

5. Растительный покров Белоруссии / Ред. И. Д. Юркевич, В. С. Гельтман. — Минск, 1969.

6. Дылис Н. В. Программа и методика биоценологических исследований. — М., 1974.

Поступила в редакцию
12.03.83.

Кафедра зоологии

УДК 576.858.9+576.852.24

А. Н. СЕЛЬСКОВ

ЛИЗОГЕНИЯ НИЗИНОБРАЗУЮЩИХ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ СТРЕПТОКОККОВ

В настоящее время описаны лишь единичные случаи обнаружения лизогенных штаммов молочнокислых стрептококков [1—3], хотя немало исследований посвящено этому вопросу [4—7]. Анализ указанных работ дал основание предположить, что выявление лизогенных культур молочнокислых стрептококков может быть успешным в тех случаях, когда в качестве объектов исследования используются штаммы, в том числе низинообразующие, обладающие антагонистической активностью. С целью проверки данного предположения, а также учитывая важную роль лизогенных молочнокислых стрептококков как источника фагов в сыродельном производстве и ограниченность сведений о свойствах умеренных фагов данной группы бактерий, нами проведено изучение лизогенности штаммов стрептококков, продуцирующих и не продуцирующих низины и дана характеристика некоторых свойств их умеренных фагов.

Материал и методика

Бактерии. Культуры молочнокислых стрептококков получены из коллекций Всесоюзного научно-исследовательского института маслоделия и сыроделия (г. Углич) и Минского филиала Всесоюзного научно-исследовательского института молочной промышленности. Из 159 изучавшихся штаммов 94 принадлежали к *Str. lactis* (из них 34 являлись продуцентами низина), 21 штамм — к *Str. cremoris* и 44 — к *Str. diacetylactis*.

Питательные среды и реактивы. Во всех опытах использовались среды, приготовленные из гидролизованного молока по методике В. М. Богданова [8], а также фосфатный буфер по прописи [9].

Выявление лизогенных штаммов проводили методом перекрестного испытания культур [10].

Выделение и титрование фагов осуществлялось обычными методами, описанными в руководстве [11]. Все манипуляции с бактериями и фагами проводили при 30 °С.

Определение литической активности бактериофагов проводили путем нанесения капель фаговых суспензий (титр 10^6 — 10^7 бляшкообразующих единиц в 1 мл) на газоны бактериальных культур, приготовленные методом агаровых слоев [12].

Спонтанный фон образования фагов и индуцибельность лизогенных культур проводили по методикам, описанным в руководстве [11]. В качестве источника ультрафиолета использовали лампу БУВ-30 (мощность дозы 3,1 эрг/мм²·с).

Результаты и их обсуждение

Из 159 изученных штаммов молочнокислых стрептококков 10 оказались лизогенными и продуцировали умеренные бактериофаги (табл. 1). Наиболее широко распространены лизогенные культуры среди молочнокислых стрептококков вида *Str. lactis*, причем доля лизогенов в группе низинообразователей была наиболее высокой. Среди культур вида *Str. cremoris* обнаружен лишь один лизогенный штамм, а лизогенных бактерий *Str. diacetylactis* выявить не удалось. Таким образом, способность продуцировать умеренные бактериофаги коррелирует у молочнокислых стрептококков с их антагонистической активностью. Однако об-

Выявление лизогенных штаммов молочнокислых стрептококков

Вид бактерий	Лизогенные штаммы	Доля лизогенных штаммов от общего числа изученных
<i>Str. lactis</i> : образующие низин	442 ₁₀ (61), 859 ₁ (62 и 62а) 81 ₀ (63 и 64), 848 ₀ (65), 228 ₂ (66), bulg(67), 622 ₁₀ (68), 95(69)	0,24
не образующие низин	825(71)	0,017
<i>Str. diacetylactis</i>		0
<i>Str. cremoris</i>	55 _{2K} (70)	0,05

Примечание: в скобках указаны номера выделенных умеренных бактериофагов

разование низина вряд ли связано с присутствием профага в клетках бактерий. Действительно, многие из продуцентов низина нелизогенны, а некоторые из лизогенных штаммов не обладают антагонистической активностью. Более вероятной причиной высокой частоты обнаружения лизогенных культур среди низинообразователей может быть исключение штаммов, продуцирующих умеренные фаги, в ходе составления заквасок для сыроделия. Хотя существующая методика отбора производственных штаммов и не включает тест на наличие умеренных фагов, лизогенные культуры, по-видимому, выбраковываются при изучении антагонистической активности бактерий. Широкое распространение лизогенных штаммов среди низинообразователей позволяет предположить, что такие бактерии, будучи включенными в состав закваски, могут служить одним из источников инфицирования сыродельных заводов бактериофагами молочнокислых стрептококков.

Таблица 2

Морфология негативных колоний и литическая активность умеренных бактериофагов молочнокислых стрептококков

Группа	Бактериофаги	Характер негативных колоний	Индекс литической активности
1	61, 63, 64, 65, 66, 71	Мутные, диаметр 0,5—0,6 мм	0,4—0,5
2	62, 62а, 67, 68, 69, 70	Прозрачные с мутным краем, диаметр 0,9—1,1 мм	0,2—0,3

Примечание: индекс литической активности — доля чувствительных к фагу штаммов от общего числа изученных

Из культуральных жидкостей лизогенных штаммов удалось получить в виде чистых линий 12 умеренных фагов. Сравнение спектров литического действия и морфологии негативных колоний позволило разделить выделенные бактериофаги на две группы (табл. 2). Обращает внимание весьма высокий индекс литической активности умеренных фагов молочнокислых стрептококков. Так, фаги группы 1 способны лизировать до 50 % штаммов использованной коллекции, что значительно превышает литическую активность вирулентных фагов молочнокислых стрептококков [13]. Следует отметить способность умеренных фагов лизировать штаммы не только *Str. lactis*, но также *Str. diacetylactis* и *Str. cremoris*. Такие особенности умеренных фагов молочнокислых стрептококков могут снижать эффективность мер по предупреждению фаголизиса заквасок в сыродельной промышленности.

Таблица 3

Индукция лизогенных культур молочнокислых стрептококков ультрафиолетом

Штамм	Отношение числа фаговых частиц к числу бактериальных клеток в лизогенных культурах после облучения ультрафиолетом в дозе, эрг/мм ²				
	0	93	186	372	558
<i>Str. lactis</i> 825	5·10 ⁻³ (100%)	8·10 ⁻² (74%)	2·10 ⁻² (47%)	3·10 ⁻¹ (25%)	4·10 ⁻² (4%)
<i>Str. cremoris</i> 55 _{2к}	2·10 ⁻⁶ (100%)	1·10 ⁻⁶ (66%)	5·10 ⁻⁴ (42%)	3·10 ⁻² (18%)	6·10 ⁻³ (1,5%)

Примечание: в скобках указана выживаемость бактерий.

Для изучения свойств лизогенных молочнокислых стрептококков использовались штаммы *Str. cremoris* 55_{2к} и *Str. lactis* 825, которые продуцируют фаги 70 и 71, представляющие группы 1 и 2 соответственно. Оба штамма индуцировались ультрафиолетом, причем максимальное увеличение числа фаговых частиц в культурах наблюдалось при дозе ультрафиолета, вызывающей инактивацию 75—80 % клеток, (табл. 3) что хорошо согласуется с данными, полученными Kozac et al. [1]. Заметное увеличение числа фаговых частиц в культурах отмечалось через 60—90 мин после индукции и достигало максимума на 120—180 мин. Титр фагов в лизогенных культурах оказался сравнительно невысоким (около 10³ и 10² бляшкообразующих единиц в 1 мл для *Str. cremoris* 55_{2к} и *Str. lactis* 825 соответственно), однако такое количество фаговых частиц представляется достаточным для снижения активности многоштаммовых заквасок при лизисе чувствительных бактерий.

Выводы

1. Лизогенные штаммы молочнокислых стрептококков наиболее широко распространены среди низинобразующих бактерий вида *Str. lactis*.
2. Выделенные из лизогенных культур 12 умеренных бактериофагов имеют более высокий по сравнению с вирулентными фагами индекс литической активности и обладают способностью лизировать бактерии видов *Str. lactis*, *Str. cremoris*, *Str. diacetylactis*.
3. Изученные лизогенные штаммы характеризуются сравнительно невысоким спонтанным фоном образования фага и индуцируются ультрафиолетом. Максимальный индуцирующий эффект достигается при дозе ультрафиолета, вызывающей инактивацию 75—80 % клеток лизогенных культур.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kozac W., Rajchert-Trzpił M., Zaidel J., Domrzanski J.—Appl. Microbiol., 1973, v. 25, 2, p. 305.
2. McKay L., Baldwin K.—Appl. Microbiol., 1973, v. 25, № 4, p. 682.
3. Мытник Л. Г., Беспалова Н. А., Тихоненко А. С.—Прикл. биохимия и микробиология, 1975, т. 11, № 6, с. 819.
4. Nichols A., Wolf F.—J. Dairy Res., 1945, v. 14, N 1—2, p. 81.
5. Graham D., Parmelee C., Nelson F.—J. Dairy Sci., v. 35, № 10, p. 813.
6. Meadwell L., Symons J.—Int. Dairy Cong., 1953, v. 3, p. 1104.
7. Hunter C.—J. Hyg. Camb., 1947, v. 45, 3, p. 307.
8. Богданов В. М. Микробиология молока и молочных продуктов.—М., 1969.
9. Fisk R.—J. Inf. Dis., 1942, v. 71, N 2, p. 153.
10. Основы бактериофагии.—Минск, 1973.
11. Gratia A.—Ann. Inst. Pasteur, v. 57, N 6, p. 652.
12. Сельсков А. Н.—Вестн. Белорусского ун-та. Сер. 2, хим., биол., геол., геогр., 1977, № 2, с. 61.