, *Penicillium chrysogenum*, *Pseudogymnoascus pannorum* и *Verticillium zaregamsianum*, обладающие более низким относительным обилием, чем виды, рассмотренные выше, однако способные развиваться в изученных материалах (рис. 12), также обладают устойчивостью к действию факторов стресса. *Cladosporium langeronii*, *P. pannorum* и *V. zaregamsianum* часто встречаются в ассоциациях с растениями (Poole, Price, 1971; Zalar et al., 2007; Inderbitzin et al., 2011). В частности, *P. pannorum* и *V. zaregamsianum* известны в качестве фитопатогенов (Williams, Pugh, 1974; Inderbitzin et al., 2011). По мнению Unković et al. (2016), преобладание на стенах внутри памятников архитектуры микобиоты, ассоциированной с растениями, может быть связано с обильной растительностью вокруг этих памятников. В нашем исследовании *C. langeronii*, *P. pannorum* и *V. zaregamsianum* развивались на участках белого камня с обильным налетом водорослей. Возможно, эти грибы использовали водоросли в качестве источника питания. *Verticillium zaregamsianum* отмечен нами на каменистых субстратах впервые.

В литературе достаточно мало сведений о роли *C. langeronii* в качестве биодеструктора каменистых субстратов. *Cladosporium langeronii* ранее был отмечен на цементе (Zalar et al., 2007) и в воздухе помещений (Segers et al., 2015). Стоит отметить, что, аналогично видам с наибольшими показателями относительного обилия, *C. langeronii* не имеет выраженной приуроченности к определенному местообитанию и способен

переносить стрессовые условия. Так, вид был выделен из арктических льдов, почвы Антарктики, а также тела человека (Zalar et al., 2007). *Cladosporium langeronii* морфологически сходен с *C. sphaerospermum*. В более ранних исследованиях (Karpovich-Tate, Rebrikova, 1990; Berner et al., 1997; Gorbushina, Petersen, 2000), в которых молекулярные признаки не учитывались, *C. langeronii* мог быть ошибочно идентифицирован как *C. sphaerospermum*, поскольку для его корректной идентификации требуется анализ вида по совокупности молекулярных, морфологических, а также физиологических признаков (Zalar et al., 2007).

У *Pseudogymnoascus pannorum* показана высокая ферментативная активность. Так, гриб продуцирует целлюлазы, ксиланазы, протеазы, амилазы, хитиназы и эстеразы (Williams, Pugh, 1974; Mao et al., 2015). *P. pannorum* способен переносить стрессовые условия. Так, гриб может вызывать оппортунистические заболевания человека, встречается в засоленных и щелочных почвах, песках пустынь. Отмечен он и на каменистых субстратах (Berner et al., 1997; Ребрикова, 1999). Интересно, что *P. pannorum* был выделен нами в больших количествах лишь внутри одного из 14 исследованных объектов, а именно Боголюбского собора, в котором отсутствовало отопление. Возможно, это связано с психротолерантными свойствами гриба, который встречается в местообитаниях с постоянными отрицательными температурами и способен хорошо расти при -5 °C (Williams, Pugh, 1974; Mao et al., 2015).

Aspergillus versicolor и *P. chrysogenum* относят к видам, наиболее характерным для помещений с нарушениями влажностного режима (Andersen et al., 2011; Nielsen, Frisvad, 2011). Эти виды очень часто обнаруживаются в воздухе и пыли помещений (Антропова, 2005), что способствует легкому распространению и оседанию их спор на материалах. Есть сведения об обнаружении *A. versicolor* и *P. chrysogenum* на строительных материалах на минеральной основе (Berner et al., 1997; Nielsen, Frisvad, 2011). Интересно отметить, что *A. versicolor* является в помещениях одним из основных продуцентов геосмина, соединения, имеющего запах плесени (Nielsen, Frisvad, 2011).

Согласно Dornieden et al. (2000), представители почвенной микобиоты, споры которых легко разносятся потоками воздуха (*A. versicolor* и *P. chrysogenum* в нашем исследовании), а также микобиоты, ассоциированной с растениями (*C. langeronii*, *P. pannorum* и *V. zaregamsianum* в нашем исследовании), первыми осваивают каменистые субстраты. Споры перечисленных видов могут попадать в помещения с потоками воздуха и частицами почвы.

4.2. Особенности экофизиологии микромицетов штукатурки и белого камня известняка в интерьерах памятников культуры

В интерьерах памятников культуры влагосодержание строительных материалов со временем может меняться. Исходя из этого, исследовали рост выделенных микромицетов в широком диапазоне значений a_w .

Установили, что большинство видов, развивающихся на штукатурке и белом камне, требовали большого количества доступной влаги, значительно снижая скорость роста уже при a_w 0,95 и утрачивая способность развиваться при a_w 0,90 (рис. 14а). Поэтому выделение видов *A. charticola*, *A. furcatum*, *Lecanicillium gracile* sp. nov., *P. album*, *P. rannorum*, *P. lilacinum* и *S. kiliense* и *V. zaregamsianum* в больших количествах из минеральных субстратов может служить индикатором длительного увлажнения материалов, и, таким образом, указывать на недостаточную защищенность конструкций от влаги. Вообще грибы помещений, которые способны развиваться лишь при высокой степени увлажненности субстрата, то есть при $a_w > 0,90$, отнесены к группе «water damaged molds» (Nielsen, Frisvad, 2011), то есть к группе микромицетов, которые развиваются при существенных нарушениях влажностного режима в помещениях.

В то же время, *A. versicolor*, *C. langeronii*, *Lecanicillium* sp. и *P. chrysogenum* проявляют меньшую чувствительность к снижению увлажненности материала. Эти виды выдерживают колебания влажности и в этих условиях получают преимущество по отношению к предыдущим видам, зависящим от постоянно высокого уровня увлажненности субстрата. Активность воды субстрата, равная 0,90, является благоприятной для роста практически всех этих видов, за исключением *Lecanicillium* sp. (рис. 14b). Из всех видов, выделенных из строительных материалов в существенных количествах, наиболее устойчивыми к снижению доступной влаги в субстрате оказались *A. versicolor* и *P. chrysogenum*. Эти виды способны заселять субстраты даже в условиях небольшого повышения a_w (Nielsen, Frisvad, 2011). Хотя в работе Nielsen, Frisvad (2011) говорится о том, что *P. chrysogenum* способен развиваться при a_w ниже 0,80, по нашим данным, гриб не растет при a_w 0,80, что согласуется с Ребриковой (1999). Это можно объяснить тем, что минимальные значения a_w , при которых способны развиваться грибы, также, как и оптимальные параметры a_w роста грибов, могут варьироваться в зависимости от штамма (Фомичева, 2007). К тому же стоит учитывать разницу в методиках разных исследователей: использование разных сред для роста грибов, разные способы поддержания нужного значения a_w в среде, инкубацию посевов при разной температуре. Между тем, ксеротолерантные свойства *P. chrysogenum* отмечены как в наших

исследованиях, так и в других работах (Ребрикова, 1999; Nielsen, Frisvad, 2011). Что касается *A. versicolor*, гриб способен расти при a_w 0,80 как по нашим данным, так и по данным литературы (Grant et al., 1989; Ребрикова, 1999; Nielsen, Frisvad, 2011), в то время как по данным Фомичевой (2007) минимальные значения a_w , при которых возможен рост штаммов *A. versicolor*, составляет 0,83–0,85.

Вследствие увлажнения конструкций, которое может создаваться внутри помещений, а также их микробной контаминации, значение pH строительных материалов может меняться. Благодаря устойчивости *A. charticola*, *A. furcatum*, *L. gracile* sp. nov., *P. album*, *P. lilacinum* и *S. kiliense* к чрезвычайно широкому диапазону значений pH , от слабокислых до щелочных (рис. 15), и их высокой ферментативной активности, можно предположить, что эти виды способны длительное время развиваться в изученных субстратах в условиях повышенной влажности. Высказано предположение, что со временем, когда источники легко доступных органических веществ исчерпываются, микромицеты, обладающие широким набором ферментов, начинают преобладать, и их доминирование в субстрате указывает на позднюю стадию микробной сукцессии (Ребрикова, 1999). Поскольку образцы были отобраны не только с поверхности, но и из более глубоких слоев, перечисленные виды могли быть частью эндолитного сообщества, обитающего в порах и трещинах материалов. Способность микромицетов к эндолитному существованию показана, например, Hoppert et al. (2004).

Что касается других микромицетов, выделенных в существенных количествах, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium langeronii*, *Lecanicillium* sp., *Pseudogymnoascus pannorum*, *Verticillium zaregamsianum*, они, аналогично представителям первой группы, могли успешно развиваться в широком диапазоне значений pH , от слабокислых до щелочных значений. Исключение составил лишь *Penicillium chrysogenum*, предпочитающий кислые значения pH (рис. 15d).

Наконец, виды, выделенные в небольших количествах (10^3 КОЕ/г), показали различное отношение к фактору pH (рис. 16). Несмотря на то, что такие количества свидетельствуют об отсутствии жизнедеятельности этих видов в исследованных материалах, нельзя полностью исключить возможность их развития в исследованных материалах при наличии подходящих условий.

4.2. Роль микромицетов выделенного комплекса в биоповреждении строительных материалов на минеральной основе

Показано, что мицелий микромицетов оказывает механическое давление на каменистые субстраты, что ведет к ослаблению и разрушению структуры материала.

Более того, рост мицелия провоцирует транспорт воды и химических соединений вглубь субстратов, что облегчает развитие в них бактерий и одновременно вызывает биохимическое разрушение (Warscheid, Braams, 2000; Gorbushina, Krumbein, 2004; Fernandes, 2006). Таким образом, учитывая высокое обилие в исследованных материалах и перечисленные физиологические особенности видов *A. charticola*, *A. furcatum*, *L. gracile* sp. nov., *P. album*, *P. lilacinum* и *S. kiliense*, можно сделать вывод о том, что они обладают высокой функциональной значимостью в качестве агентов биоповреждения. В рассматриваемой группе особое внимание, на наш взгляд, заслуживают виды родов *Acremonium* и *Sarocladium*. Эти грибы способны к образованию слизи, циклы набухания и сжатия экзополимеров, входящих в состав слизи, могут оказывать механическое давление на материал (Gadd, 2007). Также, благодаря слизи, эти грибы могут формировать биопленки на минеральных субстратах (Morton, Surman, 1994), в которых микромицеты ассоциированы с бактериями (Gorbushina et al., 2004; Suihko et al., 2007). Действительно, в нашей работе *Acremonium* spp. и *Sarocladium* spp. выделялись из материалов в тесной ассоциации с бактериями, и приходилось многократно использовать высокие дозы антибиотика для выделения этих грибов в чистую культуру. Биопленки и слизь не только защищают микромицеты от неблагоприятных факторов окружающей среды, таких как высокий осмотический потенциал субстрата, недостаток воды и проч. (Grum-Grzhimaylo et al., 2016; Kozlova et al., 2019), и даже от воздействия биоцидов, снижая эффективность противобактериальной обработки (Sand, 1997), но и закупоривают поры в материале, препятствуя испарению воды, что благоприятствует дальнейшему развитию в нем микроорганизмов (Sand, 1997).

Исходя из физиологических свойств и способности *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium langeronii*, *Lecanicillium* sp., *Penicillium chrysogenum*, *Pseudogymnoascus pannorum*, *Verticillium zaregamsianum* развиваться в строительных материалах на минеральной основе, можно заключить, что эти виды могут участвовать в биоповреждении материалов.

Для более полного понимания роли микромицетов выделенного комплекса в качестве агентов биоповреждения, оценили их способность растворять карбонат кальция. Растворение CaCO_3 происходит, вероятнее всего, благодаря выделению грибами в среду карбоновых кислот (Ortega-Morales et al., 2016; Sazanova et al., 2016), хотя не исключаются и другие механизмы, например, за счет выделения в среду грибных ферментов (Unković et al., 2018). По данным литературы, CaCO_3 стимулирует продукцию карбоновых кислот у тех грибов, которые способны их вырабатывать (Sazanova et al., 2016). Это важно,

учитывая, что исследованные нами материалы содержали CaCO_3 . Было высказано предположение о том, что продукция грибами карбоновых кислот, в частности, щавелевой кислоты, является адаптацией к произрастанию на Ca-содержащих субстратах (Сазанова, 2014). Причем, по-видимому, стимулировать кислотообразование могут как ионы Ca^{2+} , так и повышенное содержание углекислоты в среде (Сазанова и др., 2014). Возможно, кислотообразование является одним из механизмов адаптации грибов к среде с высокими концентрациями тяжелых металлов, так как карбоновые кислоты могут взаимодействовать с металлами, образуя с ними устойчивые нерастворимые в воде комплексы. Это было показано, в частности, на среде с повышенной концентрацией ионов цинка (Sazanova et al., 2015). Поэтому тест на растворение CaCO_3 можно считать индикацией на кислотообразование, которое является одним из наиболее значимых факторов биоповреждений строительных материалов на минеральной основе. Действительно, карбоновые кислоты способствуют вымыванию катионов из минералов, что нарушает структуру материалов (Sterflinger, 2000; Warscheid, Braams, 2000; Gadd, 2007; Sazanova et al., 2016; Boniek et al., 2017).

В целом способность к растворению CaCO_3 обнаружена у небольшого количества протестированных изолятов (33 % видов, достигающих в материалах 10^4 – 10^5 КОЕ/г), что согласуется с другими исследованиями (Pangallo et al., 2012; Unković et al., 2018). Среди видов, обладавших высокой функциональной значимостью, *A. charticola* и *L. gracile* sp. nov. были способны растворять карбонат кальция, что является дополнительным фактором риска при развитии этих микромицетов на каменных субстратах. В предыдущих исследованиях (Unković et al., 2018) было отмечено, что кислотообразование характерно в основном для представителей родов *Aspergillus* и *Penicillium*. В нашем опыте все три изолята *P. chrysogenum* могли растворять CaCO_3 . У *A. versicolor* способность к растворению варьировала в зависимости от штамма. Что касается этого вида, была показана его способность к кислотообразованию, в частности, щавелевой кислоты, хотя и в небольших количествах (Sazanova et al., 2016), что согласуется с нашими результатами, так как зона просветления вокруг колоний этого гриба в нашем опыте была маленькой. Аналогичная ситуация была и с *P. pannorum*. Этот гриб также обладал слабой способностью растворять CaCO_3 в нашем опыте, что согласуется с данными Sazanova et al. (2016) о его способности выделять щавелевую и глицериновую кислоты в небольших количествах.

Стоит учитывать, что способность грибов к продукции карбоновых кислот зависит от множества факторов, в частности, от наличия и концентрации определенных

источников углерода и азота в среде (Sterflinger, 2000; Сазанова, 2014; Unković et al., 2018). Следовательно, прогнозировать эту способность у грибов *in vivo* сложно.

4.3. Развитие микромицетов в пыли

Известно, что споры грибов зачастую оседают на каменистые субстраты из воздуха, при этом они могут аккумулироваться в пылевых наслоениях на поверхностях субстратов (Kaarakainen et al., 2009). Это хорошо согласуется с высоким видовым сходством между микобиотой пыли и воздуха помещений (Korpi et al., 1997; Антропова, 2005). Некоторые виды, отмеченные нами на штукатурке и известняке, а именно *Alternaria alternata*, *Aspergillus repens*, *A. versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium aurantiogriseum* и *P. chrysogenum*, являлись характерными как для воздуха, так и для пыли помещений (Антропова, 2005). Загрязнения каменистых субстратов, одним из источников которых является пыль помещений, могут провоцировать колонизацию материалов микромицетами. Учитывая этот факт, а также то, что пыль в той или иной степени всегда присутствует на каменистых поверхностях в интерьерах, представлялось важным изучить способность микромицетов развиваться в пыли в условиях меняющейся влажности субстрата, которая может создаваться в помещениях памятников культуры.

Наши исследования показали, что для всех изученных грибов домашняя пыль пригодна как субстрат для роста (рис. 18, 20). Уже при ОВ 75% в пылевых отложениях некоторые грибы могут развиваться и формировать спороношение, в частности, *A. repens*, отмеченный нами на штукатурке. Это согласуется с тем, что по химическому составу пыль помещений может служить полноценным субстратом для развития микроорганизмов (Korpi et al., 1997; Великова, Пугачева, 1999). Так, показано, что пыль помещений имеет высокий процент органической составляющей (Великова, Пугачева, 1988; Korpi et al., 1997). Это связано с тем, что в состав пыли помещений входят частички почвы, различные текстильные волокна, волосы, фрагменты эпидермиса человека и животных, а также пыльца растений, метаболиты и остатки синантропных организмов (например, членистоногих), бактерии, споры грибов и проч. (Korpi et al., 1997). Более того, pH пыли также благоприятен для развития многих микроорганизмов (Korpi et al., 1997). Наши данные о способности грибов развиваться в пыли согласуются с исследованиями Korpi et al. (1997), в которых показано увеличение числа грибных спор в пыли примерно в 10^3 раз в результате активного спорообразования представителей родов *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Eurotium* и *Penicillium* уже на третьи сутки в условиях высокой ОВ (96–98%).

Данные собственных исследований и анализ литературы свидетельствуют о значительном влиянии активности воды и относительной влажности воздуха на рост и

развитие микромицетов. Как правило, при понижении ОВ и a_w у микромицетов увеличивается лаг-фаза, уменьшается скорость прорастания спор, увеличивается период от момента прорастания до образования мицелия и спороношения, снижается скорость радиального роста колоний. Однако у разных грибов чувствительность к пониженным значениям a_w и ОВ различна (Беккер, 1963; Hocking, 1986; Marín et al., 1996; Abellana et al., 1999; Plaza et al., 2003; Grant, 2004; Kim et al., 2005). Интересным является тот факт, что микромицеты *A. versicolor* и *P. aurantiogriseum* при 85% ОВ формировали в пыли зрелые конидии, а на средах с 0,85 a_w спороношения этих грибов не наблюдалось. С одной стороны, это может быть связано с образованием в пыли микролокусов, в которых складываются более благоприятные условия и формируется спороношение, с другой стороны, это можно объяснить тем, что в целом в пыли для грибов создаются стрессовые условия, что стимулирует их спороношение, в то время как искусственные питательные среды благоприятны для вегетативного роста грибов. Например, известно, что на полимерах в процессе биоповреждения грибы, минуя мицелиальную стадию, сразу формируют спороношение (Л.Н. Чекунова, личное сообщение). Способность *A. versicolor* развиваться при ОВ 85% согласуется с данными Pasanen et al. (1997). Реакцией на стрессовые условия можно объяснить и более раннее спороношение в пыли по сравнению со спороношением на средах с аналогичными a_w . Удлинение фаз развития грибов в пыли, а именно лаг-фазы и времени формирования мицелия при сниженных значениях влажности, возможно, связано с воздействием на микромицеты в пыли ряда стрессовых факторов, которые усиливают негативный эффект низкой ОВ. Так, в домашней пыли достаточно мало легкодоступных углеводов (таких как моносахариды), и, когда они исчерпываются, микромицетам приходится разлагать более сложные углеводы, например, альдегиды, органические кислоты и сирты (Korpi et al., 1997). Кроме того, есть сведения о возможном присутствии в пыли некоторых тяжелых металлов, например, меди, которые могут быть токсичными для грибов (Великова, Пугачева, 1999).

Высокая встречаемость в целом родов *Aspergillus* и *Penicillium* в пыли и воздухе помещений (Петрова-Никитина и др., 2000; Антропова и др., 2003) объясняет их частое обнаружение в пробах, в которые они, по-видимому, нередко попадали с поверхностными загрязнениями. Так, эти микромицеты отмечались нами не только в образцах из зон с признаками деструкции, но также и в контрольных. Развитие исследованных видов грибов в пыли может служить начальным этапом колонизации ими каменистых субстратов. В частности, *A. versicolor* и *P. chrysogenum*, способные, по нашим данным, развиваться в пыли, были выделены из проб штукатурки в существенных количествах, достигающих 10^4

КОЕ/г. Представители родов *Aspergillus* и *Penicillium* отнесены к первичным колонизаторам, которые первыми заселяют практически любые поверхности при нарушении влажностного режима в помещении, используя для питания органические вещества из пыли (Korpi et al., 1997). Однако не все виды, попадающие на такие специфические субстраты, как строительные материалы на минеральной основе, способны развиваться на них длительное время. Предположительно, по исчерпанию легкодоступных органических веществ в пыли, *Aspergillus* spp. и *Penicillium* spp. снизят свое развитие.

4.4. Сравнение фунгицидного действия препаратов

Результаты, полученные как методом дисков, так и на строительных материалах, показывают, что наиболее сильным фунгицидным действием из исследованных препаратов является биоцид на основе алкилдиметилбензиламмоний хлорида (группа ЧАС), Катамин АБ, который уже на протяжении долгого времени активно применяется в реставрационной и музейной практике (Ребрикова, 1999). Между тем не все грибы одинаково реагировали на него. Так, все изученные нами виды рода *Aspergillus*, *A. flavus*, *A. niger* и *A. terreus*, наряду с *P. ochrochloron*, в той или иной степени были слабо чувствительны к Катамину АБ. Что касается его современного аналога Капатокса, он также был слабо эффективен в отношении *Aspergillus* spp. и *P. ochrochloron*, при этом зоны подавления у этих грибов при обработке Капатоком вообще отсутствовали (рис. 23). Напротив, у *Chaetomium globosum* при обработке Катамином АБ и Капатоком диаметр зоны подавления был достаточно большим (17,3 мм и 13,7 мм соответственно). Подобная ситуация отмечена и в литературе, где *A. niger* обнаружил устойчивость к биоцидам из группы ЧАС, а *C. globosum* проявил к ним высокую чувствительность (Zabielska-Matejuk, 2005). Таким образом, Катамин АБ имеет свою специфику, которую важно учитывать при планировании элиминационных мероприятий. Несмотря на то, что Капатоке проявил фунгицидную активность в отношении большинства изученных видов в опыте «методом дисков», однократной обработки штукатурки этим препаратом для элиминации грибов оказалось недостаточно (табл. 12). Отсутствие эффекта от применения Капатокса на штукатурке, возможно, связано с тем, что и так низкая концентрация ДВ в препарате (1,57%) снижалась содержащейся в штукатурке влагой, поскольку препарат водорастворимый. Возможно, по этой же причине однократной обработки деструктированной штукатурки препаратом из группы ПГ, Полисептом, было недостаточно для элиминации грибов-биодеструкторов.

В монографии Кузнецовой (2001) утверждается, что гуанидиновые препараты эффективнее ЧАС, однако в наших исследованиях это не подтвердилось. Наши данные

согласуются с таковыми Сухаревич и др. (2005), в которых гуанидиновый препарат Метацид был менее действенным, чем Катамин АБ, и уступал ему по силе воздействия на грибные ферменты.

Современный аналог Полисепта, Тефлекс, опробованный в медицинских учреждениях и библиотечных фондах (Белевич, Александрова, 2007; Сергевнин и др., 2010) в концентрации 4% по ДВ, показал достоверное снижение в 8 раз числа КОЕ грибов воздуха вентиляционных систем больничного стационара через сутки. Однако, при высокой активности препарата в отношении видов рода *Cladosporium*, ряд других микромицетов присутствовал в пробах воздуха после обработки, в частности, грибы рода *Aspergillus*. Эти данные согласуются с нашими, особенно учитывая то, что распыление жидкости любого состава приводит к осаждению мелких частиц, в том числе спор грибов, и некоторому снижению числа их КОЕ в воздухе. Крылова и др. (2009) делают вывод об устойчивости штаммов грибов, выделенных из стационара, к ряду биоцидов, в том числе к Тефлексу, в рекомендованных производителями концентрациях.

Различная устойчивость разных видов грибов к одному и тому же фунгициду подтверждается биохимическими данными. В работе Сухаревич и др. (2005) на примере Катамина АБ и Метацида показано, что в зависимости от вида гриба наблюдается различное влияние препаратов на такие физиолого-биохимические свойства грибов, как активность комплекса целлюлаз, кислотообразование, амилалитическая активность и др. Так, кислотообразование при обработке суббиоцидными концентрациями Катамина АБ и Метацида усиливалось у видов рода *Penicillium* (*P. funiculosum*, *P. ochrochloron*) и несколько снижалось по сравнению с контролем у *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*). Активность комплекса целлюлаз при воздействии Катамина АБ, наоборот, повышалась у видов рода *Aspergillus* и несколько снижалась у *Penicillium*, а при воздействии Метацида снижалась у видов рода *Aspergillus* и *T. funiculosus* и сильно возрастала у *P. ochrochloron*. То есть, физиолого-биохимическая реакция грибов варьирует как в зависимости от биоцида, так и конкретного вида гриба, что полностью согласуется с нашими результатами.

По результатам исследования активности AgБиона-2 на чистых культурах грибов, а также данным литературы, можно заключить, что фунгицидная активность наночастиц серебра в пересчете на содержание серебра очень высока, намного превосходит таковую ионов серебра (Егорова, 2004; Ребрикова, 2012). Так, например, диаметр колоний грибов, изолированных из подвальных помещений, *Penicillium brevicompactum*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium cladosporoides*, *Chaetomium globosum* и *Stachybotrys chartarum*,

был значительно ниже на среде КГА с добавлением наночастиц серебра в концентрации порядка 10^{-5} – 10^{-4} % по ДВ, чем таковой на контрольной среде (без добавления наночастиц) (Ogar et al., 2015). Таким образом, наночастицы в очень низкой концентрации подавляли рост ряда грибов, включая и исследованный нами *C. globosum*, что согласуется с нашими результатами. Наночастицы серебра проявили фунгицидное действие в отношении этого гриба и на образцах гипсокартона (Ogar et al., 2015). Как и в нашем исследовании, в отношении некоторых видов препарат оказался не эффективен. В частности, гриб *Mortierella alpina* проявил устойчивость к воздействию наночастиц, и биоцид даже стимулировал его рост (Ogar et al., 2015).

В нашем исследовании действие AgБиона-2 было сопоставимо с изученными биоцидами в их наивысших концентрациях, используемых на практике. Надо отметить, что лишь AgБион-2 из всех протестированных биоцидов ингибировал рост *Aspergillus flavus*. Два других вида этого рода, *A. niger* и *A. terreus*, также проявили высокую чувствительность к препарату. Даже разведенный в 10 раз препарат, с концентрацией наночастиц 4×10^{-3} %, обладал слабыми фунгицидными свойствами. О восприимчивости *A. flavus* и *A. niger* к AgБиону-2 сообщается и в работе Дмитриевой с соавторами (2009). По другим данным, 5%-й раствор AgБиона-2 в концентрации 2×10^{-3} % по ДВ, нанесенный на некоторые образцы реставрационной бумаги, ингибировал на ней развитие *Chaetomium cochliodes* (Линник и др., 2011).

Неоднозначную активность AgБиона-2 в опыте на штукатурке можно объяснить спецификой взаимодействия препарата с субстратом. AgБион-2 представляет собой водную дисперсию наночастиц, стабилизированную поверхностно-активными веществами. Известно, что при нанесении дисперсий на твердые подложки может происходить нарушение их стабильности, а в случае наночастиц серебра это может приводить к увеличению их размеров. Так, Shirakawa et al. (2013) показали с помощью СЭМ, что после обработки образцов гипсовой штукатурки водной дисперсией наночастиц серебра, последние неравномерно распределялись по субстрату, некоторые из них агрегировались в кластеры, вследствие чего теряли фунгицидную активность. В итоге авторы отмечали неоднозначность действия препарата в отношении *Cladosporium* sp., подавление которого на образцах происходило неравномерно. Несмотря на сложности, связанные с распределением биоцида, наночастицы предложено использовать в качестве покрытия для строительных материалов (Horner et al., 2005). Также есть сообщение об успешном применении на штукатурке наночастиц меди, хотя и с добавлением водозадерживающей присадки (Pinna et al., 2012). Таким образом, AgБион-2 является весьма перспективным

препаратом, однако при его использовании, особенно в реставрационной практике, очень важно учитывать специфику взаимодействия биоцида с обрабатываемым материалом, а также вероятность окрашивания субстрата.

При воздействии биоцидов на микромицеты, оказавшиеся в условиях пониженной a_w , у большинства видов зона подавления роста вокруг диска увеличилась (рис. 26), поскольку пониженные значения a_w субстрата являются неблагоприятными для видов, не являющихся ксерофильными (Dallyn, Fox, 1980). Лишь у трех видов, *Microascus brevicaulis*, *Paecilomyces variotii* и *Stemphylium botryosum*, зоны подавления на средах со значениями a_w 0,99 и a_w 0,95 достоверно не различались. Возможно, это связано с высокой экологической пластичностью этих видов, чувствительность которых к действию биоцидов не возрастает даже при наличии другого неблагоприятного фактора окружающей среды. Тем не менее, можно заключить, что при понижении активности воды устойчивость микромицетов к биоцидам снижается в разной степени в зависимости от вида гриба.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе охарактеризовано сообщество культивируемых микромицетов штукатурки и белого камня известняка в интерьерах памятников культуры.

Впервые показано, что на минеральных строительных материалах (штукатурке и белом камне известняка) в интерьерах памятников культуры наиболее активно развивается и является функционально значимым в процессе биоповреждения специфический комплекс культивируемых микромицетов, многие представители которого относятся к Нурогреомыцетиде (Sordariomycetes). Для комплекса характерны *Acremonium*-подобные виды – представители родов *Acremonium*, *Lecanicillium*, *Sarocladium* и *Verticillium*. Среди микромицетов, заселяющих штукатурку и известняк в интерьерах памятников культуры, обнаружен новый для науки вид, *Lecanicillium gracile* sp. nov. Все представители комплекса включены в коллекцию грибов-биодеструкторов кафедры микологии и альгологии МГУ имени М.В. Ломоносова, часть изолятов передана в международные коллекции (ВКМ и ВКПМ (Россия), CBS (Нидерланды), VTT (Финляндия)).

Виды, наиболее активно развивающиеся в исследованных материалах (о чем свидетельствуют наиболее высокие показатели их численности и относительного обилия), – это *Acremonium charticola*, *A. furcatum*, *Lecanicillium gracile* sp. nov., *Parengyodontium album*, *Purpureocillium lilacinum* и *Sarocladium kiliense*. Нами показано, что эти виды функционируют в условиях повышенной влажности, которые могут встречаться в

интерьерах, например, в результате нарушения гидроизоляции ограждающих конструкций зданий. Данные литературы указывают на то, что *A. charticola*, *A. furcatum*, *P. album*, *P. lilacinum* и *S. kiliense* могут заселять самые разнообразные субстраты, способны переносить стрессовые условия, а также проявляют высокую ферментативную активность, которая позволяет им усваивать широкий спектр органических веществ. Что касается представителей рода *Lecanicillium*, они известны энтомопатогенными и микофильными свойствами. Высокая ферментативная активность крайне важна в условиях недостатка органики, которые создаются на минеральных субстратах. Нами впервые показано, что представители сообщества микромицетов штукатурки и известняка в интерьерах памятников культуры, развивающиеся в изученных материалах, хорошо растут в широком диапазоне значений pH, от слабокислых до щелочных, и, как правило, являются сильными алкалотолерантами. Такой диапазон значений pH характерен для штукатурки и известняка. Высокие показатели численности и относительного обилия, а также адаптация к широкому диапазону значений pH и высокая ферментативная активность перечисленных видов позволяют предположить, что *A. charticola*, *A. furcatum*, *L. gracile* sp. nov., *P. album*, *P. lilacinum* и *S. kiliense* способны длительное время развиваться на штукатурке и известняке в условиях повышенной влажности. Поскольку грибной мицелий оказывает неблагоприятное воздействие на минеральные субстраты, можно сделать вывод о высокой функциональной значимости этих видов. Особое внимание, на наш взгляд, заслуживают представители родов *Acremonium* и *Sarocladium*. Эти грибы способны формировать биопленки на материалах благодаря образованию слизи. Биопленки и слизь защищают микромицеты от неблагоприятных факторов окружающей среды, а также оказывают дополнительное механическое воздействие на материалы.

По нашим данным, некоторые виды, развивающиеся на штукатурке и известняке, а именно *Acremonium charticola*, *Aspergillus versicolor*, *Lecanicillium gracile* sp. nov., *Lecanicillium* sp., *Pseudogymnoascus pannorum* и *Penicillium chrysogenum*, способны растворять CaCO₃ в лабораторных условиях. Скорее всего, это происходит за счет продукции грибами карбоновых кислот, которые представляют опасность для минеральных строительных материалов. Однако стоит учитывать, что продукция карбоновых кислот зависит от ряда факторов, и ее сложно предугадать *in vivo*.

Нами впервые прослежена динамика прорастания спор и развития микромицетов в пыли при разных значениях относительной влажности воздуха. Показано, что пыль может быть полноценным питательным субстратом для развития некоторых видов, колонизирующих минеральные строительные материалы, в котором они способны

проходить полный жизненный цикл и формировать полноценные структуры, не отличающиеся по микроморфологии от таковых на стандартных агаризованных средах. Таким образом, развитие некоторых видов в пыли может быть начальным этапом колонизации ими минеральных субстратов. Это может относиться, в частности, к выделенным в существенных количествах из проб штукатурки *A. versicolor* и *P. chrysogenum*, способных, по нашим данным, развиваться в пыли при достижении относительной влажности воздуха значения 85% и выше.

В рамках разработки методов защиты памятников культуры проведена оценка эффективности ряда фунгицидных препаратов. Сравнение фунгицидного действия соединений из различных химических групп показало высокую эффективность препарата из группы четвертичных аммониевых соединений – Катамина АБ, который на протяжении долгого времени и по сей день используется в реставрационной практике. Подтверждена перспективность принципиально нового биоцида на основе наночастиц серебра, АгБиона-2, в сфере защиты строительных материалов на минеральной основе. Нами установлено, что при снижении активности воды субстрата устойчивость микромицетов к биоцидам снижается в разной степени в зависимости от вида гриба.

ВЫВОДЫ

1. На штукатурке и белом камне известняке в интерьерах памятников культуры наиболее активно развиваются своеобразные комплексы культивируемых микромицетов, 85,7% и 71% представителей которых соответственно относятся к Нуросгеомыцетidae. Характерно преобладание аскомицетов с *Acremonium*-подобной морфологией (*Acremonium* spp., *Lecanicillium* spp., *Sarocladium* spp. и *Verticillium* spp.).
2. Описан и опубликован новый для науки вид *Lecanicillium gracile* V.B. Ponizovskaya, A.A. Grum-Grzhim., Georgieva & Bilanenko sp. nov.
3. Среди видов грибов, развивающихся на штукатурке и белом камне известняке, большинство были мезофилами (67%) и сильными алкалотолерантами (64%).
4. К наиболее значимым в процессе биоповреждения штукатурки и белого камня известняка отнесены *Acremonium charticola*, *A. furcatum*, *Lecanicillium gracile* sp. nov., *Parengyodontium album*, *Purpureocillium lilacinum* и *Sarocladium kiliense*, так как они наиболее активно развиваются в материалах и способны к росту в широком диапазоне значений внешнего рН, которые создаются в интерьерах архитектурных сооружений.

5. Некоторые виды грибов (*Acremonium charticola*, *Lecanicillium gracile* sp. nov., *Lecanicillium* sp. и *Penicillium chrysogenum*), развивающиеся на штукатурке и белом камне известняке, способны растворять CaCO₃.
6. Пыль помещений представляет собой полноценный питательный субстрат для развития ряда видов, колонизирующих минеральные строительные материалы.
7. Сравнение фунгицидного действия соединений из различных химических групп показало наиболее высокую эффективность обработки штукатурки препаратом из группы ЧАС – Катамином АБ.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных Scopus, WoS, RSCI

1. **Понизовская В.Б.**, Антропова А.Б., Мокеева В.Л., Биланенко Е.Н., Чекунова Л.Н. Влияние активности воды субстрата и относительной влажности воздуха на развитие *Penicillium chrysogenum* Thom, *Aspergillus repens* (Corda) Sacc., *Trichoderma viride* Pers., выделенных из жилых помещений // Микробиология. 2011. Т. 80. № 3. С. 372–379. (SJR 2019 = 0,167; RINC 2018 = 1,786).
2. **Понизовская В.Б.**, Ребрикова Н.Л., Антропова А.Б., Мокеева В.Л. Сравнение эффективности фунгицидного действия биоцидов на основе наночастиц серебра, четвертичных аммониевых и полигуанидиновых соединений // Микология и фитопатология. 2016. Т. 50. № 1. С. 43–52. (SJR 2019 = 0,250, RINC 2018 = 0,685).
3. **Ponizovskaya V.B.**, Rebrikova N.L., Kachalkin A.V., Antropova A.B., Bilanenko E.N., Mokeeva V.L. Micromycetes as colonizers of mineral building materials in historic monuments and museums // Fungal Biology. 2019. Vol. 123. № 4. P. 290–306. (IF 2019 = 2,789, SJR 2019 = 0,942).
4. **Ponizovskaya V.B.**, Grum-Grzhimaylo A.A., Georgieva M.L., Kokaeva L.Y., Bilanenko E.N. *Lecanicillium gracile* (Cordycipitaceae), a new species isolated from mineral building materials // Phytotaxa. 2020. Vol. 443. № 3. P. 265–278 (IF 2019 = 1,007, SJR 2019 = 0,446).

Тезисы докладов и публикации материалов конференций

1. **Понизовская В.Б.**, Мокеева В.Л., Антропова А.Б., Биланенко Е.Н., Чекунова Л.Н. Влияние активности воды субстрата и относительной влажности воздуха на развитие микромицетов жилых помещений // Труды II междисциплинарного микологического форума. Серия Иммунопатология, аллергология, инфектология. М.: Национальная академия микологии. 2010. С. 72–73.

2. **Понизовская В.Б.**, Ребрикова Н.Л. Сравнение эффективности противогрибного действия биоцидов на основе алкилдиметилбензиламмония хлорида, полигексаметиленгуанидин гидрохлорида и наночастиц серебра // Современная микология в России. Т. 3. Материалы 3-го Съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии. 2012. С. 350.
3. **Понизовская В.Б.** Сравнение фунгицидной активности биоцидов на основе алкилдиметилбензиламмония хлорида, полигексаметиленгуанидина гидрохлорида и наночастиц серебра // Ломоносов-2014. XXI Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых, секция «Биология». М.: Издательство Московского университета. 2014. С. 181–182.
4. **Ponizovskaya V.B.**, Antropova A.B., Mokeeva V.L., Bilanenko E.N., Chekunova L.N. Effect of water activity and relative air humidity on the growth of fungi isolated from living quarters // The 10 th International Mycological Congress. Bangkok, Thailand. 2014. P. 581.
5. **Понизовская В.Б.**, Дьяков М.Ю., Ребрикова Н.Л., Антропова А.Б., Мокеева В.Л., Биланенко Е.Н. Влияние условий открытого космоса на жизнеспособность микромицетов // Современная микология в России. Т. 4. М.: Национальная академия микологии. 2015. С. 40–41.
6. **Ponizovskaya V.B.**, Antropova A.B., Dyakov M.Yu., Rebrikova N.L., Mokeeva V.L., Bilanenko E.N. The survival of micromycetes exposed to space conditions // XVII Congress of European Mycologists. European Mycological Association. Madeira, Portugal. 2015. P. 106.
7. **Понизовская В.Б.**, Антропова А.Б., Ребрикова Н.Л., Биланенко Е.Н., Мокеева В.Л. Микромицеты-биодеструкторы известняка, штукатурки и кладочного раствора интерьеров памятников культуры и музейных помещений // Биология, систематика и экология грибов и лишайников в природных экосистемах и агрофитоценозах. Материалы II Международной конференции. Минск: Колорград. 2016. С. 181–185.
8. **Ponizovskaya V.B.**, Antropova A.B., Bilanenko E.N., Mokeeva V.L. Fungal complex of stone materials in interiors of cultural heritage // Biogenic-abiogenic interactions in natural and anthropogenic systems. VI international symposium. Saint Petersburg. 2018. P. 160–161.
9. **Понизовская В.Б.**, Ребрикова Н.Л., Антропова А.Б., Биланенко Е.Н., Мокеева В.Л. Биоповреждения интерьеров памятников архитектуры // Материалы Всероссийской

конференции с международным участием «Микология и альгология России. XX – XXI век: смена парадигм». М.: Издательство «Перо». 2018. С. 201–202.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор искренне благодарит своего научного руководителя, Мокееву В.Л., за помощь и поддержку в работе; Биланенко Е.Н. и Антропову А.Б. за всестороннюю помощь, крайне плодотворное обсуждение работы и поддержку; Ребрикову Н.Л. за предоставленную тему исследования, помощь в сборе и обработке материала и за полученный бесценный опыт в области охраны культурного наследия; Грум-Гржимайло А.А., Качалкина А.В. и Кокаеву Л.Ю. за помощь в проведении молекулярно-генетических исследований; Благовещенскую Е.Ю. за помощь в проведении статистической обработки результатов, ценные советы и замечания при подготовке презентации и огромную поддержку; Георгиеву М.Л. за плодотворное сотрудничество, изучение предварительного варианта рукописи, ценные советы по ее улучшению и огромную поддержку; сотрудников Межфакультетской лаборатории электронной микроскопии МГУ имени М.В. Ломоносова за помощь в работе на сканирующем электронном микроскопе; Чудаева Д.А. и Александрову А.В. за ценные советы и поддержку; Георгиева А.А. за помощь в фотографировании микромицетов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абакумов Е.В., Власов А.Д., Власов Д.Ю., Ефремова Н.Н., Желудова В.М., Зеленская М.С., Логинова Ю.А., Козловский А.С., Курулева К.С., Мануртдинова В.В., Парфенов В.А., Пирютко Ю.М., Полянская Е.И., Рытикова В.В., Сазанова К.В., Тимофеев В.Н., Франк-Каменецкая О.В., Челибанов В.П. Памятники музейных Некрополей Санкт-Петербурга. Бытование, материалы, диагностика сохранности // Монография. СПб.: Изд-во ВВМ, 2016. 171 с.
2. Антропова А.Б. Микробиоты как источник аллергенов в жилых помещениях г. Москвы. Автореф. канд. дисс. М., 2005. 24 с.
3. Антропова А.Б., Мокеева В.Л., Биланенко Е.Н., Чекунова Л.Н., Желтикова Т.М., Петрова-Никитина А.Д. Аэромикота жилых помещений г. Москвы // Микология и фитопатология. 2003. Т. 37. № 6. С. 1–11.
4. Балнокин Ю.В. Растения в условиях стресса // В кн.: Физиология растений. М.: Издательский центр «Академия», 2005. С. 512–530.
5. Беккер З.Э. Физиология грибов и их практическое использование. М.: Изд-во Московского университета, 1963. 269 с.
6. Белевич И.О., Александрова Г.А. Исследование микробиоты библиотек и проблемы сохранения библиотечных фондов // Вестник Пермского университета. 2007. Т.5. № 10. С. 151–154.
7. Биология. Большой энциклопедический словарь / Гл. ред. Гиляров М.С. М.: Научное изд-во «Большая российская энциклопедия», 2001. 864 с.
8. Бобкова Т.С., Злочевская И.В., Рудакова А. К., Чекунова Л. Н. Повреждение промышленных материалов и изделий под воздействием микроорганизмов (справочник). М.: Изд-во Московского университета, 1971. 147 с.
9. Бондаренко С.А. Алкалофильные и алкалотолерантные грибы: особенности таксономии, экофизиологии и биохимии. Дисс. канд. биол. наук. М., 2018. 134 с.
10. Великова Г.Д., Пугачева И.В. Исследование роста микробиоты на бумаге из 100% хлопковой целлюлозы в присутствии пыли (Федеральный центр консервации библиотечных фондов, Санкт-Петербург) // Микология и фитопатология. 1988. Т. 22. № 5. С. 410–412.
11. Власов Д.Ю. Микробиоты в литобионтных сообществах: разнообразие, экология, эволюция, значение. Автореф. докт. дисс. СПб., 2008. 36 с.

12. Власов Д.Ю. Микроскопические грибы в экстремальных местообитаниях: биологическое разнообразие и сущность взаимодействий // Биосфера. 2011. Т. 3. № 4. С. 479–492.
13. Власов Д.Ю., Зеленская М.С., Франк-Каменецкая О.В. Микромицеты на мраморных памятниках музейных некрополей Александро-Невской Лавры // Микология и фитопатология. 2002. Т. 36. № 3. С. 8–12.
14. Власов Д.Ю., Кнауф И.В., Франк-Каменецкая О.В., Гуленко В.М., Рытикова В.В. Защита каменных памятников от биоразрушений в некрополях Государственного музея городской скульптуры // Памятники. Вектор наблюдения. Сборник статей по реставрации скульптуры и мониторингу состояния памятников в городской среде. 2008. С. 46–49.
15. Власов Д.Ю., Франк-Каменецкая О.В., Маругин А.М., Рябушева Ю.В., Тимашева М.А., Шилова О.А., Хамова Т.В., Челибанов В.П., Долматов В.Ю., Рытикова В.В. Новые принципы защиты памятников из камня от биологических повреждений // Памятники. Вектор наблюдения. Сборник статей по реставрации скульптуры и мониторингу состояния памятников в городской среде. 2008а. С. 62–66.
16. Георгиева М.Л. Микромицеты в щелочных засоленных почвах. Дисс. канд. биол. наук. М., 2006. 157 с.
17. Глик Б., Пастернак Д. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. М.: Мир, 2002. 589 с.
18. Дмитриева М.Б., Чмутин И.А., Яровая М.С., Линник М.А. Определение фунгицидной активности препаратов на основе наночастиц серебра // Нанотехника. 2009. Т. 20. № 4. С. 45–55.
19. Егорова Е.М. Наночастицы металлов в растворах: биохимический синтез и применение // Нанотехнология. 2004. № 1. С. 15–26.
20. Ерофеев В.Т., Смирнов В.Ф., Морозов Е.А. Микробиологическое разрушение материалов. М.: Изд-во Ассоциации строительных вузов, 2008. 128 с.
21. Значко-Яворский И.Л. Очерки истории вяжущих веществ от древних времен до середины XIX века. М.-Л.: Изд-во Академии наук СССР, 1963. 400 с.
22. Ильичев В.Д., Бочаров Б.В., Анисимов А.А. Биоповреждения. Учебное пособие для студентов биологических специальностей вузов. М.: Высшая школа, 1987. 352 с.
23. Кондратьева Е.Н. Хемоавтотрофные бактерии. В кн.: Жизнь растений. Том 1. М.: Просвещение, 1974. С. 337–350.

24. Крутяков Ю.А., Кудринский А.А., Оленин А.Ю., Лисичкин Г.В. Синтез и свойства наночастиц серебра: достижения и перспективы // Успехи химии. 2008. Т 3. № 77. С. 242–269.
25. Крылова И.О., Александрова Г.А., Семериков В.В., Злыгостева М.В., Кудрявцева Л.Г., Сергевнин В.И. Оценка эффективности действия некоторых дезинфицирующих средств на штаммы плесневых грибов, выделенных из больничной среды // Дез. дело. 2009. № 2. С. 51–54.
26. Кузнецова Л.С. «Полисепт» – полимерный биоцид пролонгированного действия. М.: МГУПБ, 2001. 170 с.
27. Кучаева А.Г. Лучистые грибки. Порядки актиномицеты (Actinomycetales) и актинопланы (Actinoplanales). В кн.: Жизнь растений Том 1. М.: Просвещение, 1974. С. 273–286.
28. Линник М.А., Прохоров В.П., Дмитриева М.Б. Биостойкость бумаги и подбор препарата с наночастицами серебра для ее защиты от плесневых поражений // Отечественные архивы. 2011. Т 4. С. 30–38.
29. Любимов Л.Д. Искусство Древней Руси: Кн. Для чтения. М.: Просвещение, 1981. 336 с.
30. Мирчинк Т.Г. Почвенная микология. М.: Издательство Московского университета, 1988. 220с.
31. Никольская Е.А. Культивирование микроскопических грибов. В кн.: Методы экспериментальной микологии. Справочник. Киев: Наукова Думка, 1982. С. 106–134.
32. Новый энциклопедический словарь / Гл. ред. Махов А.Е., Петровская Л.И., Смолкин В.М., Шолле В.Д. М.: Научное изд-во «Большая российская энциклопедия», «РИПОЛ классик», 2004. 1456 с.
33. Петрова-Никитина А.Д., Мокеева В.Л., Желтикова Т.М., Чекунова Л.Н., Мокроносова А.Б., Биланенко Е.Н. Микобиота домашней пыли г. Москвы // Микология и фитопатология. 2000. Т. 34. № 3. С. 25–33.
34. Петрова-Никитина А.Д., Мокеева В.Л., Чекунова Л.Н., Биланенко Е.Н., Желтикова Т.М., Антропова А.Б. Акарологическое и микологическое обследование помещений как основа профилактики аллергических заболеваний (задачи и принципы). Метод. пособие. М.: Издательство «Ойкос», 2002. 30с.
35. Понизовская В.Б., Дьяков М.Ю., Антропова А.Б., Биланенко Е.Н., Мокеева В.Л., Ильин В.К. Влияние условий космического полёта на жизнеспособность

- микромикетов // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. 2017. Т. 72. № 1. С. 9–15.
36. Ребрикова Н.Л. Биология в реставрации. М.: РИО ГосНИИР, 1999. 184 с.
37. Ребрикова Н.Л. Практика и перспективы использования новых технологий для защиты памятников искусства и культуры от повреждений микроорганизмами // Исследования в консервации культурного наследия. № 3. Материалы международной научно-методической конференции. М.: Индрик, 2012. С. 236–242.
38. Ребрикова Н.Л., Понизовская В.Б. Экстремально ксерофильные грибы, обнаруженные в музейных фондах // Современная микология в России. Т. 4. М.: Национальная академия микологии. 2015. С. 298–300.
39. Сазанова К.В. Органические кислоты грибов и их эколого-физиологическое значение. Автореф. канд. дисс. СПб., 2014. 26 с.
40. Сазанова К.В., Щипарёв С.М., Власов Д.Ю.. Образование органических кислот грибами, изолированными с поверхности памятников из камня // Микробиология. 2014. Т. 83. № 5. С. 525–525.
41. Сергеев В.И., Кудрявцева Л.Г., Головенкина А.Ю., Алатырева Н.Ф., Александрова Г.А. Эффективность противогрибковой аэрозольной дезинфекции воздуха вентиляционных систем лечебно-профилактических учреждений с помощью дезинфектантов «Гефлекс» и «Амиксидин» // Проблемы медицинской микологии. 2010. Т.12. № 2. С. 29–31.
42. Сухаревич В.И., Кузикова И.Л., Медведева Н.Г. Влияние фунгицидов различной химической природы на физиолого-биохимические свойства микромикетов // Биотехнология. 2005. № 5. С. 70–76.
43. Флеров Б.К., Лебедев Е.М. В кн.: Биологические повреждения строительных и промышленных материалов. Сборник 4. М.: ПЭМ ЦИНИС, 1973. 296 с.
44. Фомичева Г.М. Экофизиологические и молекулярно-генетические свойства микроскопических грибов представителей группы *Aspergillus versicolor*, выделенных из разных местообитаний. Автореф. канд. дисс. М., 2007. 25с.
45. Харченко С.Н. Методы экспериментальной микологии. Киев: Наукова думка, 1982. 273 с.
46. Химическая энциклопедия. Т. 5 / Гл. ред. Зефиоров Н.С. М.: Научное изд-во «Большая российская энциклопедия», 1998. 783 с.
47. Шепелев А.М. Ремонт квартиры своими силами. М.: Московский рабочий, 1983. 382 с.

48. Abellana M., Benedi J., Sanchis V., Ramos A.J. Water activity and temperature effects on germination and growth of *Eurotium amstelodami*, *E. chevalieri* and *E. herbariorum* isolates from bakery products // *Journal of Applied Microbiology*. 1999. N 87. P. 371–380.
49. Ali I., Akbar A., Anwar M., Yanwisetpakdee B., Prasongsuk S., Lotrakul P., Punnapayak H. Purification and characterization of extracellular, polyextremophilic α -amylase obtained from halophilic *Engyodontium album* // *Iranian Journal of Biotechnology*. 2014. Vol. 12. N 4. P. 35–40. <https://doi.org/10.15171/ijb.1155>.
50. Allsopp D., Seal K., Gaylarde C. *Introduction to biodeterioration*. Cambridge Univ. Press, 2004. 237 pp.
51. Banach M., Szczygłowska R., Pulit J., Bryk M. Building materials with antifungal efficacy enriched with silver nanoparticles // *Journal of Chemical Sciences*. 2014. Vol. 5. N 1.
52. Baranova A.A., Georgieva M.L., Bilanenko E.N., Andreev Y.A., Rogozhin E.A., Sadykova V.S. Antimicrobial potential of alkalophilic micromycetes *Emericellopsis alkalina* // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2017. Vol. 53. N. 6. P. 703–710.
53. Berner M., Wanner G., Lubitz W. A comparative study of the fungal flora present in medieval wall paintings in the chapel of the castle Herberstein and in the parish church of St Georgen in Styria, Austria // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 1997. Vol. 40. N 1. P. 53–61.
54. Bissett J. Notes on *Tolyptocladium* and related genera // *Canadian Journal of Botany*. 1982. Vol. 61. P. 1311–1329.
55. Błyskal B. Fungi utilizing keratinous substrates // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2009. Vol. 63. N 6. P. 631–653.
56. Boniek D., Castro Mendes I., Paiva C.A.O., Paula Lana U.G., Santos A.F.B., Stoianoff R. Ecology and identification of environmental fungi and metabolic processes involved in the biodeterioration of Brazilian soapstone historical monuments // *Letters in Applied Microbiology*. 2017. Vol. 65. N 5. P. 431–438.
57. Boniek D., Damaceno Q.S., de Abreu C.S., de Castro Mendes I., dos Santos A.F.B., de Resende Stoianoff M.A. Filamentous fungi associated with Brazilian stone samples: structure of the fungal community, diversity indexes, and ecological analysis // *Mycological Progress*. 2019. Vol. 18. N 4. P. 565–576.

58. Campana R., Sabatini L., Frangipani E. Moulds on cementitious building materials – problems, prevention and future perspectives // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2020. Vol. 104. N 2. P. 509–514.
59. Caracuel Z., Casanova C., Roncero M.I.G., Pietro A.D., Ramos J. pH response transcription factor PacC controls salt stress tolerance and expression of the P-Type Na⁺-ATPase Ena1 in *Fusarium oxysporum* // *Eukaryotic Cell*. 2003. Vol. 2. N 6. P. 1246–1252.
60. Cataldo R., De Donno A., De Nunzio G., Leucci G., Nuzzo, L., Siviero S. Integrated methods for analysis of deterioration of cultural heritage: the Crypt of “Cattedrale di Otranto” // *Journal of Cultural Heritage*. 2005. Vol. 6. N 1. P. 29–38.
61. Cavello I.A., Hours R.A., Rojas N.L., Cavalitto S.F. Purification and characterization of a keratinolytic serine protease from *Purpureocillium lilacinum* LPS#876 // *Process Biochemistry*. 2013. Vol. 48. N 5–6. P. 972–978.
62. Chellappan S., Jasmin C., Basheer S.M., Kishore A., Elyas K.K., Bhat S.G., Chandrasekaran M. Characterization of an extracellular alkaline serine protease from marine *Engyodontium album* BTMFS10 // *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 2011. Vol. 38. N 6. P. 743–752. <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0914-3>.
63. Chen H., Dou J., Xu H. The effect of low-molecular-weight organic-acids (LMWOAs) on treatment of chromium-contaminated soils by compost-phytoremediation: Kinetics of the chromium release and fractionation // *Journal of Environmental Sciences*. 2018. Vol. 70. P. 45–53.
64. Chesson A., Morgan J.J., Codner R.C. Comparative electrophoretic study of proteins of *Acremonium*-like hyphomycetes // *Transactions of the British Mycological Society*. 1978. Vol. 70. N 3. P. 345–361.
65. Ciferri O. Microbial degradation of paintings // *Applied and Environmental Microbiology*. 1999. N 6. P. 879–885.
66. Crous P.W., Braun U., Schubert K., Groenewald J.Z. The genus *Cladosporium* and similar dematiaceous hyphomycetes. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2007.
67. Crous P.W., Wingfield M.J., Burgess T.I., Hardy G.S.J., Gené J., Guarro J., Baseia I.G., García D., Gusmão L.F.P., Souza-Motta C.M., Thangavel R., Adamčík S., Barili A., Barnes C.W., Bezerra J.D.P., Bordallo J.J., Cano-Lira J.F., de Oliveira R.J.V., Ercole E., Hubka V., Iturrieta-González I., Kubátová A., Martín M.P., Moreau P.-A., Morte A.,

- Ordoñez M.E., Rodríguez A., Stchige A.M., Vizzini A., Abdollahzadeh J., Abreu V.P., Adamčíková K., Albuquerque G.M.R., Alexandrova A.V., Álvarez Duarte E., Armstrong-Cho C., Banniza S., Barbosa R.N., Bellanger J.-M., Bezerra J.L., Cabral T.S., Caboň M., Caicedo E., Cantillo T., Carnegie A.J., Carmo L.T., Castañeda-Ruiz R.F., Clement C.R., Čmoková A., Conceição L.B., Cruz R.H.S.F., Damm U., da Silva B.D.B., da Silva G.A., da Silva R.M.F., de A. Santiago A.L.C.M., de Oliveira L.F., de Souza C.A.F., Déniel F., Dima B., Dong G., Edwards J., Félix C.R., Fournier J., Gibertoni T.B., Hosaka K., Iturriaga T., Jadan M., Jany J.-L., Jurjević Ž., Kolařík M., Kušan I., Landell M.F., Leite Cordeiro T.R., Lima D.X., Loizides M., Luo S., Machado A.R., Madrid H., Magalhães O.M.C., Marinho P., Matočec N., Mešić A., Miller A.N., Morozova O.V., Neves R.P., Nonaka K., Nováková A., Oberlies N.H., Oliveira-Filho J.R.C., Oliveira T.G.L., Papp V., Pereira O.L., Perrone G., Peterson S.W., Pham T.H.G., Raja H.A., Raudabaugh D.B., Řehulka J., Rodríguez-Andrade E., Saba M., Schauflerová A., Shivas R.G., Simonini G., Siqueira J.P.Z., Sousa J.O., Stajsic V., Svetasheva T., Tan Y.P., Tkalčec Z., Ullah S., Valente P., Valenzuela-Lopez N., Abrinbana M., Viana Marques D.A., Wong P.T.W., Xavier de Lima V., Thangavel R. Fungal Planet description sheets 716–784 // *Persoonia*. 2018. Vol. 40. P. 240–393.
68. Cwalina B. Biodeterioration of concrete // *Architecture Civil Engineering Environment*. 2008. N 4. P. 133–140.
69. Dallyn H., Fox A. Spoilage of materials of reduced water activity by xerophilic fungi. In: *Microbial growth and survival in extremes of environment*. N.Y., London: Society of Applied Bacteriology Technical Series, 1980. P. 129–139.
70. Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R., Posada, D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing // *Nature Methods*. 2012. Vol. 9. N 8. P. 772.
71. De la Torre M.A., Gomez-Alarcon G. Manganese and iron oxidation by fungi isolated from building stone // *Microbial Ecology*. 1994. Vol. 27. N 2. P. 177–188.
72. De la Torre M.A., Gomez-Alarcon G., Vizcaino C., Garcia M.T. Biochemical mechanisms of stone alteration carried out by filamentous fungi living in monuments // *Biogeochemistry*. 1992. Vol.19. N 3. P. 129–147.
73. De Natale A., Mele B.H., Cennamo P., Del Mondo A., Petraretti M., Pollio A. Microbial biofilm community structure and composition on the lithic substrates of Herculaneum suburban baths // *Plos One*. 2020. Vol.15. N 5. e0232512.
74. Denison S.H. pH regulation of gene expression in fungi // *Fungal Genetics and Biology*. 2000. Vol. 29. N 2. P. 61–71.

75. Dias L., Rosado T., Candeias A., Mirão J., Caldeira A.T. A change in composition, a change in colour: the case of limestone sculptures from the Portuguese National Museum of Ancient Art // *Journal of Cultural Heritage*. 2020. N 42.P. 255–262.
76. Domsch K.H., Gams W., Anderson T.-H. *Compendium of Soil Fungi*. Second ed. Eching: IHW-Verlag et Verlagsbuchhandlung, 2007.
77. Dornieden T., Gorbushina A.A., Krumbein W.E. Biodecay of cultural heritage as a space/time-related ecological situation – an evaluation of a series of studies // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2000. Vol. 46. N 4. P. 261–270.
78. Ellanskaya I.A., Nevo E., Wasser S.P., Volz P.A., Sokolova E.V. Species diversity of soil micromycetes in two contrasting soils at the Tabigha microsite (Israel) // *Israel Journal of Plant Sciences*. 2000. Vol. 48. N 4. P. 309–315.
79. Fernandes P. Applied microbiology and biotechnology in the conservation of stone cultural heritage materials // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2006. Vol. 73. P. 291–296.
80. Fomina M., Burford E.P., Hillier S., Kierans M., Gadd, G.M. Rock-building fungi // *Geomicrobiology Journal*. 2010. Vol. 27. N 6–7. P. 624–629.
81. Gadd G.M. Fungi, rocks, and minerals // *Elements: an International Magazine of Mineralogy, Geochemistry, and Petrology*. 2017a. Vol. 13. N 3. P. 171–176.
82. Gadd G.M. Geomicrobiology of the built environment // *Nature Microbiology*. 2017. Vol. 2. N 4. P. 1–9.
83. Gadd G.M. Geomycology: biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation // *Mycological Research*. 2007. Vol. 111. N 1. P. 3–49.
84. Gallardo G.L., Butler M., Gallo M.L., Rodríguez M.A., Eberlin M.N., Cabrera G.M. Antimicrobial metabolites produced by an intertidal *Acremonium furcatum* // *Phytochemistry*. 2006. Vol. 67. N 21. P. 2403–2410.
85. Gams W. *Cephalosporium-artige Schimmelpilze (Hyphomycetes)*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1971.
86. Gams W., Hoekstra E.S., Aptroot A. *CBS Course of Mycology*. 4th ed. Baarn: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 1998. 165 p.
87. Ganachari S.V., Bhat R., Deshpande R., Venkataraman A. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using fungi *Penicillium diversum* and their antimicrobial activity studies // *BioNanoScience*. 2012. Vol. 2. N 4. P. 316–321.

88. Gaylarde C.C., Morton L.G. Deteriogenic biofilms on buildings and their control: a review // *Biofouling*. 1999. N 14. P. 59–74. <https://doi.org/10.1080/08927019909378397>
89. Gaylarde P., Gaylarde C. Deterioration of siliceous stone monuments in Latin America: microorganisms and mechanisms // *Corrosion Reviews*. 2004. Vol. 22. N 5–6. P. 395–416.
90. Gervais C., Garrabrants A.C., Sanchez F., Barna R., Moszkowicz P., Kosson D.S. The effects of carbonation and drying during intermittent leaching on the release of inorganic constituents from a cement-based matrix // *Cement and Concrete Research*. 2004. Vol. 34. N 1. P. 119–131.
91. Gervats P., Molin P., Grajek W., Bensoussan M. Influence of the water activity of a solid substrate on the growth rate and sporogenesis of filamentous fungi // *Biotechnology and Bioengineering*. 1988. Vol. 31. P. 457–463.
92. Ghany T.M.A., Omar A.M., Elwkeel F.M., Al Abboud M.A., Alawlaqi M.M. Fungal deterioration of limestone false-door monument. *Heliyon*. 2019. Vol. 5. N 10. e02673.
93. Ghorbani Y., Oliazadeh M., Roohi R., Pirayehgar A. Use of some isolated fungi in biological leaching of aluminum from low grade bauxite // *African Journal of Biotechnology*. 2007. Vol. 6. N 11. P. 1284–1288.
94. Giraldo A., Crous P.W. Inside Plectosphaerellaceae // *Studies in Mycology*. 2019. Vol. 92. P. 227–286. DOI 10.1016/j.simyco.2018.10.005.
95. Gleeson D.B., Melville K., McDermott F., Clipson N., Gadd G.M. Molecular characterization of fungal communities in sandstone // *Geomicrobiology Journal*. 2010. Vol. 27. N 6–7. P. 559–571.
96. Glushakova A.M., Kachalkin A.V., Maksimova I.A., Chernov I.Yu. Yeasts in *Hevea brasiliensis* latex // *Microbiology*. 2016. N 85. P. 488–492.
97. Gómez-Cornelio S., Mendoza-Vega J., Gaylarde C.C., Reyes-Estebanez M., Morón-Ríos A., De la Rosa S.D.C., Ortega-Morales B.O. Succession of fungi colonizing porous and compact limestone exposed to subtropical environments // *Fungal Biology*. 2012. Vol. 116. N 10. P. 1064–1072. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2012.07>.
98. Gómez-Cornelio S., Ortega-Morales O., Morón-Ríos A., Reyes-Estebanez M., De la Rosa-García S. Changes in fungal community composition of biofilms on limestone across a chronosequence in Campeche, Mexico // *Acta Botanica Mexicana*. 2016. Vol. 117. P. 59–77.
99. Gorbushina A.A. Life on the rocks // *Environmental Microbiology*. 2007. Vol. 9. N 7. P. 1613–1631.

100. Gorbushina A.A., Heyrman J., Dornieden T., Gonzalez-Delvalle M., Krumbein W.E., Laiz L., Petersen K., Saiz-Jimenez C., Swings J. Bacterial and fungal diversity and biodeterioration problems in mural painting environments of St. Martins church (Greene-Kreinsen, Germany). *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2004. Vol. 53. N 1. P. 13–24. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2003.07.003>.
101. Gorbushina A.A., Krumbein W.E. Role of organisms in wear down of rocks and minerals. In: *Micro-organisms in Soils: Roles in Genesis and Functions*. Berlin: Springer, 2005. P. 59–84.
102. Gorbushina A.A., Lyalikova N.N., Vlasov D.Y., Khizhnyak T.V. 2002. Microbial communities on the monuments of Moscow and St. Petersburg: biodiversity and trophic relations // *Microbiology*. Vol. 71. N 3. P. 350–356.
103. Gorbushina A.A., Petersen K. Distribution of microorganisms on ancient wall paintings as related to associated faunal elements // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2000. N 46. P.277–284.
104. Grant C., Hunter C.A., Flannigan B., Bravery A.F. The moisture requirements of moulds isolated from domestic dwellings. *International Biodeterioration*. 1989. Vol. 25. N 4. P. 259–284.
105. Grant W.D. Life at low water activity // *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. 2004. N 359. P. 1249–1267.
106. Grum-Grzhimaylo A.A., Debets A.J.M., van Diepeningen A.D., Georgieva M.L., Bilanenko E.N. *Sodiomyces alkalinus*, a new holomorphic alkaliphilic ascomycete within the Plectosphaerellaceae // *Persoonia*. 2013. N 31. P. 147–158.
107. Grum-Grzhimaylo A.A., Georgieva M.L., Bondarenko S.A., Debets A.J., Bilanenko E.N. On the diversity of fungi from soda soils // *Fungal Diversity*. 2016. N 76. 27–74. <https://doi.org/10.1007/s13225-015-0320-2>.
108. Gu J.D., Ford T.E., Berke N.S., Mitchell R. Biodeterioration of concrete by the fungus *Fusarium* // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 1998. Vol. 41. N 2. P. 101–109.
109. Guerra F.L., Lopes W., Cazarolli J.C., Lobato M., Masuero A.B., Dal Molin D.C., Bento F.M., Schrank A., Vainstein M.H. Biodeterioration of mortar coating in historical buildings: Microclimatic characterization, material, and fungal community // *Building and Environment*. 2019. Vol. 155. P. 195–209.
110. Guindon S., Gascuel O. A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood // *Systematic Biology*. 2003. Vol. 52. P.696–704.

111. Gunde-Cimerman N., Ramos J., Plemenitaš A. Halotolerant and halophilic fungi // *Mycological Research*. 2009. Vol. 113. N 11. P. 1231–1241.
112. Gunde-Cimerman N., Sonjak S., Zalar P., Frisvad J.C., Diderichsen B., Plemenitaš A. 2003. Extremophilic fungi in arctic ice: a relationship between adaptation to low temperature and water activity // *Physics and Chemistry of the Earth*. N 28. P. 1273–1278.
113. Haasum I., Nielsen P.V. Ecophysiological characterization of common food-borne fungi in relation to pH and water activity under various atmospheric compositions // *Journal of Applied Microbiology*. 1998. N 84. P. 451–460.
114. Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NL // *Nucleic Acids Symposium Series*. N 41. P. 95–98.
115. Harding M.W., Marques L.L., Howard R.J., Olson M.E. Can filamentous fungi form biofilms? // *Trends in Microbiology*. 2009. Vol. 17. N 11. P. 475–480. <https://doi.org/10.1016/j.tim>.
116. Hazel J.R., Williams E.E. The role of alternations in membrane lipid composition in enabling physiological adaptation of organisms to their physical environment // *Progress in Lipid Reseach*. 1990. V.29. P.167–227.
117. Hegstad K., Langsrud S., Lunestad B.T., Scheie A.A., Sunde M., Yazdankhah S.P. Does the wide use of quaternary ammonium compounds enhance the selection and spread of antimicrobial resistance and thus threaten our health? // *Microbial Drug Resistance*. 2010. Vol. 16. N 2. P. 91–104.
118. Hesse S.J., Ruijter G.J.G., Dijkema C., Visser J. Intracellular pH homeostasis in the filamentous fungus *Aspergillus niger* // *European Journal of Biochemistry*. 2002. Vol. 269. N 14. P. 3485–3494.
119. Hocking A.D. Effects of water activity and culture age on the glycerol accumulation patterns of five fungi // *Journal of General Microbiology*. 1986. N 132. P. 269–275.
120. Hoppert M., Flies C., Pohl W., Günzl B., Schneider J. Colonization strategies of lithobiontic microorganisms on carbonate rocks // *Environmental Geology*. 2004. Vol. 46. P. 421–428.
121. Horner Jr.C.J., Kumar A., Nieradka K.R. Nanosilver as a biocide in building materials // US patent 8119548. 2012.

122. Inderbitzin P., Bostock R.M., Davis R.M., Usami T., Platt H.W., Subbarao K.V. Phylogenetics and taxonomy of the fungal vascular wilt pathogen *Verticillium*, with the descriptions of five new species // *PloS One*. 2011. Vol. 6. N 12. P. e28341.
123. Isola D., Zucconi L., Onofri S., Caneva G., De Hoog G.S., Selbmann L. Extremotolerant rock inhabiting black fungi from Italian monumental sites // *Fungal Diversity*. 2016. Vol. 76 N 1. P. 75–96.
124. Javor B. Hypersaline environments: microbiology and biogeochemistry // *Brock-Springer Series in Contemporary Bioscience*. 1992. P. 292–312.
125. Jeffries P. 1986. Growth of *Beauveria alba* on mural paintings in Canterbury Cathedral // *International Biodeterioration*. Vol. 22. N 1. P. 11–13.
126. Kaarakainen P., Rintala H., Vepsäläinen A., Hyvärinen A., Nevalainen A., Meklin T. Microbial content of house dust samples determined with qPCR // *Science of the Total Environment*. 2009. Vol. 407. N 16. P. 4673–4680.
127. Karpovich-Tate N., Rebrikova N.L. Microbial communities on damaged frescoes and building materials in the cathedral of the Nativity of the Virgin in the Pafnutii-Borovskii monastery, Russia // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 1990. Vol. 27. P. 281–296.
128. Katoh K., Rozewicki J., Yamada K.D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. // *Briefings in Bioinformatics*. 2017. bbx108
129. Kauffmann J., Toussaint P. Corrosion des pierres: Nouvelles experiences montrant le role des bacteries nitrifiantes dans l'alteration des pierres calcaires des monuments // *Corrosion et Anticorrosion*. 1954. Vol. 2. P. 240–244.
130. Kaufmann J. Corrosion et protection des pierres calcaires des monuments // *Corrosion-Anticorrosion*. 1960. Vol. 8. N 3. P. 87–95.
131. Kelly D.P., Wood A.P. Reclassification of some species of *Thiobacillus* to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., *Halothiobacillus* gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2000. Vol. 50. N 2. P. 511–516.
132. Kiel G., Gaylarde C.C. Diversity of salt-tolerant culturable aerobic microorganisms on historic buildings in Southern Brazil // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2007. N 23. P. 363–366.
133. Kim J.S., Kuk E., Yu K.N., Kim J.H., Park S.J., Lee H.J., Kim S.H., Park Y.K., Park Y.H., Hwang Ch.Y., Kim Y.K., Lee Y.S., Jeong D.H., Cho M.-H. Antimicrobial effects

- of silver nanoparticles // *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. 2007. N 3. P. 95–101.
134. Kim Y.K., Xiao C.L., Rogers J.D. 2005. Influence of culture media and environmental factors on mycelial growth and pycnidial production of *Sphaeropsis pyriputrescens* // *Mycologia*. Vol. 97. N 1. P. 25–32.
135. Klich M.A. Identification of common *Aspergillus* species. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2002.
136. Korpi A., Pasanen A.-L., Pasanen P., Kalliokoski P. Microbial growth and metabolism in house dust // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 1997. Vol. 40. N 1. P. 19–27.
137. Kozlova M.V., Bilanenko E.N., Grum-Grzhimaylo A.A., Kamzolkina O.V. An unusual sexual stage in the alkalophilic ascomycete *Sodiomyces alkalinus* // *Fungal biology*. 2019. Vol. 123. N 2. P. 140–150. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2018.11.010>.
138. Lesage L., Genot C., Record E., Pouliquen C., Richard-Molard D. Fatty acid composition and molecular order of phospholipids from *Eurotium chevalieri* in response to changes in water activity // *Journal of General Microbiology*. 1993. Vol.139. N 7. P.1653–1661.
139. Li W., Zhou P.P., Jia L.P., Yu L.J., Li X.L., Zhu M. Limestone dissolution induced by fungal mycelia, acidic materials, and carbonic anhydrase from fungi // *Mycopathologia*. 2009. Vol. 167. N 1. P. 37–46.
140. Li Y., Huang Z., Petropoulos E., Ma Y., Shen Y. Humidity governs the wall-inhabiting fungal community composition in a 1600-year tomb of Emperor Yang // *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10. N 1. P. 1–10.
141. Libkind D., Brizzio S., Ruffini A., Gadanho M., van Broock M., Sampaio J.P. Molecular characterization of carotenogenic yeasts from aquatic environments in Patagonia, Argentina // *Antonie Leeuwenhoek*. 2003. N 84. P. 313–322.
142. Lopez D.C., Zhu-Salzman K., Ek-Ramos M.J., Sword G.A. 2014. The entomopathogenic fungal endophytes *Purpureocillium lilacinum* (formerly *Paecilomyces lilacinus*) and *Beauveria bassiana* negatively affect cotton aphid reproduction under both greenhouse and field conditions // *PloS One*. Vol. 9. N 8. e103891.
143. Lou J., Fu L., Luo R., Wang X., Luo H., Zhou L. 2013. Endophytic fungi from medicinal herb *Salvia miltiorrhiza* Bunge and their antimicrobial activity // *African Journal of Microbiology Research*. Vol. 7. N. 47. P. 5343–5349.

144. Luangsa-ard J., Houbraken, J., van Doorn, T., Hong, S.B., Borman, A.M., Hywel-Jones, N.L., Samson, R.A. 2011. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus* // FEMS Microbiology Letters. Vol. 321. N 2. P. 141–149. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02322.x>.
145. Lyalikova N.N., Petushkova Y.P. Role of microorganisms in the weathering of minerals in building stone of historical buildings // Geomicrobiology Journal. 1991. Vol. 9. N 2–3. P. 91–101.
146. Ma W., Wu F., Tian T., He D., Zhang Q., Gu J.D., Duan Y., Ma D., Wang W., Feng H. Fungal diversity and its contribution to the biodeterioration of mural paintings in two 1700-year-old tombs of China. International Biodeterioration & Biodegradation. 2020. Vol. 152. 104972.
147. Maciejewska M., Adam D., Naômé A., Martinet L., Tenconi E., Całusińska M., . Delfosse P., Hanikenne M., Baurain D., Compère P., Carnol M., Barton H.A., Rigali S. Assessment of the potential role of *Streptomyces* in cave moonmilk formation // Frontiers in Microbiology. 2017. N 8. P. 1181.
148. Magan N., Lacey J. Effect of temperature and pH on water relations of field and storage fungi // Transactions – British Mycological Society. 1984. Vol. 82. Issue 1. P.71–81.
149. Mao Y., Yin Y., Zhang L., Alias S.A., Gao B., Wei D. Development of a novel *Aspergillus* uracil deficient expression system and its application in expressing a cold-adapted α -amylase gene from Antarctic fungi *Geomyces pannorum* // Process Biochemistry. 2015. Vol. 50. N 10. 1581–1590.
150. Marín S., Sanchis V., Magan N. Water activity, temperature, and pH effects on growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates from maize // Canadian Journal of Microbiology. 1995. Vol. 41. P. 1063–1070.
151. Marín S., Sanchis V., Teixido A., Saenz R., Ramos A.J., Vinas I., Magan N. Water and temperature relations and microconidial germination of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* from maize // Canadian Journal of Microbiology. 1996. Vol. 42. N 10. P. 1045–1050.
152. Morton L.H.G., Surman S.B. Biofilms in biodeterioration – a review // International Biodeterioration & Biodegradation. 1994. Vol. 34. P. 203–221.
153. Muhsin T.M., Booth T. Fungi associated with halophytes of an inland salt marsh, Manitoba, Canada // Canadian Journal of Botany. 1987. Vol. 65. N 6. P. 1137–1151.
154. Muntz A. Sur la décomposition des roches et la formation de la terre arable // Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. 1890. Vol. 110. P. 1370–1372.

155. Nagai K., Suzuki K., Okada G. Studies on the distribution of alkalophilic and alkali-tolerant soil fungi II: fungal flora in two limestone caves in Japan // *Mycoscience*. 1998. Vol. 39. N 3. P. 293–298.
156. Nielsen K.F., Frisvad J.C. Mycotoxins on building materials. In: *Fundamentals of mold growth in indoor environments*. Wageningen: Academic Publishers, 2011. P. 245–266.
157. Ogar A., Tylko G., Turnau K. Antifungal properties of silver nanoparticles against indoor mould growth // *Science of the Total Environment*. 2015. Vol. 521. P. 305–314.
158. Oren A. Bioenergetic aspects of halophilism // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 1999. Vol. 63. N 2. P. 334–348.
159. Ortega-Morales B.O., Gaylarde C.C., Englert G.E., Gaylarde P.M. Analysis of salt-containing biofilms on limestone buildings of the Mayan culture at Edzna, Mexico // *Geomicrobiology Journal*. 2005. Vol. 22. N 6. P. 261–268.
160. Ortega-Morales B.O., Narváez-Zapata J., Reyes-Estebanez M., Quintana P., De la Rosa-García S. del C., Bullen H., Gómez-Cornelio S., Chan-Bacab M.J. Bioweathering potential of cultivable fungi associated with semi-arid surface microhabitats of Mayan buildings // *Frontiers in Microbiology*. 2016. Vol. 7. P. 201.
161. Palaniswamy M., Pradeep B.V., Sathya R., Angayarkanni J. Isolation, identification and screening of potential xylanolytic enzyme from litter degrading fungi // *African Journal of Biotechnology*. 2008. Vol. 7. N 12. P. 1978–1982.
162. Panáček A., Kvítek L., Pucek R., Kolár M., Večeřová R., Pizúrová N., Sharma V.K., Nevěčná T., Zbořil R. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity // *The Journal of Physical Chemistry B*. 2006. N 110. P. 16248–16253.
163. Pangallo D., Kraková L., Chovanová K., Šimonovičová A., De Leo F., Urzi C. Analysis and comparison of the microflora isolated from fresco surface and from surrounding air environment through molecular and biodegradative assays // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2012. Vol. 28. P. 2015–2027.
164. Papida S., Murphy W., May E. Enhancement of physical weathering of building stones by microbial populations // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2000. Vol. 46. N 4. P. 305–317.
165. Pasanen P., Korpi A., Kalliokoski P., Pasanen A.L. Growth and volatile metabolite production of *Aspergillus versicolor* in house dust // *Environment International*. 1997. Vol. 23. N 4. P. 425–432.

166. Perdomo H., Sutton D.A., García D., Fothergill A.W., Cano J., Gené J., Summerbell R.C., Rinaldi M.G., Guarro J. 2011. Spectrum of clinically relevant *Acremonium* species in the United States // *Journal of Clinical Microbiology*. Vol. 49. N 1. P. 243–256.
167. Piñar G., Ripka K., Weber J., Sterflinger K. The micro-biota of a sub-surface monument the medieval chapel of St. Virgil (Vienna, Austria) // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2009. Vol. 63. N 7. P. 851–859.
168. Pinheiro A.C., Mesquita N., Trovão J., Soares F., Tiago I., Coelho C., de Carvalho H.P., Gil F., Catarinod L., Piñar G., Portugal A. Limestone biodeterioration: A review on the Portuguese cultural heritage scenario // *Journal of Cultural Heritage*. 2019. Vol. 36. 275–285.
169. Pinna D., Salvadori B., Galeotti M. Monitoring the performance of innovative and traditional biocides mixed with consolidants and water-repellents for the prevention of biological growth on stone // *Science of the Total Environment*. 2012. Vol. 423. P. 132–141.
170. Pitt J.I., Hocking A.D. Influence of solute and hydrogen ion concentration on the water relations of some xerophilic Fungi // *Journal of General Microbiology*. 1977. Vol. 101. P. 35–40.
171. Plaza P., Usall J., Texidó N., Viñas I. Effect of water activity and temperature on germination and growth of *Penicillium digitatum*, *P. italicum* and *Geotrichum candidum* // *Journal of Applied Microbiology*. 2003. N 94. P. 549–554.
172. Plemenitaš A., Gunde-Cimerman N. Cellular responses in the halophilic black yeast *Hortaea werneckii* to high environmental salinity. In: *Adaptation to life at high salt concentrations in Archaea, Bacteria, and Eukarya*. Dordrecht: Springer, 2005. P. 455–470.
173. Plemenitaš A., Vaupotič T., Lenassi M., Kogej T., Gunde-Cimerman N. Adaptation of extremely halotolerant black yeast *Hortaea werneckii* to increased osmolarity: a molecular perspective at a glance // *Studies in Mycology*. 2008. №61. P.67–75.
174. Poole N.J., Price P.C. The occurrence of *Chrysosporium pannorum* in soils receiving incremental cellulose // *Soil Biology and Biochemistry*. 1971. Vol. 3. N 3. P. 161–166.
175. Prasad P., Varshney D., Adholeya A. Whole genome annotation and comparative genomic analyses of bio-control fungus *Purpureocillium lilacinum* // *BMC genomics*. 2015. Vol. 16. N 1. P. 1004.
176. Rahn O., Van Eseltine W. P. Quaternary ammonium compounds // *Annual Reviews in Microbiology*. 1947. Vol. 1. N 1. P. 173–192.

177. Rai M., Yadav A., Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials // *Biotechnology Advances*. 2009. N 27. P. 76–83.
178. Rambaut, A., Drummond, A.J. Tracer v. 1.5. Computer program and documentation distributed by the authors. 2007. Available from: <http://beast.bio.ac.uk/Tracer> (accessed: 19 June 2019).
179. Ranalli G., Zanardini E., Sorlini C. Biodeterioration – including cultural heritage. In: *Encyclopedia of Microbiology* (3rd edition). Oxford: Elsevier, 2009. P. 191–205.
180. Raper K.B., Fennell D.I. *The genus Aspergillus*. Baltimore: The Williams and Wilkins Company, 1965.
181. Raper K.B., Thom C., Fennell D.I. *A manual of the Penicillia*. New York, London: Hafner Publishing Company, 1968.
182. Rosado T., Gil M., Caldeira, A.T., Martins M.D.R., Dias C.B., Carvalho L., Mirão J., Candeias A. E. Material characterization and biodegradation assessment of mural paintings: Renaissance frescoes from Santo Aleixo Church, Southern Portugal // *International Journal of Architectural Heritage*. 2014. Vol. 8. N 6. P. 835–852.
183. Saleem A., El-Said A.H.M., Moharram A.M., Abdelnaser E.G. Cellulolytic activity of fungi isolated from anise and cumin spices and potential of their oils as antifungal agents // *Journal of Medicinal Plants Research*. 2013. Vol. 7. N 17. P. 1169–1181.
184. Samson R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C. *Introduction to Food- and Airborne Fungi*, seventh ed. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2004.
185. Sand W. Microbial mechanisms of deterioration of inorganic substrates – a general mechanistic overview // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 1997. Vol. 40. N 2–4. P. 183–190.
186. Sand W., Bock E. Biodeterioration of mineral materials by microorganisms – biogenic sulfuric and nitric acid corrosion of concrete and natural stone // *Geomicrobiology Journal*. 1991. Vol. 9. P. 129–138.
187. Sautour M., Rouget A., Dantigny P., Divies C., Bensoussan M. Prediction of conidial germination of *Penicillium chrysogenum* as influenced by temperature, water activity and pH // *Letters in Applied Microbiology*. 2001. N 32. P. 131–134.
188. Sazanova K., Osmolovskaya N., Schiparev S., Yakkonen K., Kuchaeva L., Vlasov D. 2015. Organic acids induce tolerance to zinc- and copper-exposed fungi under various growth conditions // *Current Microbiology*. Vol. 70. N 4. P. 520–527.
189. Sazanova K.V., Vlasov D.Yu., Osmolovskaya N.G., Schiparev S.M., Rusakov A.V. Significance and regulation of acids production by rock-inhabited fungi. In: *Biogenic–*

- abiogenic interactions in natural and anthropogenic systems. Cham: Springer, 2016. P. 379–392.
190. Scheerer S., Ortega-Morales O., Gaylarde C. Microbial deterioration of stone monuments – an updated overview // *Advances in Applied Microbiology*. 2009. Vol. 66. P. 97–139.
191. Schnabel L. The treatment of biological growths on stone: a conservator's viewpoint // *International Biodeterioration*. 1991. Vol. 28. N 1–4. P. 125–131.
192. Schoch C.L., Seifert K.A., Huhndorf S., Robert V., Spouge J.L., Levesque C.A., Chen W., Fungal Barcoding Consortium. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012. N 109. P. 6241–6246. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1117018109.
193. Segers F.J., Meijer M., Houbraken J., Samson R.A., Wösten H.A., Dijksterhuis J. Xerotolerant *Cladosporium sphaerospermum* are predominant on indoor surfaces compared to other *Cladosporium* species // *PloS One*. 2015. Vol. 10. N 12. P. e0145415.
194. Seifert K., Morgan-Jones G., Gams W., Kendrick B. *The genera of Hyphomycetes*. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, 2011.
195. Semenov A.M., Batomunkueva B.P., Nizovtseva D.V., Panikov N.S. Method of determination of cellulase activity in soils and in microbial cultures, and its calibration // *Journal of Microbiological Methods*. 1996. Vol. 24. N 3. P. 259–267.
196. Sharma V.K., Yngard R.A., Lin Y. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities // *Advances in Colloid and Interface Science*. 2009. N 145. P. 83–96.
197. Shirakawa M.A., Beech I.B., Tapper R., Cincotto M.A., Gambale W. The development of a method to evaluate bioreceptivity of indoor mortar plastering to fungal growth // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2003. Vol. 51. N 2. P. 83–92.
198. Shirakawa M.A., Gaylarde C.C., Sahão H.D., Lima J.R.B. Inhibition of *Cladosporium* growth on gypsum panels treated with nanosilver particles // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2013. N 85. P. 57–61.
199. Šimonovičová A., Gódyová M., Kunert J. *Engyodontium album*, a new species of microscopic fungi for Slovakia and its keratinolytic activity // *Biologia (Bratislava)*. 2004. Vol. 59. N 1. P. 17–18.

200. Šimonovičová, A., Gódyová, M., & Ševc, J. Airborne and soil microfungi as contaminants of stone in a hypogean cemetery // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2004. Vol. 54. N 1. P. 7–11.
201. Srivastava A.K., Singh D.B., Rai B. Colony interactions and mycoparasitism between *Acremonium furcatum* and *Aspergillus* spp. // *Plant and Soil*. 1981. Vol. 59. N 2. P. 353–356.
202. Sterflinger K. Fungi as geologic agents // *Geomicrobiology Journal*. 2000. Vol. 17. N 2. P. 97–124.
203. Sterflinger K. Fungi: their role in deterioration of cultural heritage // *Fungal Biology Reviews*. 2010. Vol. 24. N 1. P. 47–55.
204. Sterflinger K., Krumbein W.E. Dematiaceous fungi as a major agent for biopitting on Mediterranean marbles and limestones // *Geomicrobiology Journal*. 1997. Vol. 14. N 3. P. 219–230.
205. Sterflinger K., Piñar G. Microbial deterioration of cultural heritage and works of art – tilting at windmills? // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2013. Vol. 97. N 22. P. 9637–9646.
206. Stöver B.C., Müller K.F. TreeGraph 2; Combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses // *BMC Bioinformatics*. 2010. Vol. 11. N 7.
207. Su L., Zhu H., Guo Y., Du X., Guo J., Zhang L., Qin, C. *Lecanicillium coprophilum* (Cordycipitaceae, Hypocreales), a new species of fungus from the feces of *Marmota monax* in China. *Phytotaxa*. 2019. N 387. P. 55–62.
208. Sugiyama J., Kiyuna T., Nishijima M., An K.D., Nagatsuka Y., Tazato N., Handa Y., Hata-Tomita J., Sato J., Kigawa R., Sano C. Polyphasic insights into the microbiomes of the Takamatsuzuka Tumulus and Kitora Tumulus // *The Journal of General and Applied Microbiology*. 2017. Vol. 63. N 2. P. 63–113.
209. Suihko M.L., Alakomi H.L., Gorbushina A.A., Fortune I., Marquardt J., Saarela M. Characterization of aerobic bacterial and fungal microbiota on surfaces of historic Scottish monuments // *Systematic and Applied Microbiology*. 2007. Vol. 30. N 6. P. 494–508.
210. Sukumaran J., Holder M.T. DendroPy: A Python library for phylogenetic computing. *Bioinformatics*. 2010. N 26. P. 1569–1571.
211. Summerbell R.C., Gueidan C., Schroers H.J., De Hoog G.S., Starink M., Rosete Y.A., Guarro J., Scott J.A. *Acremonium* phylogenetic overview and revision of *Gliomastix*,

- Sarocladium* and *Trichothecium* // *Studies in Mycology*. 2011. N 68. P. 139–162.
<https://doi.org/10.3114/sim.2011.68.06>.
212. Tarayre C., Bauwens J., Brasseur C., Mattéotti C., Millet C., Guiot P.A., Destain J., Vandebol M., Portetelle D., De Pauw E., Haubruge E., Francis F., Thonart P. Isolation and cultivation of xylanolytic and cellulolytic *Sarocladium kiliense* and *Trichoderma virens* from the gut of the termite *Reticulitermes santonensis* // *Environmental Science and Pollution Research*. 2015. Vol. 22. N 6. P. 4369–4382.
213. Tiano P. 2002. Biodegradation of cultural heritage: decay mechanisms and control methods // Seminar article, New University of Lisbon, Department of Conservation and Restoration. P. 7–12.
214. Tomaselli L., Lamenti G., Bosco M., Tiano P. Biodiversity of photosynthetic microorganisms dwelling on stone monuments. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2000. Vol. 46. N 3. P. 251–258.
215. Trovão J., Portugal A., Soares F., Paiva D.S., Mesquita N., Coelho C., Pinheiro A.C., Catarino L., Gil F., Tiago, I. Fungal diversity and distribution across distinct biodeterioration phenomena in limestone walls of the old cathedral of Coimbra, UNESCO World Heritage Site // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2019. Vol. 142. P. 91–102.
216. Trovão J., Gil F., Catarino L., Soares F., Tiago I., Portugal A. Analysis of fungal deterioration phenomena in the first Portuguese King tomb using a multi-analytical approach. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2020. Vol. 149. 104933.
217. Tsang C.C., Chan J.F.W., Pong W.-M., Chen J.H.K., Ngan A.H.Y., Cheung M., Lai C.K.C., Tsang D.N.C., Lau S.K.P., Woo P.C.Y. Cutaneous hyalohyphomycosis due to *Parengyodontium album* gen. et comb. nov. // *Medical mycology*. 2016. Vol. 54. N 7. P. 699–713.
218. Unković N., Dimkić I., Stupar M., Stanković S., Vukojević J., Grbić M.L. Biodegradative potential of fungal isolates from sacral ambient: in vitro study as risk assessment implication for the conservation of wall paintings // *PLoS One*. 2018. Vol. 13. N 1. e0190922.
219. Unković N., Grbić M. L., Stupar M., Savković Ž., Jelikić A., Stanojević D., Vukojević J. Fungal-induced deterioration of mural paintings: in situ and mock-model microscopy analyses // *Microscopy and Microanalysis*. 2016. Vol. 22. N 2. P. 410–421.

220. Van der Wel G.K., Adan O.C.G., Bancken E.L.J. Towards an ecofriendly control of fungal growth on coated plasters? // *Progress in organic coatings*. 1999. Vol. 36. N 3. P. 173–177.
221. Van Heyningen S., Secher D.S. A new alkaline protease from *Acremonium kiliense* // *Biochemical Journal*. 1971. Vol. 125. N 4. P. 1159.
222. Vaupotič T., Plemenitaš A. Differential gene expression and Hog1 interaction with osmoresponsive genes in the extremely halotolerant black yeast *Hortaea werneckii* // *BMC Genomics*. 2007. Vol.8. N 280. P.1471–2164.
223. Veneranda M., Prieto-Taboada N., de Vallejuelo S.F.O., Maguregui M., Morillas, H., Marcaida, I., Castro K., Madariaga J.M., Osanna M. Biodeterioration of Pompeian mural paintings: fungal colonization favoured by the presence of volcanic material residues. *Environmental Science and Pollution Research*. 2017. N 24. P. 19599–19608.
224. Verdier T., Coutand M., Bertron A., Roques C. A review of indoor microbial growth across building materials and sampling and analysis methods. *Building and Environment*. 2014. N 80. P. 136–149.
225. Wang G., Liu Z., Lin R., Li E., Mao Z., Ling J., Yang Y., Yin W.-B., Xie B. 2016. Biosynthesis of antibiotic leucinostatins in bio-control fungus *Purpureocillium lilacinum* and their inhibition on *Phytophthora* revealed by genome mining // *PLoS pathogens*. Vol. 12. N 7. e1005685.
226. Warcup J.H. The soil-plate method for isolation of fungi from soil // *Nature*. 1950. N 166. P. 117.
227. Warscheid T., Braams J. Biodeterioration of stone: a review // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2000. N 46. P. 343–368.
228. Wasser S.P., Nevo E., Vinogradova O.N., Navrotskaya I.L., Ellanskaya I.A., Volz P.A., Kondratyuk S.Y. Diversity of cryptogamic plants and fungi in “Evolution Canyon”, Nahal Oren, Mount Carmel Natural Preserve, Israel // *Israel Journal of Plant Sciences*. 1995. Vol. 43. N 4. P. 367–383.
229. Watanabe M., Yonezawa T., Lee K.I., Kumagai S., Sugita-Konishi Y., Goto K., Hara-Kudo Y. Molecular phylogeny of the higher and lower taxonomy of the *Fusarium* genus and differences in the evolutionary histories of multiple genes // *BMC Evolutionary Biology*. 2011. Vol. 11. N 1. P. 322.
230. Williams J.I., Pugh G.J.F. Fungal biological flora: *Chrysosporium pannorum* (Link) Hughes 1958 // *International Biodeterioration Bulletin*. 1974. N 10. P. 75–80.

231. Winston P.W., Bates D.H. Saturated solutions for the control of humidity in biological research // *Ecology*. 1960. Vol. 41. N 1. P. 232–237.
232. Wright J.B., Lam K., Hansen D., Burrell R.E. Efficacy of topical silver against fungal burn wound pathogens // *American Journal of Infection Control*. 1999. V. 27. N 4. P. 344–350.
233. Xie J., Li S., Mo C., Xiao X., Peng D., Wang G., Xiao Y. Genome and transcriptome sequences reveal the specific parasitism of the nematophagous *Purpureocillium lilacinum* 36–1 // *Frontiers in Microbiology*. 2016. Vol. 7. P. 1084.
234. Zabielska-Matejuk J. Antifungal properties of new quaternary ammonium compounds in relation to their surface activity // *Wood Science and Technology*. 2005. Vol. 39. N 3. P. 235–243.
235. Zalar P., de Hoog G.S., Gunde-Cimerman N. Ecology of halotolerant dothideaceous black yeasts // *Studies in Mycology*. 1999. N 43. P. 38–48.
236. Zalar P., De Hoog G.S., Schroers H.J., Crous P.W., Groenewald J.Z., Gunde-Cimerman N. Phylogeny and ecology of the ubiquitous saprobe *Cladosporium sphaerospermum*, with descriptions of seven new species from hypersaline environments // *Studies in Mycology*. 2007. Vol. 58. P. 157–183.
237. Zare R., Gams W. A revision of *Verticillium* sect. Prostrata. IV. The genera *Lecanicillium* and *Simplicillium* gen. nov. // *Nova Hedwigia*. 2001. N 73. P. 1–50.
238. Zwickl D.J. Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion. PhD dissertation. Austin: 2006. 115 p.

ПРИЛОЖЕНИЕ

1. Состав питательных сред

1.1. Агаризованные среды для выделения и культивирования микромицетов

Среда Чанека (ЧА) (рН 5,5, режим стерилизации – 30 мин при 1 атм) на 1 л среды:

Сахароза – 30 г;

NaNO₃ – 1 г;

K₂HPO₄ – 1 г;

MgSO₄×7H₂O – 0,5 г;

KCl – 0,5 г;

FeSO₄ – 0,01 г;

Агар – 20 г;

H₂O – 1 л.

Среда Чанека с крахмалом (ЧК), (рН 7,2–7,4, режим стерилизации – 30 мин при 1 атм) на 1 л среды:

Крахмал – 30 г;

NaNO₃ – 1 г;

K₂HPO₄ – 1 г;

MgSO₄×7H₂O – 0,5 г;

KCl – 0,5 г;

FeSO₄ – 0,01 г;

Агар – 20 г;

H₂O – 1 л.

Сусло-агар (СА), (рН 5,46, режим стерилизации – 30 мин при 1 атм) на 1 л среды:

Солодовый экстракт (15 °Баллинга) – 200 мл;

Агар – 20 г;

H₂O – 1 л.

Картофельно-глюкозный агар (КГА) (Sigma, США) (рН 5,6, режим стерилизации – 15 мин при 1 атм) на 1 л среды:

Картофельный экстракт – 4 г;

Глюкоза – 20 г;

Агар – 15 г;

H₂O (дистиллированная) – 1 л.

Сусло-агар с дрожжевым экстрактом (СДА) (Sigma, США), (рН 6,2, режим стерилизации – 15 мин при 1 атм) на 1 л среды:

Пептон – 5 г;

Дрожжевой экстракт – 3 г;

Солодовый экстракт – 3 г;

Глюкоза – 10 г;

Агар – 20 г;

H₂O (дистиллированная) – 1 л.

Картофельно-морковный агар (КМА) (на 1 л среды) (режим стерилизации – 30 мин при 0,5 атм) (Gams et al., 1998):

Картофельно-морковный экстракт – 500 мл;

Агар – 20 г;

H₂O – 1 л.

Приготовление картофельно-морковного экстракта:

Картофель – 40 г;

Морковь – 40 г;

H₂O – 1 л.

Очищенные овощи мелко нарезать, добавить воду и кипятить в течение 15 мин; смесь профильтровать через марлю.

1.2. Среды с разными значениями активности воды

на 500 мл среды (режим стерилизации – 30 мин при 1 атм):

a_w 0,95:

Глицерин – 84,9 мл;

Солодовый экстракт (15 °Баллинга) – 100 мл;

H₂O (дистиллированная) – 315,1мл.

a_w 0,90:

Глицерин – 144,6 мл;

Солодовый экстракт (15 °Баллинга) – 100 мл;

H₂O (дистиллированная) – 255,4 мл.

a_w 0,85:

Глицерин – 191,1 мл;

Солодовый экстракт (15 °Баллинга) – 100 мл;

H₂O (дистиллированная) – 208,9 мл.

a_w 0,80:

Глицерин – 228,2 мл;

Солодовый экстракт (15 °Баллинга) – 100 мл;

H₂O (дистиллированная) – 171,8 мл.

a_w 0,75:

Глицерин – 259,7 мл;

Солодовый экстракт (15 °Баллинга) – 100 мл;

H₂O (дистиллированная) – 140,3 мл.

a_w 0,65:

Глицерин – 335 мл;

Солодовый экстракт (15 °Баллинга) – 100 мл;

H₂O (дистиллированная) – 65 мл.

1.3. Среды с разными значениями pH

Минеральный компонент (на 1 л среды):

0.2 М буферная смесь* – 500 мл;

NaCl – 5 г;

K₂HPO₄ – 1 г;

KNO₃ – 1 г.

Питательный компонент (на 1 л среды):

Солодовый экстракт (15 °Баллинга) – 200 мл;

Дрожжевой экстракт – 1 г;

H₂O – 500 мл;

Агар – 20 г.

* - на основе цитратного (pH 4; 5), фосфатного (pH 7) и карбонатно-бикарбонатного (pH 9; 10) буферов (Grum-Grzhimaylo et al., 2016).

Цитратный буфер:

1. 0,2М раствор лимонной кислоты: 8,4 г C₆H₈O₇ *H₂O (*M* = 210 г/моль) растворяли в 200 мл дистиллированной воды (pH около 2);

2. 0,2М раствор лимоннокислого натрия: 11,8 г Na₃C₆H₅O₇*2H₂O (*M* = 294 г/моль) растворяли в 200 мл дистиллированной воды (pH около 8).

Фосфатный буфер:

1. 0,2М Na₂HPO₄*12H₂O (*M* = 358 г/моль): 14,3 г растворяли в 200 мл дистиллированной воды;

2. 0,2М NaH₂PO₄*2H₂O (*M* = 156 г/моль): 6,2 г растворяли в 200 мл дистиллированной воды.

Карбонатно/бикарбонатный буфер:

1. 0,2М Na₂CO₃ (*M* = 106 г/моль): 4.2 г растворить в 200 мл дистиллированной воды;

2. 0,2М NaHCO₃ ($M = 84$ г/моль): 3,3 г растворить в 200 мл дистиллированной воды.

Минеральный компонент готовили под контролем рН-метра, доводя до нужного значения рН. Компоненты среды стерилизовали отдельно 30 минут при избыточном давлении 0,5 атм, после остывания до примерно 50 °С сливали вместе, повторно измеряли итоговое значение рН.

1.4. Агар с глюкозой и CaCO₃ (CaCO₃ glucose agar) (Pangallo et al., 2012), рН 7,1–7,3, на 1 л среды (режим стерилизации – 30 мин при 1 атм):

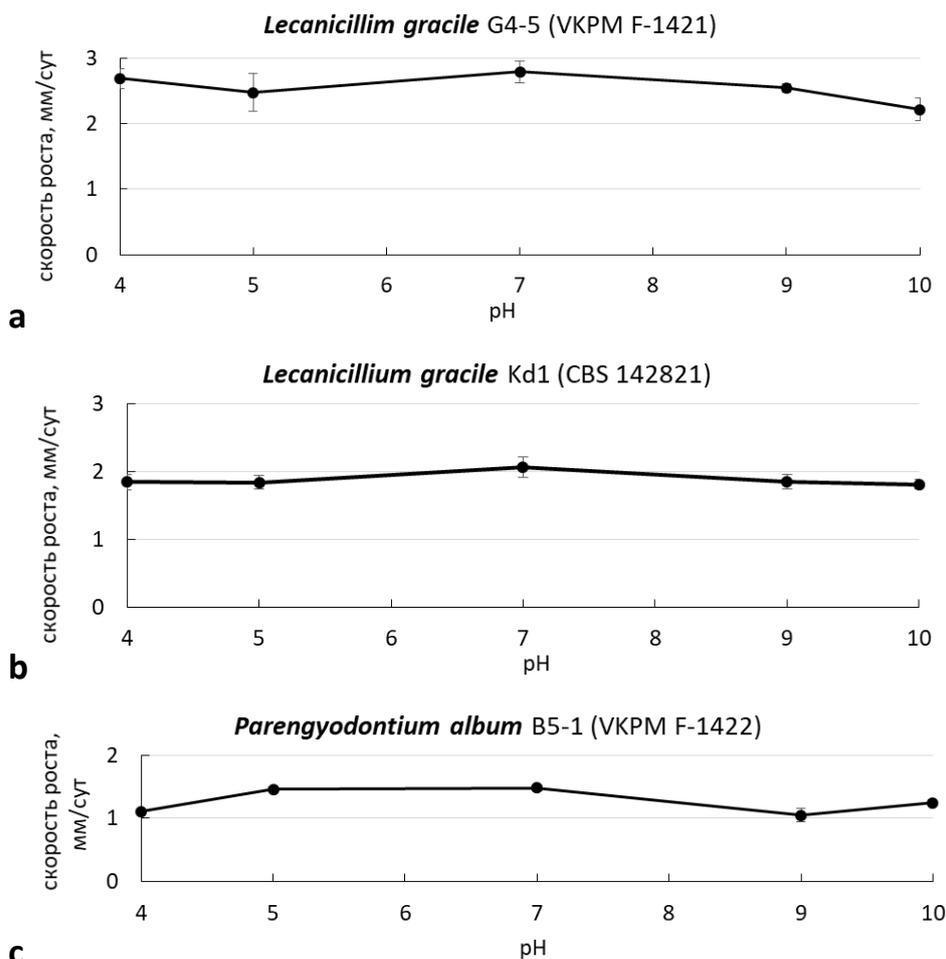
CaCO₃ – 5 г;

Глюкоза – 10 г;

Агар – 15 г.

Готовую среду после стерилизации остужали примерно до 45 °С при постоянном помешивании для более равномерного распределения карбоната кальция (Unković et al., 2018).

2. Скорость роста колоний грибов при разных значениях рН среды



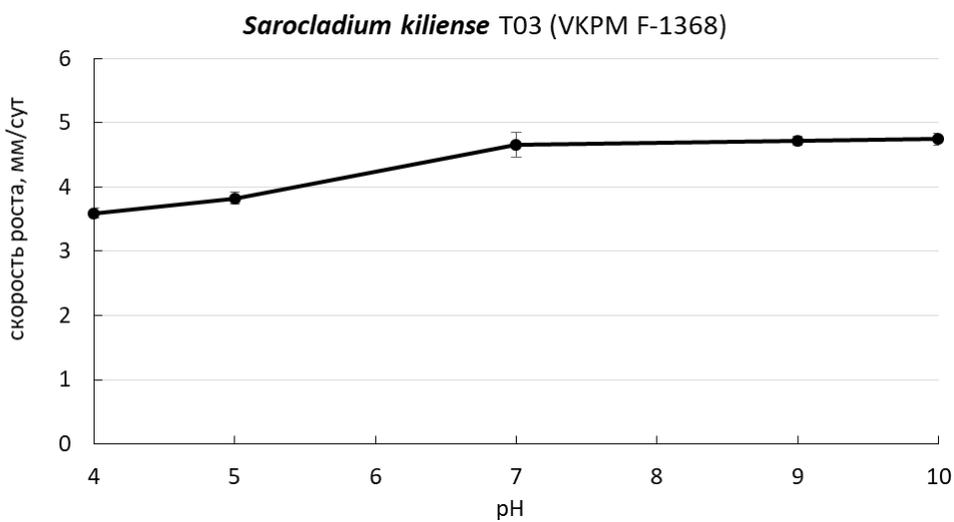
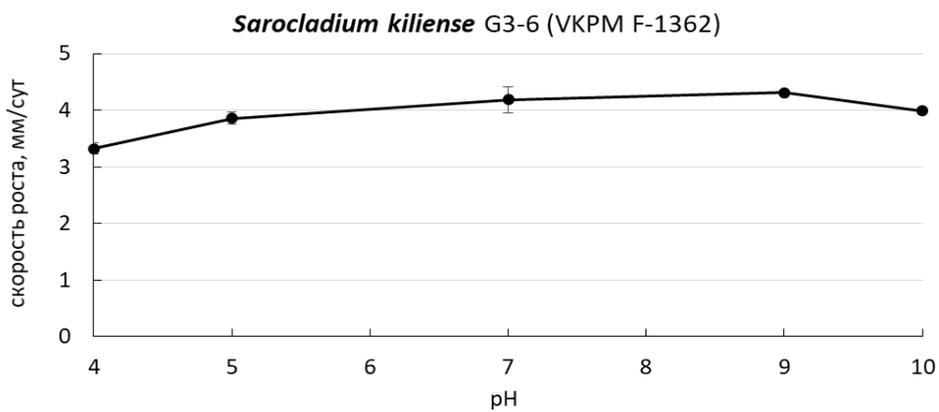
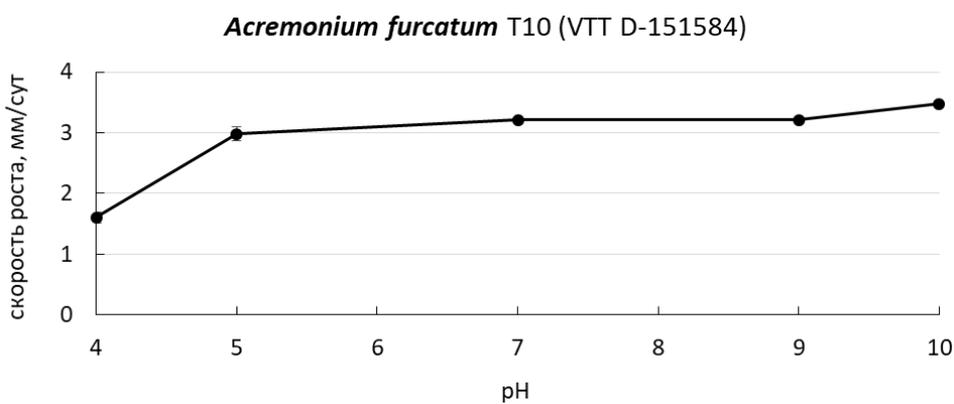
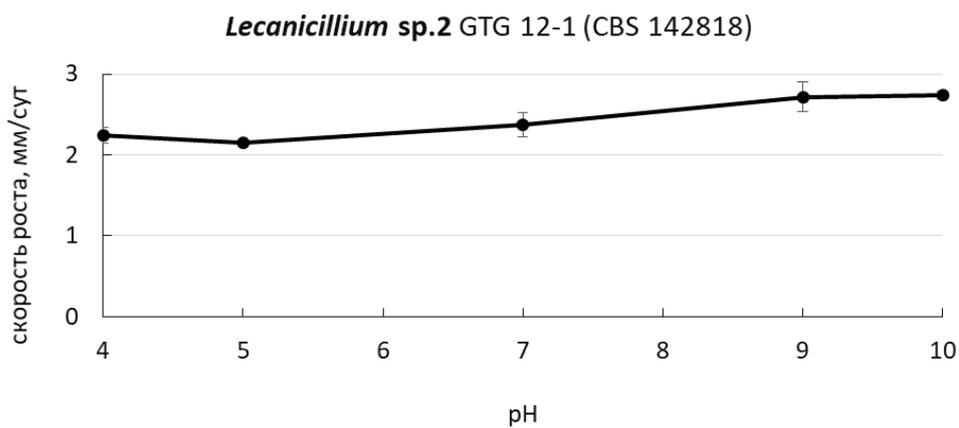


Рисунок П1. Зависимость скорости роста колоний сильных алкалотолерантов от значений pH. На графиках представлены средние значения по шести повторностям и стандартное отклонение.





b

Рисунок П2. Зависимость скорости роста колоний алкалофилов от значений pH. На графиках представлены средние значения по шести повторностям и стандартное отклонение.

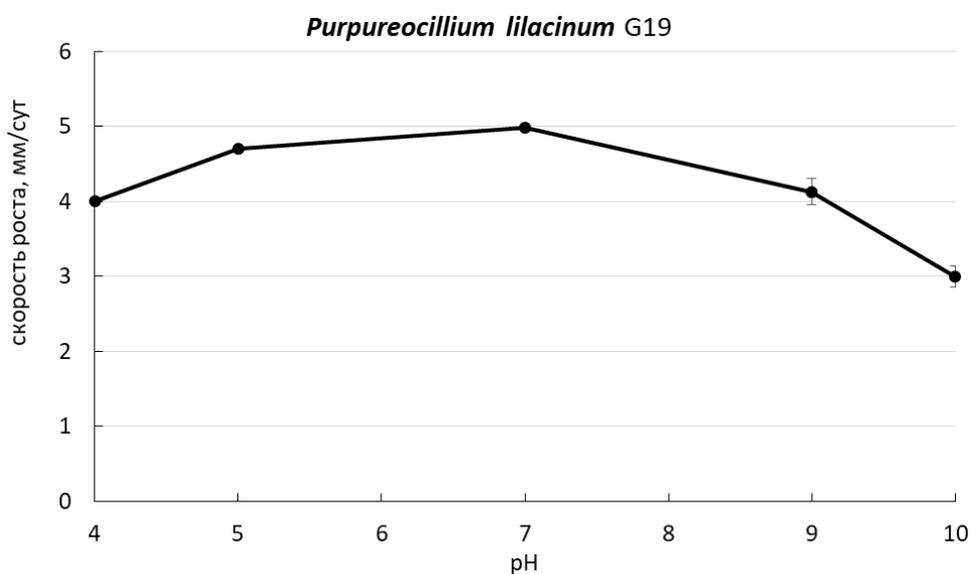
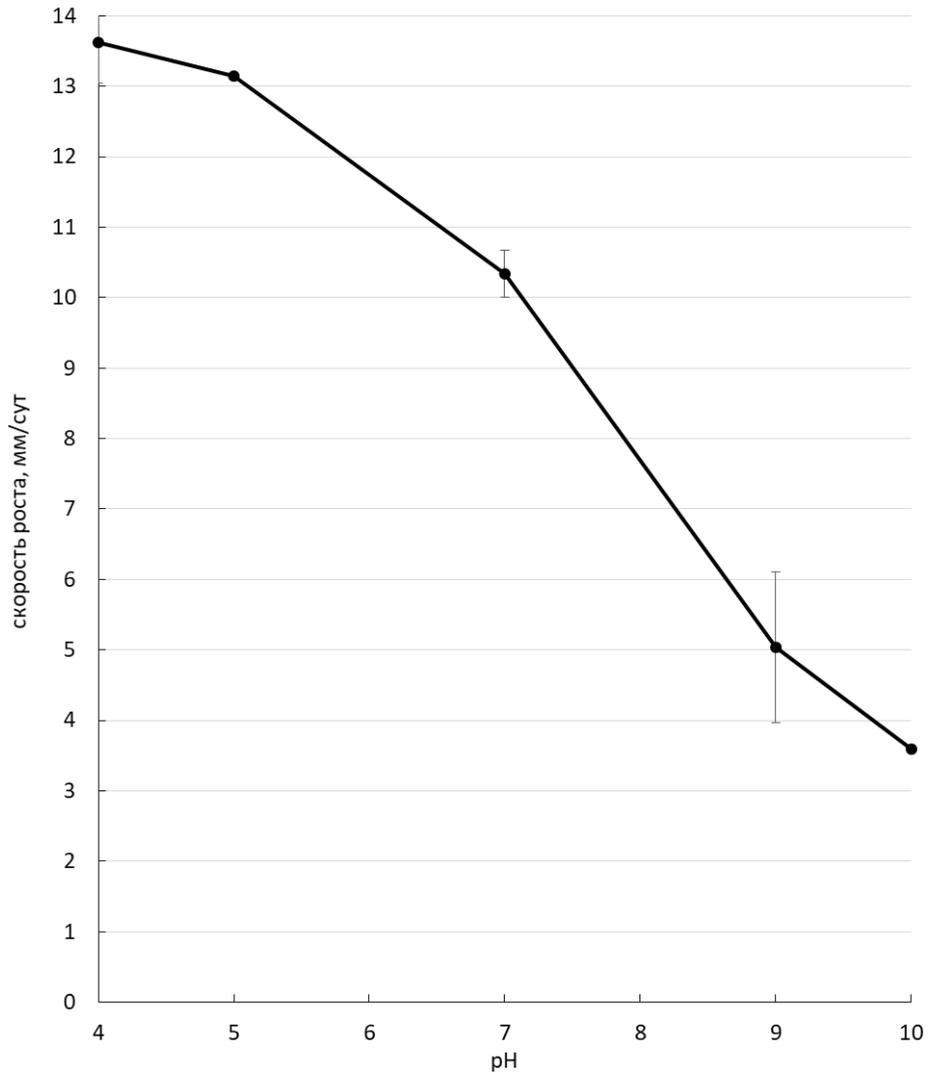


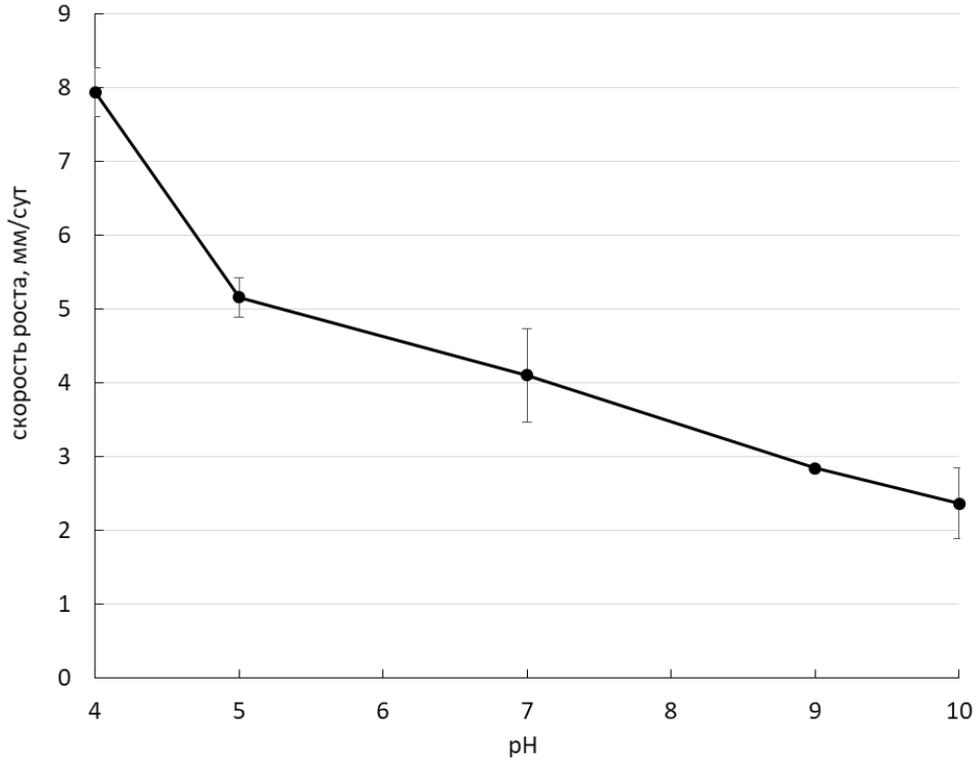
Рисунок П3. Зависимость скорости роста колоний умеренных алкалотолерантов от значений pH. На графиках представлены средние значения по шести повторностям и стандартное отклонение.

Aspergillus flavus TK1-4



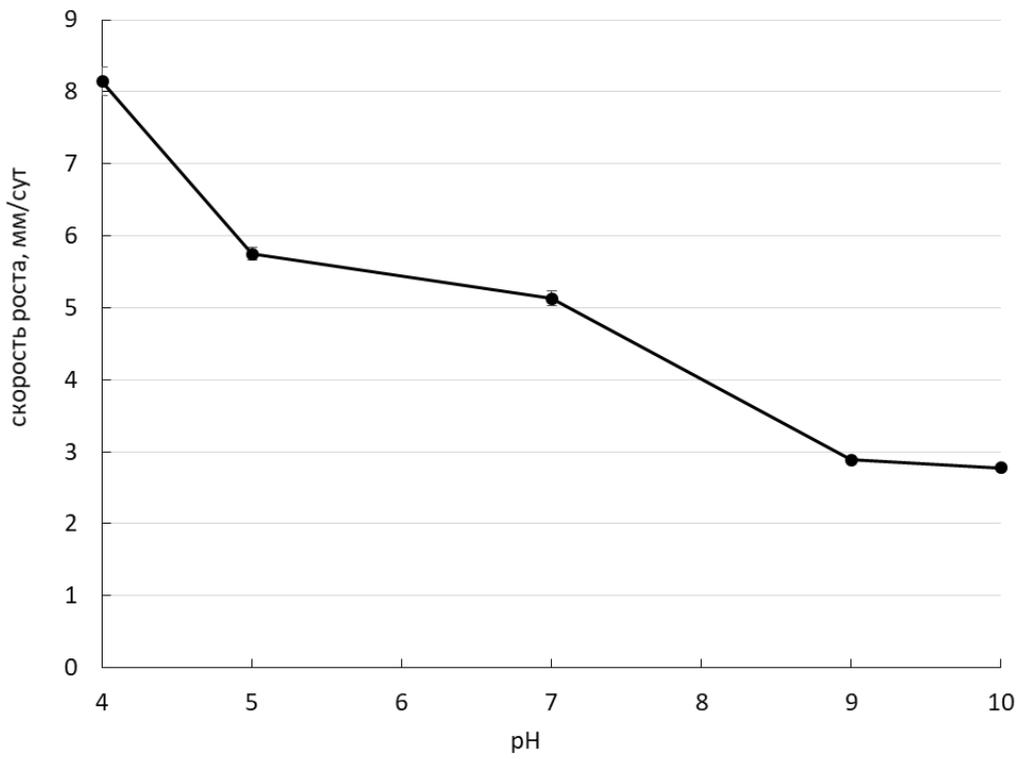
a

Penicillium chrysogenum TK1-7

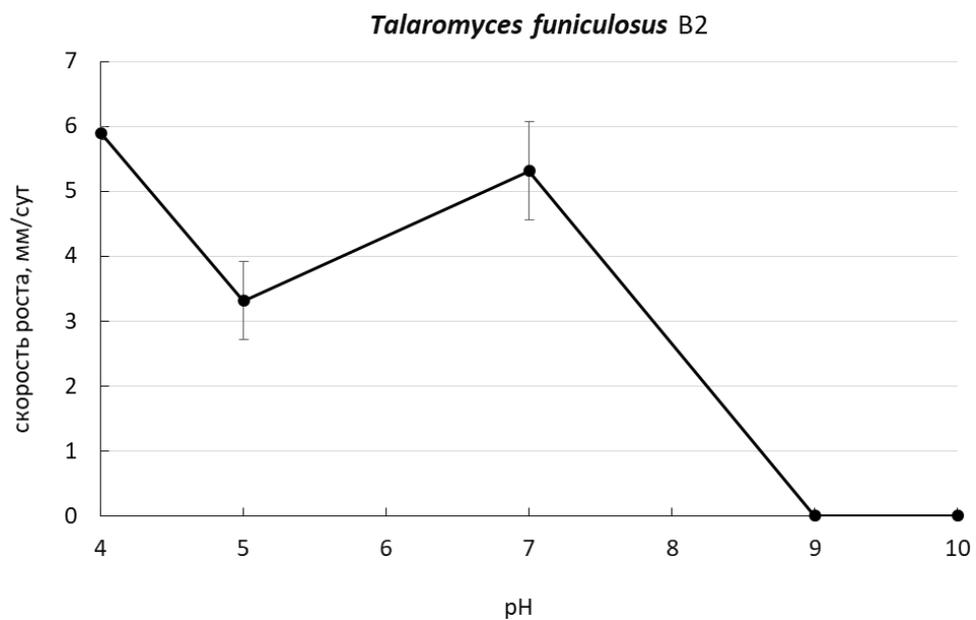


b

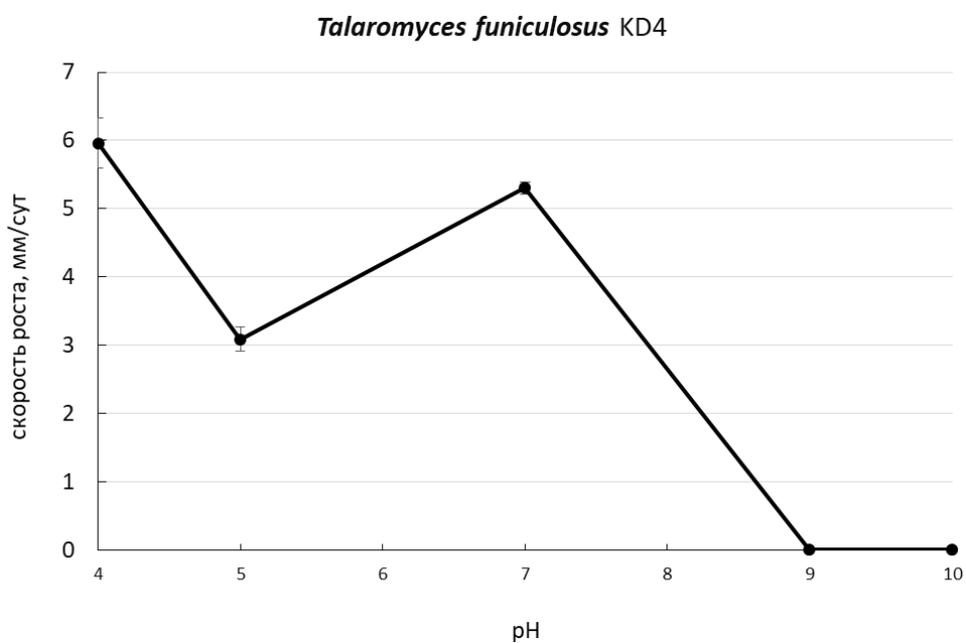
Penicillium chrysogenum GTG1



c



d



e

Рисунок П4. Зависимость скорости роста колоний ацидофилов от значений pH. На графиках представлены средние значения по шести повторностям и стандартное отклонение.