

Б. П. АВАКЯН

ВЛИЯНИЕ ДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫХ ЛУЧЕЙ НА ИЗМЕНЧИВОСТЬ ОСНОВНЫХ ПРИЗНАКОВ МИКРООРГАНИЗМОВ ВИНА

Ультрафиолетовые лучи хотя и являются мощным бактерицидным фактором, однако не всегда обеспечивают угнетение микроорганизмов. В отдельных случаях они вызывают в клетке различного характера цитологические изменения. Эти лучи способствуют процессу мутационной приспособляемости микроорганизмов, а также получению мутантов с новыми ценными свойствами.

Исследования последних лет, связанные с применением ультрафиолетовых лучей, позволили открыть ряд закономерностей его биологического действия, мутационного эффекта и возможности угнетения нежелательных микроорганизмов.

М. Н. Мейсель и Н. Д. Черняев [6] опубликовали работу по научным и практическим вопросам лучевой стерилизации и пастеризации. Г. М. Франк [9] в своих исследованиях рассматривал биологическое действие ультрафиолетовых лучей. Е. К. Серебрякова [8], а также Г. М. Франк и А. Я. Гольдфельд [10] изучили действие ультрафиолетовых лучей на микроорганизмы и выяснили вопросы реактивации облученных микробов. К. В. Косиков и С. Г. Раевская [5] установили влияние ионизирующего излучения на изменчивость дрожжей и сбраживание сахарозы. С. И. Алиханян [1] выяснил вопрос применения различных физических и химических факторов в селекции микроорганизмов.

А. А. Прокофьева-Бельговская, Г. Р. Михайлова, Л. Н. Ерохина [7] рассматривали действие ультрафиолетовых лучей на цитологические изменения в клетке и фотореактивацию спор актиномицетов. С. З. Брокская [2] выяснила влияние различных доз ультрафиолетового облучения на получение культуры *Aspergillus niger* с активной протеазой. Л. И. Ерохина [3] использовала ультрафиолетовые лучи для селекции микроорганизмов—продуцентов стрептомицина. Л. А. Ерзинкян, Л. Г. Акопян, Л. М. Чарян [4] установили, что под действием ультрафиолетовых лучей у лактозосбраживающих дрожжей происходят изменения их морфологических и физиологических свойств. Мурахаси Таехо, Иосида Коносукэ, Като Мацуко [11] выяснили, что некоторые штаммы бактерий после их ультрафиолетового облучения теряли признак кислотоустойчивости.

Задачей наших изучений было установить действие ультрафиолетовых лучей на основные микроорганизмы вина. В процессе изучений нами также выяснялись факторы и условия воздействия ультрафиолетовыми лучами на основные микроорганизмы вина с целью повышения эф-

фективности бактерицидных свойств излучения. Облучая микроорганизмы вина ультрафиолетовыми лучами различной мощности, нами были получены режимы обработок, позволяющие угнетать жизнедеятельность этих микроорганизмов. Наряду с этим, при определенных экспозициях облученные микроорганизмы (в нелетальной дозе) по сравнению с исходными культурами отличались не только по морфологическим и физиологическим особенностям, но и биохимическим признакам.

В связи с этим были поставлены опыты для выяснения характера и особенностей изменчивости основных микроорганизмов вина под воздействием этих лучей. Работа проводилась в специальной камере. Применялась ультрафиолетовая лампа (ПРК-4) на расстоянии от поверхности среды 8—9 см, длительность обработки 1 мин., толщина слоя 1 см. Среда при обработке охлаждалась.

Рассев образцов делался на различных средах: виноградное сусло-агар, капустная среда-агар. Жидкие среды брались разной концентрации спирта, хлорного натрия. Выносливость к температуре проверялась при $t=27^{\circ}$ и $t=35^{\circ}$.

Чистые культуры уксуснокислых бактерий во всех случаях размножались в слабоградусном столовом вине, молочнокислые бактерии—в слабоградусном сладком вине, винные и дикие дрожжи—в виноградном сусле. После термостатирования ($25-27^{\circ}$) подсчитывалось количество микроорганизмов в 1 мл и проводилась их обработка ультрафиолетовыми лучами. У исходных и облученных микроорганизмов устанавливались морфологические, физиологические свойства и биохимические признаки.

Для выяснения морфологических свойств уксуснокислых, молочнокислых бактерий, винных и диких дрожжей были проведены специальные изучения (табл. 1).

Из данных табл. 1 видно, что уксуснокислых бактерий в исходном вине было в 45 раз больше, чем в обработанном варианте. Причем, если в исходном образце в чашках Петри выросли мелкие круглые колонии, то среди облученных было больше колоний средней величины. Облученные клетки—на 0,1—0,4 мк были больше.

Сравнивая данные молочнокислых бактерий, можно отметить, что исходные колонии были мелкого размера, а в обработанных вариантах размер колоний увеличивался до среднего и большего; облученные клетки по величине были больше исходной культуры на 0,7—1,1 мк. В результате облучения дрожжей количество их уменьшилось более 50 раз. Форма колоний и размер облученного варианта отличаются от контроля. Среди обработанных встречались также шероховатые. По длине и ширине облученные клетки больше на 0,8—2,3 мк. Примерно такие же данные получены при обработке диких дрожжей.

Устанавливалось также физиологическое состояние испытуемых микроорганизмов. Образцы контроля и обработки после посева в течение 48—72 час. термостатировались ($25-27^{\circ}$), затем проводился учет и устанавливался характер изменений (табл. 2).

Данные табл. 2 показывают, что между исходными и обработанными

Таблица 1

Морфологические признаки уксуснокислых, молочнокислых бактерий и дрожжей при воздействии на них ультрафиолетовыми лучами

Наименование объектов обработки	Результаты роста (количество тыс./мл)	Форма колоний на различных средах с агаром		Величина клетки (микрон)	
		виноградное	капустная	длина	ширина
Столовое вино с уксуснокислыми бактериями (<i>Acetobacter vini</i> , штамм 3), контроль	обильный рост (253,0)	мелкие, круглые колонии, $d=0,1-0,2$ см, без блеска	круглые колонии, средней величины, $d=0,1-0,2$ см, серые без блеска	0,2—0,3	0,4—0,5
Столовое вино с уксуснокислыми бактериями (<i>Acetobacter vini</i> , штамм 3), опыт	5,9	средние, мелкие, круглые колонии, $d=0,1-0,35$ см	средние, мелкие и большие колонии, $d=0,2-0,4$ см, серые без блеска	0,2—0,7	0,4—0,6
Десертное вино с молочнокислыми бактериями (<i>Lactobacterium plantarum</i> , штамм 8), контроль	обильный рост (155,8)	мелкие, выпуклые, круглые колонии с блеском, $d=0,1-0,3$ см	мелкие, средние колонии с блеском, $d=0,1-0,4$ см	1,5—2,8	0,2—0,6
Десертное вино с молочнокислыми бактериями (<i>Lactobacterium plantarum</i> , штамм 8), опыт	2,8	средние, большие выпуклые колонии, $d=0,3-0,4$ см	средние и большие колонии с блеском, $d=0,3-0,4$ см	2,2—4,9	0,3—0,9
Виноградное сусло с дрожжами (<i>Sacch. vini</i> штамм Агавнатун 2), контроль	обильный рост (697)	средние и мелкие матовые, гладкие колонии, $d=0,2-0,4$ см	средние, мелкие матовые, гладкие колонии $d=0,1-0,3$ см	5,0—10,0	4,0—8,0
Виноградное сусло с дрожжами (<i>Sacch. vini</i> , штамм Агавнатун 2), опыт	13,5	разных размеров, матовые, гладкие, встречаются шероховатые колонии $d=0,2-0,8$ см	большие, средние колонии, гладкие, встречаются шероховатые колонии $d=0,3-0,9$ см	5,8—11,4	5,0—10,3

Бродящее сусло с дрожжами (<i>H. apiculata</i> , штамм 12), контроль	обильный рост (394,4)	средние, большие матовые плоские колонии	средние, большие и мелкие матовые, плоские колонии $d=0,3-0,6$ см	4,5—9,0	3,0—4,0
Бродящее сусло с дрожжами (<i>H. apiculata</i> , штамм 12), опыт	17,4	средние, большие матовые плоские колонии	средние, большие и мелкие матовые, плоские колонии $d=0,3-0,6$ см	5,0—11,0	6,0—6,0
Бродящее сусло с дрожжами (<i>Torulopsis utilis</i> , штамм 183/8), контроль	обильный рост (218,6)	мелкие, средние колонии, вы- пуклые $d=0,1-0,3$ см	мелкие, средние выпуклые колонии, гладкие $d=0,1-0,3$ см	3,0—6,5	2,5—6,0
Бродящее сусло с дрожжами (<i>Torulopsis utilis</i> , штамм 183/8), опыт	20,2	мелкие, средние колонии, вы- пуклые $d=0,1-0,3$ см	мелкие, средние выпуклые, гладкие, встречались морщи- нистые колонии	3,0—8,5	3,5—9,0
Столовое вино с дрожжами (<i>Saccharomyc. ludwigii</i> , штамм 211), контроль	обильный рост (801,4)	средние, мелкие гладкие коло- нии $d=0,1-0,3$ см	средние, мелкие, гладкие ко- лонии $d=0,1-0,3$ см	3,0—9,0	2,0—4,0
Столовое вино с дрожжами (<i>Saccharomyc. ludwigii</i> , штамм 211), опыт	14,0	средние, мелкие гладкие коло- нии $d=0,1-0,3$ см	средние, мелкие гладкие ко- лонии $d=0,1-0,3$ см	3,5—11,0	2,9—6,4

Таблица 2

Физиологическое состояние молочнокислых, уксуснокислых бактерий и дрожжей при воздействии на них ультрафиолетовыми лучами

Наименование обработки	Результаты роста (количество тыс./мл)	Устойчивость к спирту (об. %)				Устойчивость к различным концентрациям NaCl %			Выносливость к температуре	
		9	12	15	20	3	5	8	27	35
Столовое вино с уксуснокислыми бактериями (<i>Acetobacter vini</i> , штамм 3), контроль	обильный рост (313,5)	пленка развита	пленка развита	пленка слабо развита	роста нет	пленка развита	пленки нет	пленки нет	пленка развита	пленка развита
Столовое вино с уксуснокислыми бактериями (<i>Acetobacter vini</i> , штамм 3), опыт	4,5	пленка слабо развита	роста нет	роста нет	—	слабая пленка	роста нет	—	пленка развита островками	пленка развита островками
Десертное вино с молочнокислыми бактериями (<i>Lactobacterium plantarum</i> , штамм 8), контроль	обильный рост (209,1)	помутнело	помутнело	помутнело	прозрачное	—	—	—	помутнело	помутнело
Десертное вино с молочнокислыми бактериями (<i>Lactobacterium plantarum</i> , штамм 8), опыт	3,2	помутнело	помутнело	прозрачное	прозрачное	—	—	—	прозрачное	прозрачное
Виноградное сусло с дрожжами (<i>Sacch. vini</i> , штамм Агавнатун 2), контроль	обильный рост (489,5)	помутнело	помутнело	прозрачное	—	помутнело	помутнело	—	помутнело	помутнело
Виноградное сусло с дрожжами (<i>Sacch. vini</i> , штамм Агавнатун 2), опыт	12,7	помутнело	прозрачное	прозрачное	—	помутнело	прозрачное	—	помутнело	помутнело

Виноградное сусло с дрожжами (<i>H. apiculata</i> , штамм 12), контроль	обильный рост 560,4	помут- нело	прозрач- ное	—
Виноградное сусло с дрожжами (<i>H. apiculata</i> , штамм 12), опыт	15,8	прозрач- ное	прозрач- ное	—
Бродящее сусло с дрожжами (Тоги- <i>lopsis utilis</i> , штамм 183/8)	обильный рост 244,0	помут- нело	прозрач- ное	—
Бродящее сусло с дрожжами (Тоги- <i>lopsis utilis</i> , штамм 183/8), опыт	14,0	прозрач- ное	прозрач- ное	—
Столловое вино с дрожжами (<i>Saccha- romys. ludwigii</i> , штамм 211), конт- роль	обильный рост 669,4	помут- нело	помут- нело	—
Столловое вино с дрожжами (<i>Saccha- romys. ludwigii</i> , штамм 211), опыт	9,3	помут- нело	роста нет	—

—	помут- нело	прозрач- ное	—	помутнело	помутнело
—	помут- нело	прозрач- ное	—	помутнело	помутнело
—	помут- нело	прозрач- ное	—	помутнело	помутнело
—	—	—	—	помутнело	помутнело
—	—	—	—	слегка по- мутнело	помутнело
—	—	—	—	слегка по- мутнело	слегка по- мутнело

Биохимические особенности молочнокислых, уксуснокислых бактерий и дрожжей при воздействии на них ультрафиолетовыми лучами

[illegible]

Виноградное сусло с дрожжами (<i>Torulopsis utilis</i> , штамм 183/8), контроль	обильный рост 229,1	++	+	—	+	—	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—
Виноградное сусло с дрожжами (<i>Torulopsis utilis</i> , штамм 183/8), опыт	17,2	+	—	—	—	—	±	+	±	—	—	+	—	—	—	—
Виноградное сусло с дрожжами (<i>Saccharomyc. ludwigii</i> , штамм 211), контроль	обильный рост 777,3	+	—	+	—	—	—	++	—	—	—	—	—	—	—	—
Виноградное сусло с дрожжами (<i>Saccharomyc. ludwigii</i> , штамм 211), опыт	11,4	+	+	—	+	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Примечание: +++ — интенсивное брожение,
 ++ — среднее брожение,
 + — слабое брожение,
 ± — отсутствие брожения.

ми микроорганизмами имеется разница. Уксуснокислые бактерии контроля образовывали пленку на вине, крепостью 15 об. %, а обработанные—крепостью 9 об. %. Неодинаковые данные получены и при сравнении устойчивости к разной концентрации соли, а также выносливости к различным температурам. По молочнокислым бактериям в варианте обработанных культур вино крепостью 15 об.% не помутнело, оно было прозрачным и при $t=27^{\circ}$, в контроле вино этих образцов помутнело.

Обработанные ультрафиолетовыми лучами клетки в среде крепостью 12 об.% не размножались, в контроле же дрожжи развивались. Результаты обработки диких дрожжей показывают, что полученные клетки менее активно росли в виноградном сусле.

В программе изучений было также установление культуральных признаков обработанных микроорганизмов. Результаты исследований показывают, что исходные микроорганизмы по сравнению с контрольными культурами отличались между собой. Уксуснокислые бактерии на вине давали сплошную пленку, а у облученных пленка была островками. Штрих на агаре дал обильный рост, а обработанные культуры—слабый. Примерно такие же результаты получены в случае молочнокислых бактерий. Брожение сусла на контрольных дрожжах было сильным, с помутнением, у облученных дрожжей—умеренное; на среде Городковой размер и форма спор в обоих случаях были почти одинаковыми, однако число спор в облученных было меньше. Жизнеспособные клетки диких дрожжей *H. apiculata*, *Torulopsis utilis*, *Saccharomyc. ludwigii* по характеру развития на виноградном сусле, росту на агаре и другим признакам контрольных и обработанных культур почти не отличались между собой.

В процессе жизнедеятельности микроорганизмов исходных и облученных клеток была установлена разница в биохимической деятельности микроорганизмов (табл. 3).

Из данных табл. 3 видно, что контрольные клетки уксуснокислых бактерий интенсивнее усваивают глюкозу и ксилозу, активнее усваивают этиловый спирт, глицерин и маннит. Молочнокислые бактерии контрольных образцов интенсивнее сбраживают глюкозу, галактозу, активнее усваивают этиловый спирт, облученные бактерии вообще не сбраживают галактозу. По сравнению с контролем винные дрожжи облученного варианта были менее активны по брожению глюкозы, галактозы, усвоению этилового спирта. Они совсем не усваивали глицерина. Дикie дрожжи облученных вариантов по сбраживанию сахаров, усвоению спиртов и органических кислот были менее активнее контрольных.

Таким образом, исследуя действие ультрафиолетовых лучей на жизнедеятельность уксуснокислых, молочнокислых бактерий, диких и винных дрожжей, можно отметить, что обработка этими лучами при установленном времени воздействия, толщине слоя и расстоянии среды от источника по сравнению с исходными культурами приводит к отличию культур по морфологическим, физиологическим свойствам и биохимическим признакам.

Բ. Պ. ԱՎԱԳՅԱՆ

**ՈՒՆԵՐԱՄԱՆՈՒՇԱԿԱԳՈՒՅՆ ՃԱՌԱԳԱՅԹՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԳԻՆՈՒ ՄԻԿՐՈՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐԻ ՀԻՄՆԱԿԱՆ ՀԱՏԿԱՆԻՇՆԵՐԻ
ՓՈՓՈԽՄԱՆ ՎՐԱ**

Ա մ փ ո փ ու մ

Մեր նպատակն է եղել ուսումնասիրել ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների ազդեցությունը դինու հիմնական միկրոօրգանիզմների (կաթնաթթվային և քաղախաթթվային բակտերիաներ, դինու և վայրի շաքարասնկեր) մորֆոլոգիական, ֆիզիոլոգիական, կուլտուրալ և բիոքիմիական հատկանիշների վրա: Փորձերով հաստատված է, որ ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների ազդեցության տակ փոփոխության են ենթարկվում վերը նշված միկրոօրգանիզմների հիմնական հատկությունները:

Բակտերիաները և շաքարասնկերը բնորոշ են խմորման ցածր ակտիվությամբ, այդ միկրոօրգանիզմների բջիշները չափերով ավելի խոշոր են, նրանց որոշ տեսակները ավելի վատ են առաջացնում փառ և բնորոշ են շաքարների խմորման, սպիրտների և օրգանական թթուների յուրացման ավելի ցածր բիոքիմիական ակտիվությամբ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алиханян С. И. Тр. Института микробиологии АН СССР, вып. X, 46, 1961.
2. Броцкая С. З. Тр. Института микробиологии АН СССР, вып. X, 120, 1961.
3. Ерохина Л. И. Тр. Института микробиологии АН СССР, вып. X, 169, 1961.
4. Ерзинкян Л. А., Акопян Л. Г., Чарян Л. М. Вопросы микробиологии. Институт микробиологии АН АрмССР, вып. XIII, 1966.
5. Косиков К. В., Раевская О. Г. Микробиология, т. XXX, вып. 3, 1959.
6. Мейсель М. Н., Черняев Н. Д. Вестник АН СССР, 11, 1956.
7. Прокофьева-Бельговская А. А., Михайлова Г. Р., Ерохина Л. И. Известия АН СССР, серия биол. I, 93, 1961.
8. Серебрякова Е. К. Тез. докл. совещания по биологическому действию ультрафиолетового излучения, 95 (ред. Голанин Н. Ф., 1958).
9. Франк Г. М. Тр. III сессии Академии медицинских наук СССР, 320, 1957.
10. Франк Г. М., Гольдфельд А. Я. Ультрафиолетовое излучение, М., 5, 1958.
11. Мурахаси, Иосида, Коносукэ, Като Мацуко. Японская бактериология, 21, 3, (Япония), 1966.