

УДК 631.46

*Т. Х. Гордеева, Н. Н. Гаврицкова*

## ИЗМЕНЕНИЕ ЧИСЛЕННОСТИ И СТРУКТУРЫ КОМПЛЕКСА ЦЕЛЛЮЛОЗОРАЗРУШАЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ СВЧ-ИЗЛУЧЕНИЯ

*Исследовано влияние электромагнитных микроволн СВЧ-диапазона на численность и видовой состав микроорганизмов целлюлозоразрушающего комплекса. Установлено, что при всех исследуемых режимах обработки СВЧ-облучение вызывает снижение количества и видового разнообразия микроскопических грибов, выделенных с документов на бумажной основе. Сапротрофные бактерии отличаются большей устойчивостью к микроволновому излучению.*

**Ключевые слова:** биоповреждения, электромагнитные микроволны, СВЧ-излучение, биодеструкторы, микроорганизмы, микромицеты.

**Введение.** Микроорганизмы играют существенную роль в биологическом разрушении различных материалов и изделий. Они повреждают все природные, многие синтетические материалы, стальные железобетонные конструкции, книги, памятники культуры и искусства, принося тем самым большой экономический ущерб. Разрушение материалов зависит от их состава. В первую очередь повреждаются материалы, содержащие для микроорганизмов питательные вещества. В биоповреждениях целлюлозы в аэробных условиях первостепенная роль принадлежит грибам. Микромицеты, развиваясь на бумаге, приводят к её значительной деструкции, а иногда и к полной утрате документов. Грибному повреждению сопутствует и наличие большого количества пыли, содержащей отмершие органические остатки [1]. Несравненно меньшее значение в биоповреждениях целлюлозы имеют аэробные целлюлозоразрушающие бактерии. Они используют целлюлозу в тех случаях, когда нет других источников углерода. Бактериальному повреждению подвержены и вещества, сопровождающие целлюлозу в древесине: гемицеллюлозы, лигнины, пектиновые вещества.

В связи с этим важным является решение научных и практических задач, связанных с защитой сырья, материалов и технических средств от повреждений бактериями, грибами, актиномицетами, как в условиях их эксплуатации, так и длительного хранения. Одним из способов защиты документов на бумажной основе от биоповреждений является применение различных природных и синтетических полимерных материалов, а также биоцидов, обладающих широким спектром антимикробного действия, и дезинфицирующих средств [2, 3]. Наименее изучено действие на биосубстраты и организмы электромагнитных волн сантиметрового диапазона (сверхчастотные – СВЧ). СВЧ-излучение в настоящее время в основном используется в пищевой промышленности и биотехнологии в качестве стерилизующего агента [4].

**Цель работы** – выявить влияние СВЧ-излучения на микроорганизмы целлюлозоразрушающего комплекса.

**В задачи** исследования входило:

- 1) оценить воздействие СВЧ-излучения на численность и видовой состав микроорганизмов целлюлозоразрушающего комплекса;
- 2) изучить видовой состав микромицетов, устойчивых и чувствительных к микроволнам СВЧ-диапазона;
- 3) выявить влияние микроволнового излучения на рост колоний целлюлозоразрушающих микроорганизмов.

**Методика проведения работ.** Исследовали образцы бумаги архивных документов из сульфитной целлюлозы. Для обработки микроволнами использовали микроволновую печь с рабочей частотой излучения 2450 МГц, длиной волны 12,5 см, мощностью 800 Вт, экспозиция облучения: 3, 5, 8 минут.

Для оценки количественного и качественного состава микробиоты документов использовали метод посева серийных разведений на агаризованные питательные среды: подкисленную среду Чапека – Докса, Гетчинсона, мясо-пептонный и сусло-агар. Перед посевом для десорбции микроорганизмов суспензии обрабатывали на качалке в течение 20 минут и затем готовили серию последовательных разведений. Засеянные чашки Петри инкубировали в термостате при  $t = 23-28^{\circ}\text{C}$ . Выделение и учет микроорганизмов проводили на 7-е и 14-е сутки. Число выросших колоний микроорганизмов пересчитывали на 1 г целлюлозы [5].

Вероятное количество микроорганизмов, содержащихся в 1 г субстрата, при уровне достоверности 95 % ( $P_{0,95}$ ) методом посева на питательные среды вычисляли по формуле:

$$a = \frac{(\bar{X} \pm 2\delta_{\bar{x}}) \cdot k}{v},$$

где  $a$  – число микробных клеток в 1 г исследуемого материала;  $\bar{X} = \frac{\sum x}{n}$  – среднее число колоний, выросших при высевах данного разведения;  $\sum x$  – общее число подсчитанных колоний при высевах данного разведения;  $n$  – число повторностей;  $\delta_{\bar{x}}$  – средняя квадратичная ошибка; 2 – значение  $t$ -критерия при  $P_{0,95}$ ;  $k$  – разведение, из которого сделан высев;  $v$  – объем посевного материала (мл).

Идентификацию выросших микромицетов осуществляли на основании культурально-морфологических признаков после выделения их в чистую культуру с использованием определителей отечественных и зарубежных авторов [6–8]. Названия и положение таксонов унифицировали с использованием базы данных CBS и 9-го издания «Словаря грибов Айнсворта и Бисби» [9]. Все изоляты гифомицетов относили к несовершенным грибам в случае отсутствия полового спороношения в культуре. Для описания структуры комплекса микромицетов использовали критерий частоты встречаемости [5]. Разнообразие сообществ микромицетов оценивали, используя индексы доминирования-разнообразия [10].

Статистическую обработку проводили при помощи программ Excel, Statistica.

**Результаты исследования и их обсуждение.** В механизме действия СВЧ-излучения выделяют тепловые и нетепловые (специфические) эффекты. Механизм теплового воздействия состоит в том, что поглощенная средой энергия вызывает изменение пространственной ориентации дипольных молекул воды, прежде всего, усиление их колебаний. Они передают часть энергии окружающим молекулам, также приходящим в движение, в результате чего энергия СВЧ переходит в тепловую, благодаря чему и происходит нагревание объекта. Этот процесс может привести либо к патологическим сдвигам в организме, либо к его гибели. Чем больше воды в облучаемом объекте,

тем больше эффект. Физическая природа «нетепловых эффектов» понятна в гораздо меньшей степени. Предполагается, что электромагнитные волны могут влиять на биологические процессы, разрывая водородные связи и влияя на ориентацию макромолекул ДНК и РНК, а также изменяя содержание и биологическую активность гормонов, ферментов; динамическое постоянство ионных соотношений, физико-химические свойства и биологическую активность белков, проницаемость клеточных мембран и мембранного потенциала [11, 12].

Проведенные исследования показали, что СВЧ-излучение мощностью 800 Вт при всех используемых режимах обработки оказывает подавляющее воздействие на численность микроскопических грибов (табл. 1). И чем длительнее воздействие, тем больше эффект угнетения. При обработке исходного материала излучением микроволнового диапазона длительностью три минуты численность микромицетов уменьшается в 3,2 раза и составляет 31,3 % от контроля; пятиминутное облучение микроволнами СВЧ снижает количество грибов в 8,5 раза. Их численность составляет 12,6 % от контрольных значений. При восьмиминутной экспозиции рост микромицетов на питательной среде не выявлен.

Таблица 1

## Влияние СВЧ-излучения на численность микроорганизмов

Группа микроорганизмов	Время облучения, мин	Количество повторностей, n	M ±m	Коэффициент вариации, CV, %	% от контроля
Бактерии-сапротрофы, тыс. кл./г целлюлозы	3	10	3,24±0,07	22,2	64
	5	10	2,81±0,06	19,9	55
	8	10	0,43±0,01	19,0	9
	контроль	10	5,08±0,05	10,3	100
Микромицеты, тыс. КОЕ/г целлюлозы	3	10	0,52±0,01	16,8	24
	5	10	0,28±0,01	35,5	13
	8	10	-	-	-
	контроль	10	2,16±0,07	33,3	100

В ходе микологического анализа с поверхности исследуемых документов выделено 12 видов микроскопических грибов, относящихся к шести родам из двух подотделов. Число видов в родах варьирует от 1 до 5. Подотдел *Zygomycotina* представлен двумя видами из родов *Mucor Mich.* и *Rhizopus Ehrenb.* Все остальные выделенные микромицеты относятся к несовершенным грибам *Deuteromycotina* (табл. 2).

Анализ видового состава грибов показал, что большинство микромицетов, выделенных с документов, – это грибы-полифаги, использующие самые разнообразные С-содержащие субстраты. Они способны осуществлять окисление любого природного органического соединения. Чаще всего на поверхности документов встречались представители родов *Penicillium Link.* – 46 % и *Aspergillus Micheli.* – 27 % от всех выделенных изолятов. По частоте встречаемости преобладали *Penicillium aurantiogriseum Dierckx*, *Penicillium chrysogenum Thom.* Из темноокрашенных грибов выявлена *Alternaria alternata (Fr) Keissler.* Среди грибов преобладали ксерофильные виды: *Aspergillus flavus Link.*, *A. versicolor (Vuill.) Tiraboschi*, *Penicillium aurantiogriseum Dierckx*, *P. chrysogenum Thom.*, *P. chrysogenum var. chrysogenum Westling*, что свидетельствует о незначительной влажности исследованных документов. Некоторые из выделенных микромицетов являются не только активными разрушителями бумаги, но также способны к ее пигментированию и окрашиванию (*Penicillium citrinum Thom.*, *Alternaria alternata (Fr) Keissler*, *Mucor racemosus Fres.*, *Rhizopus nigricans Ehrenb.*), в связи с чем представляют повышенную опасность для сохранения документов.

Таблица 2

**Видовой состав и частота встречаемости микромицетов, выделенных с документов  
Госархива на бумажной основе**

Название вида	Время облучения, мин			
	Контроль	3	5	8
<i>Alternaria alternata</i> (Fr) Keissler.	30	10	-	-
<i>Aspergillus candidus</i> Link.	30	20	10	-
<i>A. flavus</i> Link.	40	20	-	-
<i>A. versicolor</i> (Vuill.) Tiraboschi	40	20	-	-
<i>Mucor racemosus</i> Fres.	30	-	-	-
<i>Penicillium citrinum</i> Thom.	10	-	-	-
<i>P. chrysogenum</i> Thom.	70	40	20	-
<i>P. chrysogenum</i> var. <i>chrysogenum</i> Westling.	40	20	-	-
<i>P. rugulosum</i> Thom.	60	40	10	-
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx	80	50	30	-
<i>Verticillium lateritium</i>	20	10	-	-
<i>Rhizopus nigricans</i> Ehrenb.	10	-	-	-

Следует отметить, что многие из выявленных микромицетов (*Alternaria alternata* (Fr) Keissler., *Aspergillus flavus* Link., *Aspergillus versicolor* (Vuill.) Tiraboschi, *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx, *P. chrysogenum* Thom.) могут быть причиной аллергических заболеваний у людей с ослабленной иммунной системой [13]. Кроме того, обнаруженный гриб *Penicillium chrysogenum* var. *chrysogenum* Westling, обладающий липазной активностью, свидетельствует о жировом загрязнении поверхности исследуемых документов.

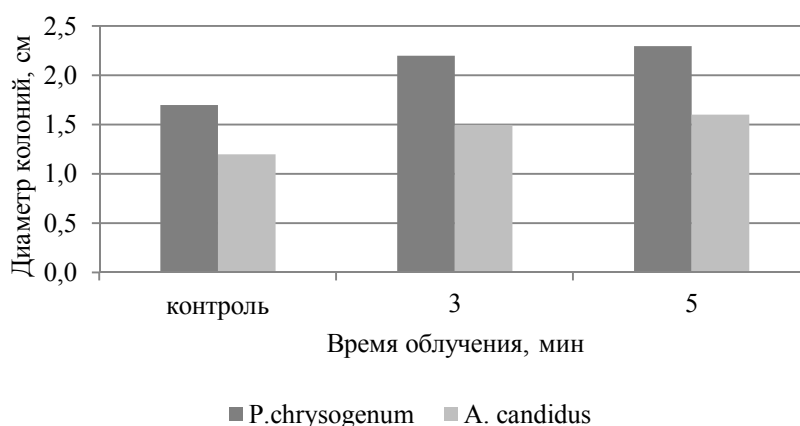
Расчет индексов видовой разнообразия показал, что облучение исходного материала микроволнами СВЧ-диапазона изменяет структуру и видовой состав микромицетов целлюлозоразрушающего комплекса (табл. 3). При этом с увеличением длительности излучения видовой разнообразие грибов снижается более резко, что свидетельствует о специфичности воздействия СВЧ-излучения на различные виды микроскопических грибов. Наиболее чувствительными к излучению микроволнового диапазона были микромицеты *Penicillium citrinum* Thom., *Mucor racemosus* Fres., *Rhizopus nigricans* Ehrenb. Наиболее устойчивыми оказались виды рода *Penicillium* – *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx, *P. chrysogenum* Thom. и *P. rugulosum* Thom..

Таблица 3

**Количество видов и индексы видовой разнообразия по вариантам опыта**

Время облучения, мин	Число видов	Индекс Шеннона	Выровненность видов
Контроль	12	3,36	1,26
3	9	2,98	1,25
5	4	1,84	0,99

Изучение влияния СВЧ-излучения на рост колоний микроскопических грибов показало, что у относительно устойчивых видов наблюдается стимулирующий эффект излучения (см. рис., с. 90). Это подтверждает известные из литературы [14] сведения о существовании резонансного эффекта, то есть корреляцию действия микроволн на различные морфологические и физиологические характеристики культур микроорганизмов.



Изменение диаметра колоний микроорганизмов под воздействием СВЧ-излучения

Присутствие сапротрофной микрофлоры на исследованных образцах объясняется наличием достаточного количества пыли, содержащей отмершие органические остатки. Влияние СВЧ-излучения на рост колоний сапротрофных бактерий определяли на мясопептонном агаре. Установлено, что в контрольном образце численность бактерий составляет 5,08 тыс. кл./г целлюлозы. После трёхминутной обработки СВЧ-излучением их количество уменьшается в 1,3 раза, после 5 минут воздействия – в 2 раза. При восьмиминутной экспозиции выявлены единичные колонии бактерий – 8,5 % от контрольных значений. Таким образом, сапротрофные бактерии оказались более устойчивыми к СВЧ-излучению, чем растущий мицелий грибов.

### Выводы

1. Установлено, что при всех режимах обработки СВЧ-излучение мощностью 800 Вт вызывает снижение численности и видового разнообразия микромицетов, выделенных с документов на бумажной основе.

2. Наиболее устойчивыми к СВЧ-облучению были представители рода *Penicillium Link.*

3. Сапротрофные бактерии отличались большей резистентностью к воздействию электромагнитных микроволн СВЧ-диапазона. При восьмиминутной экспозиции их численность составляет 8,5 % от уровня контрольных значений.

4. Обработка СВЧ-излучением может быть использована в реставрации и восстановлении документов на бумажной основе.

### Список литературы.

1. Огарков, Б. Н. Экологические и микробиологические исследования биоповреждений гражданских объектов и памятников архитектуры / Б. Н. Огарков, Н. Е. Буковская, Г. Р. Огаркова // Известия Иркутской государственной академии. – 2010. – № 4. – С. 334 – 338.

2. Горяева, А. Г. Микобиота воздуха и композитов бумаги с полимерными покрытиями в Российской национальной библиотеке / А. Г. Горяева, Т. Д. Великова, С. А. Добрусина // Микология и фитопатология. – 2010. – Т. 44. – Вып. 1. – С. 10-18.

3. Трепова, Е. С. Применение препарата фосфонаг для защиты бумаги от микромицетов / Е. С. Трепова, Т. Д. Великова // Микология и фитопатология. – 2010. – Т. 44 – Вып. 2. – С. 171-172.

4. Wu, Q. Effect of high-power microware on indicator factoria for sterilization / Q. Wu // JEEE. Frans. Biomed. Eng. – 1996. – Vol. 43. – P. 752-754.

5. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д. Г. Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.

6. Raper, K.B. A manual of Penicillia / K.B. Raper, C.A. Thom, D.L. – Fennel New York; London: Hafner Publishing Campany, 1968. – 875 p.

7. *Ramirez, C.* Manual and atlas of the Penicillia / C. Ramirez. – Amsterdam; New York; Oxford: Elsevier Biomedical Press, 1982. – 874 p.
8. *Литвинов, М. А.* Определитель микроскопических почвенных грибов / М. А. Литвинов. – М.: Наука, 1967. – 303 с.
9. Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi. 9th ed. / Eds P. M. Kirk et al. – CAB International, 2001. – 655 p.
10. *Мэгарран, Э.* Экологическое разнообразие и его измерение / Э. Мэгарран. – М.: Мир, 1992. – 182 с.
11. *Бецкий, О. В.* Волны и клетки / О. В. Бецкий, В. В. Кислов. – М.: Знание, 1990. – №2. – 64 с. (Сер. физика).
12. *Кудряшов, Ю. Б.* Радиационная биофизика (ионизирующее излучение) / Ю. Б. Кудряшов. – М.: Физматлит, 2004. – 448 с.
13. *Саттон, Д.* Определитель патогенных и условно-патогенных грибов / Д. Саттон, А. Уотергилл, М. Риннальди – М.: Мир, 2001. – 486 с.
14. *Лихачева, А. А.* Влияние СВЧ-излучения на физиологические характеристики культур актиномицетов и бактерий / А. А. Лихачева, А. А. Лукьянов, Г. М. Зенова // Биотехнология. – 2000. – № 5. – С. 51-55.

Статья поступила в редакцию 31.10.11

*T. Kh. Gordeeva, N. N. Gavritskova*

#### **QUANTITY AND STRUCTURE CHANGE OF THE COMPLEX OF CELLULOSE-DIGESTING ORGANISMS INFLUENCED BY MICROWAVE RADIATION**

*Influence of electro-magnetic microwaves on population and species composition of microorganisms of the cellulose-digesting complex is studied. It is determined that in all the studied operating modes, microwave frequency irradiation leads to decrease of quantity and decrease of species diversity of microfungus, extracted from paper. Saprotroph bacteria have better insensitivity to microwave frequency irradiation.*

**Key words:** *biodeterioration, electro-magnetic microwaves, microwave radiation, biodecomposers, microorganisms, micromycetes.*

---

*ГОРДЕЕВА Татьяна Харитоновна* – кандидат биологических наук, доцент кафедры садово-паркового строительства, ботаники и дендрологии Поволжского государственного технологического университета (Россия, Йошкар-Ола). Область научных интересов – экология, почвенная микробиология, биоразнообразие. Автор более 80 публикаций.

E-mail: [tatiana.k.gordeeva@gmail.com](mailto:tatiana.k.gordeeva@gmail.com)

*ГАВРИЦКОВА Наталия Николаевна* – кандидат сельскохозяйственных наук, заведующая кафедрой управления природопользованием и лесозащиты Поволжского государственного технологического университета (Россия, Йошкар-Ола). Область научных интересов – исследования в области микологии и фитопатологии. Автор более 70 публикаций.

E-mail: [vault13333@rambler.ru](mailto:vault13333@rambler.ru)