

Б. П. АВАКЯН, М. Н. МАЛАТЯН

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ДРОЖЖЕЙ ВИНА ПРИ ОДНОВРЕМЕННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫМИ ЛУЧАМИ И УЛЬТРАЗВУКОМ

Для борьбы против нежелательной микрофлоры в виноделии применяют в основном термические методы воздействия, которые не всегда обеспечивают полное уничтожение микроорганизмов и приводят к ухудшению качества продукции. В последнее время для стерилизации пищевых продуктов используются ультрафиолетовое облучение, ультразвук, токи высокой частоты и др. [1].

Применение указанных методов воздействия влечет за собой различного характера цитоморфологические изменения клеток, поэтому этот вопрос стал предметом специального изучения.

Действие ультрафиолетовых лучей на микроорганизмы вина изучали Эдмонд и Росси [5]. Влияние ультразвуковых колебаний на клеточные структуры исследовал Эльпинер [4]. Эти вопросы изучались и рядом других исследователей [2, 3, 6, 7]. Однако в литературе нет работ, посвященных изучению цитоморфологических изменений микроорганизмов при одновременном воздействии на них ультрафиолетовыми лучами и ультразвуком.

В настоящей работе поставлена задача изучить цитоморфологические изменения клеток различных видов дрожжей вина при одновременном воздействии ультрафиолетовыми лучами и ультразвуком.

Были изучены следующие культуры дрожжей: *Saccharomycodes ludwigii*, шт. 211, *Saccharomyces vini*, шт. Ar-2 и шт. 7. *Hanseniaspora apiculata*, шт. 12 и *Torulopsis utilis*, шт. 183/8.

Пастеризованное сусло заражали чистыми культурами дрожжей и помещали в термостат при 25—27°. Через трое суток образцы подвергали обработке ультрафиолетовыми лучами (30—70 тыс. эрг/мм²) и ультразвуком (интенсивность 3,5—4,1 кв) одновременно в специальной камере, через которую сусло проходило непрерывным потоком, тонким слоем (0,2—0,5 см). Время воздействия—около 9 сек.

После обработки брали пробы и изучали характер морфологических изменений клеток и ядер с помощью фазово-контрастного (КФ-4) и люминесцентного микроскопов (МЛ-2).

Для люминесцентно-микроскопического выявления ядер клетки прижизненно флуорохромировали раствором акридинового оранжевого (1 : 20000).

Результаты исследований. Клетки контрольной культуры *S. ludwigii* (шт. 211) имеют лимоновидную или булавовидную форму и при наблюдении в фазово-контрастный микроскоп (рис. 1) выглядят плотными и гомогенными, без видимых клеточных структур. После одновременного воздействия ультразвуком (3,5—4,1 кв) и УФ лучами (30—40 тыс. эрг/мм²) происходят значительные изменения формы и размеров клеток; они увеличиваются и заметно вытягиваются, цитоплазма становится сильно зернистой и вакуолизированной (рис. 2). Каких-либо определенных структурных компонентов клеток в фазово-контрастном микроскопе не выявляется.



Рис. 1. Культура *S. ludwigii* (шт. 211). Контроль. Фазовый контраст. Об. 90×. Ок. 10×.

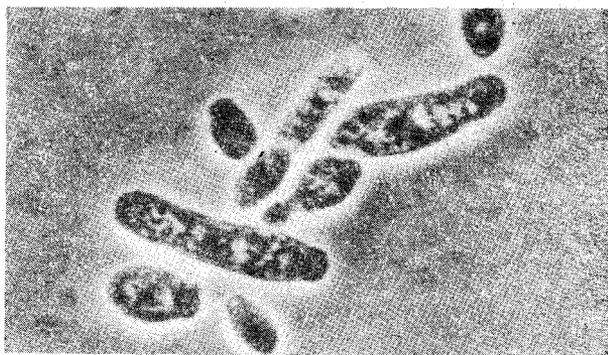


Рис. 2. Культура *S. ludwigii* (шт. 211) после обработки УФ лучами (30—40 тыс. эрг/мм²) и ультразвуком (интенсивность—3,5—4,1 кв). Фазовый контраст. Об. 90×. Ок. 10×.

При более жестком режиме обработки (интенсивность ультразвука—5,1—7,0 кв, доза УФ облучения—60—70 тыс. эрг/мм²) наблюдаются разрывы клеточной оболочки (рис. 3).

Клетки контрольной культуры *S. vini* (шт. Аг-2) в условиях фазового контраста также выглядят плотными, гомогенными, сильно преломляют свет; они овальной формы, с гладкой поверхностью. Содержимое клеток, за исключением мелких вакуолей, не различается (рис. 4). После

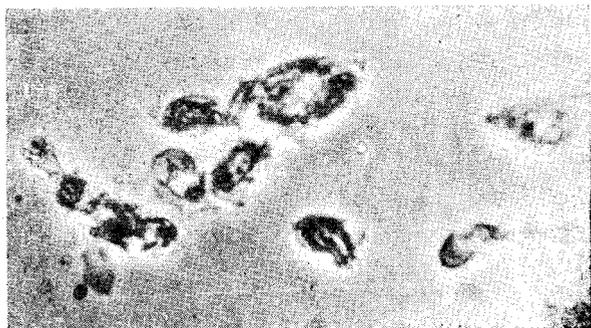


Рис. 3. *S. ludwigii* (шт. 211) после обработки УФ лучами (60—70 тыс. эрг/мм²) и ультразвуком (интенсивность—5,1—7,0 кв). Фазовый контраст. Об. 90×. Ок. 10×.

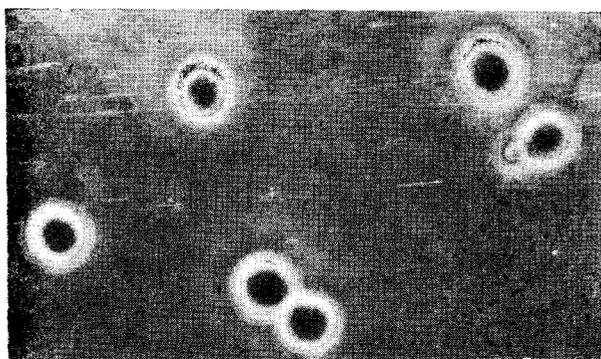


Рис. 4. Культура *S. vini* (шт. Аг-2). Контроль. Фазовый контраст. Об. 90×. Ок. 10×.

одновременной обработке ультразвуком и ультрафиолетовыми лучами клетки заметно изменяются: поверхность их становится менее гладкой, бугристой, в цитоплазме появляются многочисленные вакуоли и зернистость (рис. 5).

Аналогичная картина наблюдалась и при обработке дрожжей *S. vini* (шт. 7).

Однако при обработке культур *H. apiculata* (шт. 12) и *T. utilis* (шт. 183/8) заметных морфологических различий между контрольными и обработанными клетками не наблюдалось.

Люминесцентно-микроскопические исследования клеток культур дрожжей, подвергнутых обработке ультразвуком и ультрафиолетовыми лучами, также выявили заметные различия между контрольными и обработанными культурами.

Исследование клеток контрольной культуры *S. ludwigii* (шт. 211), прижизненно флуорохромированной акридиновым оранжевым, показало полное отсутствие люминесценции целых живых клеток. В то же время в массе дрожжей наблюдались единичные гомогенно люминесцирующие клетки. Это, по-видимому, мертвые клетки. После обработки культуры картина заметно менялась: цитоплазма обработанных клеток начинала люминесцировать зеленым и имела вид рыхлой массы. Однако какие-либо определенные клеточные структуры не выявлялись.

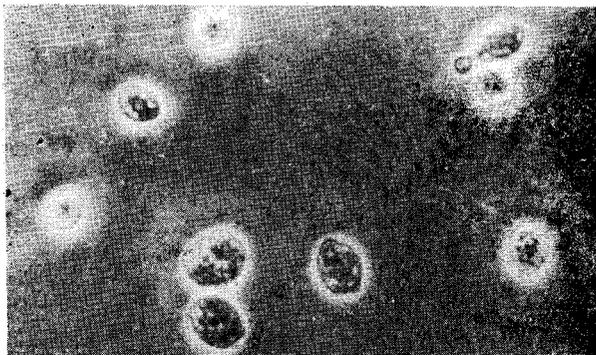


Рис. 5. *S. vini* (шт. Аг-2) после обработки УФ лучами и ультразвуком. Фазовый контраст. Об. 90 \times . Ок. 10 \times .

Изучение культуры *T. utilis* (шт. 183/8) показало, что нормальные клетки этой культуры, флуорохромированные акридиновым оранжевым, также не люминесцируют. Однако в отличие от *S. ludwigii* (шт. 211) в клетках культуры, обработанной ультразвуком и ультрафиолетовыми

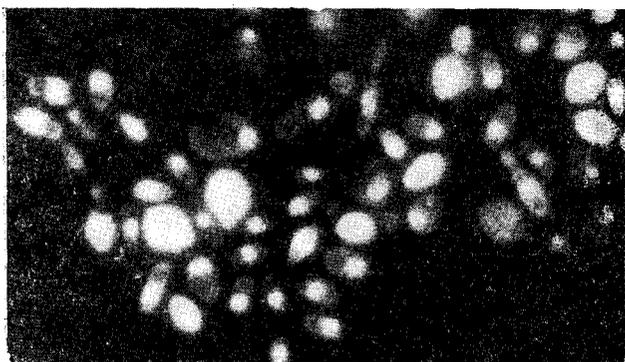


Рис. 6. Культура *T. utilis* (шт. 183/8) после обработки УФ лучами и ультразвуком. Люминесцентный микроскоп. Флуорохромирование акридиновым оранжевым. Об. 90 \times . Гомаль 5 \times . Видны люминесцирующие ядра.

лучами, отчетливо выявляются ярко люминесцирующие зеленым ядра (рис. 6), расположение которых в клетках различное. Наряду с клетка-

ми с центрально расположенными ядрами встречаются клетки с ядрами, смещенными к одному из концов.

Иная картина при люминесцентно-микроскопическом исследовании дрожжей *H. apiculata* (шт. 12). В этом случае в клетках контрольной культуры обнаружались крупные ядра округлой формы, люминесцирующие зеленым (рис. 7). После обработки культуры они заметно изменя-

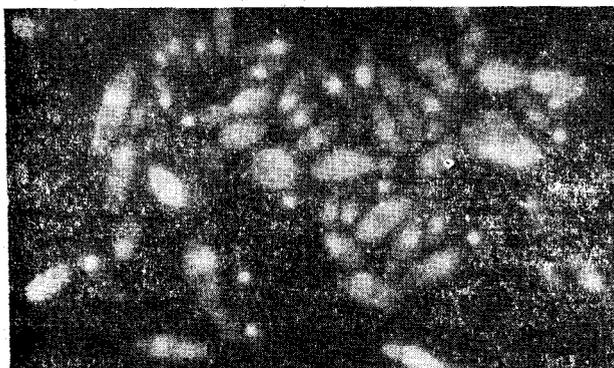


Рис. 7. Культура *H. apiculata* (шт. 12). Контроль. Люминесцентный микроскоп. Флуорохромирование акридиновым оранжевым. Об. 90 \times . Гомаль 5 \times .

лись: выглядели рыхлыми и бесформенными, что могло быть следствием повреждения ядерной оболочки; одновременно значительно повышалась яркость люминесценции ядер (рис. 8).



Рис. 8. Культура *H. apiculata* (шт. 12) после обработки УФ лучами и ультразвуком. Люминесцентный микроскоп. Флуорохромирование акридиновым оранжевым. Об. 90 \times . Гомаль 5 \times .

Таким образом, проведенные исследования показали, что обработка дрожжей в камере воздействия ультрафиолетовыми лучами в сочетании с ультразвуком приводит к заметным цитоморфологическим изменениям клеток, выражающимся в различной степени деформации их, увеличении

размеров, появлении значительной зернистости и вакуолизации, а при больших дозах—к разрыву оболочки.

При люминесцентно-микроскопическом исследовании различных видов дрожжей, прижизненно флуорохромированных акридиновым оранжевым, в большинстве случаев ядра нормальных живых клеток не выявлялись. В то же время после обработки культуры в камере воздействия ядра ярко люминесцировали зеленым. Это позволяет предположить, что акридиновый оранжевый не проникает в нормальные клетки исследованных видов дрожжей. Обработка же клеток ультразвуком совместно с ультрафиолетовым облучением, по-видимому, повышает проницаемость клеточной оболочки, в результате чего акридиновый оранжевый проникает в клетку. Исключение составляет культура *H. apiculata*, у которой ядра отчетливо выявлялись как у нормальных, так и обработанных клеток. При этом была установлена заметная деформация ядер и повышение яркости люминесценции.

Из изложенного следует, что кратковременная обработка дрожжей ультразвуком совместно с ультрафиолетовым облучением в камере воздействия приводит к значительным повреждениям клеток, обуславливающим их гибель.

Армянский институт виноградарства,
виноделия и плодоводства,
Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 28.XI 1968 г.

Բ. Պ. ԱՎԱԳՅԱՆ, Մ. Ն. ՄԱՍԻՅԱՆ

ԳԻՆՈՒ ՇԱՔԱՐԱՍՆԿԵՐԻ ՅԻՏՈՄՈՐՖՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ
ԱՆԴՐԱՄԱՆՈՒՇԱԿԱԳՈՒՅՆ ՀԱՌԱԳԱՅԹՆԵՐԻ ԵՎ ՈՒՆԻՐԱԶՄԱՅՆ
ՄԻԱԺԱՄԱՆԱԿՅԱ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՏԱԿ

Ա մ փ ո փ ու լ մ

*Ուսումնասիրվել են անդրամանուշակագույն ճառագայթների և ուլտրա-
ձայնի միաժամանակյա ազդեցության հետևանքով առաջացած՝ գինու շաքա-
րասնկերի ցիտոմորֆոլոգիական փոփոխությունները:*

*Ցաղա-կոնտրաստային և լյումինեսցենտ միկրոսկոպների օգնությամբ
կատարված ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ հիշյալ մշակման հե-
տևանքով շաքարասնկերի բջիջներում տեղի են ունենում զգալի փոփոխու-
թյուններ՝ տարբեր աստիճանի դեֆորմացիա, չափերի մեծացում, հատիկա-
վորման և վակուոլացման առաջացում, իսկ մեծ դոզաների դեպքում՝ նաև թա-
ղանթի պատռում: Տեղի են ունենում նաև կորիզների զգալի փոփոխություններ:
Ակրիդինային օրանժով ֆլուորոխրոմավորված շաքարասնկերի լումինեսցենտ
միկրոսկոպային ուսումնասիրության ժամանակ հայտնաբերվեց, որ նորմալ,
կենդանի բջիջների կորիզները չեն լյումինեսցենտում, մինչդեռ անդրամանու-
շակագույն ճառագայթների և ուլտրաձայնի ազդեցության ենթարկված շաքա-
րասնկերի կորիզները պարզ կերպով լումինեսցենտում են:*

Ենթադրվում է, որ աղբիղի համակարգի օրհանժը չի ներթափանցում ուսումնասիրվող շաքարասնկերի կենդանի, անվնաս բջիջների մեջ: Իսկ անդրամանուշակագույն ճառագայթների և ուլտրաձայնի ազդեցության հետևանքով, բջիջների թաղանթի թափանցելիությունը աղբիղի համակարգի նկատմամբ հավանաբար մեծանում է:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ересъко Г. А., Кийс А. А., Маслов А. М., Николаев Л. К. Оборудование для высокотемпературной пастеризации, стерилизации и охлаждения пищевых жидкостей. Машиностроение. Л., 1967.
2. Мейсель М. Н. Функциональная морфология дрожжевых организмов. Изд. АН СССР, 1950.
3. Франк Г. М. Ультрафиолетовое излучение. Сб. III, Медгиз, 1960.
4. Эльпинер И. Е. Успехи современной биологии, 61, 2, 212, 1966.
5. Edmond A., Rossi J. Americ. J. Enol. Vitic., 14, 4, 178, 1963.
6. Maskerprang B. Acta Tuberc. Scand., 34, 397, 1957.
7. Pisano T. A., Bouchner R. M., Alkamo J. E. Appl. Microbiol., 14, 5, 732, 1966.