

УДК 576.852.24

Л. А. ЕРЗИНКЯН, А. Б. АКОПОВА

О МЕТАХРОМАТИНОВЫХ ГРАНУЛАХ ПАЛОЧКОВИДНЫХ ФОРМ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ЮГОРТА

Изучались условия проявления и не проявления метакрохроматинных зерен в клетках палочковидных форм молочнокислой палочки югорта. При 24—48-часовой инкубации при оптимальной температуре 36° и в присутствии аспорогенных дрожжей выявляются четкие, ярко окрашенные, округлые, расположенные на равном расстоянии друг от друга метакрохроматиновые гранулы, так называемые зерна.

Как известно, армянский югорт по своим органолептическим свойствам и микрофлоре резко отличается от йогурта. На молочных комбинатах йогурт готовится из цельного коровьего молока путем заквашивания термофильными молочнокислыми стрептококками и болгарской палочкой в соотношении 1:1 и инкубируется при температуре 45°C [7, 8].

Армянский югорт с древнейших времен готовился из овечьего и буйволиного молока путем заквашивания спонтанной югортной закваской и выдерживался при более низкой температуре. С прошлого века югорт в Армении перестали готовить, так как его спонтанная микрофлора утрачена [1, 2].

Нами была получена фенолустойчивая популяция микробной закваски, состоящая из термофильных зернистых молочнокислых палочек и стрептококков.

В морфологии палочковидных форм молочнокислых бактерий принято учитывать наличие или отсутствие гранул метакрохроматина, т. е. зернистость или незернистость клетки [3, 4].

О зернистости молочнокислых бактерий югорта в литературе нам не удалось найти сведений. Необходимо было изучить условия образования и исчезновения зернистости у палочковидных форм бактерий югорта как показатель определенного физиологического состояния клетки, а также установить оптимальную температуру инкубирования для равномерного роста и развития популяции югортных бактерий.

Нами впервые изучались условия появления и исчезновения метакрохроматинных зерен и их зависимость от физиологических и биохимических свойств югортной палочки.

Материал и методика. Для экспериментов было отобрано 9 культур, из коих 3 (Л-18, Л-6, Л-24/34) состояли из зернистых палочек, 5 (Л-17, Л-10, Л-51/18, Л-30, Л-14)—из зернистых палочек и стрептококков и 1 культура (Л-30) с аспорогенными дрожжами. Исследования проводились на летнем молоке (июль-август).

Для наблюдений за структурными особенностями клетки применялись различные методы окрашивания. Обычные методы окраски молочнокислых бактерий метиленовой

синью дают интенсивное окрашивание клеток, при этом возможно заметить некоторую дифференциацию в их структуре: наличие включений с оптическими пустыми промежутками.

Производилось окрашивание по видоизмененному способу Романовского. Исследуемый препарат окрашивался краской Гимза, обрабатывался РНК-азой, с последующим докрасиванием карболовым фуксином Циля [5, 6].

Инкубация молочнокислых бактерий йогурта проводилась в течение семи суток при температуре 32, 34, 36, 38, 42 и 40°.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что при инкубации культур при температуре 32° максимальная кислотность в молоке отмечалась после 72-часовой инкубации, за исключением культуры Л-51/18 и Л-30+дрожжи, в случае с которой этот показатель достигал максимума на 7-ые сутки. Затем кислотность несколько снижается, за исключением названных выше культур, у которых она продолжает повышаться до конца инкубации. Кроме того, к 72-му часу инкубирования с повышением кислотности молочнокислые палочки, как правило, удлиняются, увеличивается число зерен в них. Исключение составляют те же культуры Л-51/18 и Л-30+дрожжи, величина их палочек в течение 42 часов инкубации достигает 26—100 мк с 30—60 метакроматиновыми зернами в каждой.

Следует отметить, что присутствие дрожжей надолго сохраняет зернистость молочнокислых палочек (культура Л-30 с дрожжами), у культур без дрожжей при 168 часов инкубации зернистость не наблюдается.

При температуре 34° наивысшая кислотность достигается к 96-му часу инкубирования, затем наблюдается снижение, за исключением культуры Л-30+дрожжи. С повышением кислотности наблюдается также некоторое удлинение клеток и увеличение числа зерен при этом сроке инкубирования (Л-6 и Л-24/34).

При температуре 36° максимальная кислотность у испытуемых культур достигается в основном за 168 часов инкубации, за исключением культур Л-6, Л-51/18, Л-30+дрожжи, у которых она отмечается к 48-му часу инкубации. При этом у отдельных культур с повышением кислотности наблюдается некоторая тенденция к снижению числа зерен в клетках (культуры Л-30, Л-14).

При температуре 38° максимальная кислотность отмечалась в основном у 48- и 96-часовых культур, которая сохранялась примерно до 168 часов инкубации. В данном случае наблюдалась та же тенденция к снижению числа зерен в клетках.

При температуре 42° максимальное кислотообразование наступает на 168-м часу инкубации. В этом случае также с повышением кислотности снижается число зерен в клетках бактерий, исключение составляют культуры Л-18, Л-17, Л-30, где, наоборот, наблюдается некоторое увеличение их числа.

При 44° максимальное кислотообразование наблюдается у культур 96—168-часового возраста; с повышением кислотности зернистость культур снижается (рис. 3—4).

Итак, наши неоднократные исследования показали, что в течение 168-часовой инкубации смешанных культур молочнокислых стрептококков и палочек йогурта при температуре 32° число кокковидных форм резко превалирует над палочковидными формами.

При температуре инкубации 36° наблюдается одинаковое развитие кокковых и палочковидных форм молочнокислых бактерий йогурта (рис. 1—2). Нами установлено, что температура 36° является оптимальной для



Рис. 1.

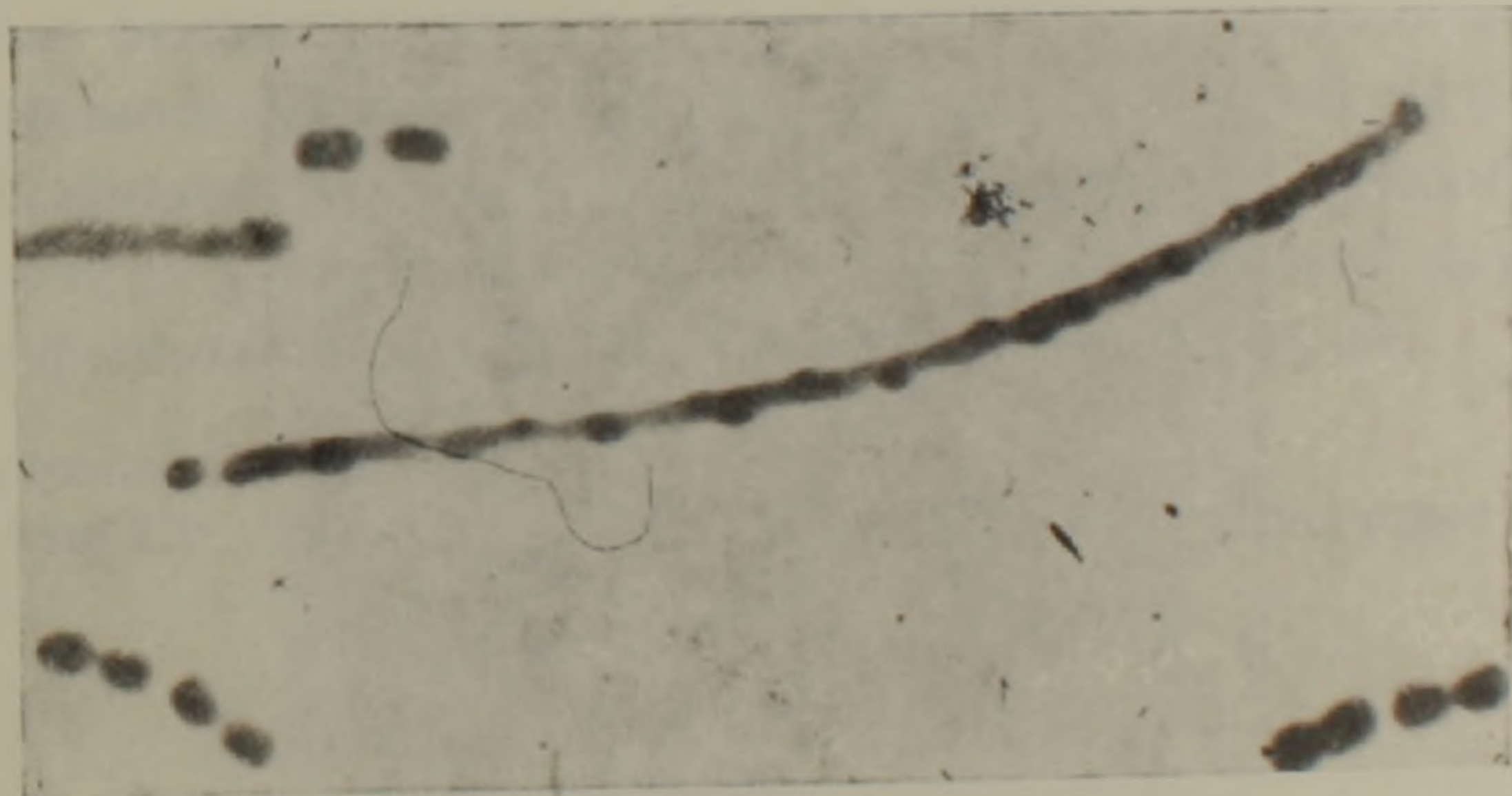


Рис. 2.

Рис. 1 и 2. Четко выраженные метакроминовые гранулы молочнокислых палочек йогурта при равном соотношении роста с молочнокислыми стрептококками. Двухсуточная культура, температура инкубации 36°C . Ув. 1, рис. 1 $\times 1500$, 2 рис. 1 $\times 1300$.

совместного выращивания кокковых и палочковидных форм молочнокислых бактерий и сохранения зернистости палочек (рис. 5). Инкубация смешанных культур молочнокислых бактерий при температуре 44° в течение 168 часов приводит к резкому превалированию палочковидных форм над кокковидными.

Наши исследования подтверждают, что клетки молочнокислых палочек йогурта содержат метакроматин [3, 4].

Таким образом, по нашим наблюдениям, четко выраженная грануляция метахроматина у молочнокислых палочек зависит от условий роста и жизнедеятельности клеток. Проявление или не проявление зернистости свидетельствует о существовании взаимосвязи между структурой мета-



Рис. 3. Зернистые и незернистые палочки и единичные диплококки. У зернистых палочек четко видны удлиненные метахроматиновые зерна. Двухсуточная культура, температура инкубации 44°C. Ув. 1X1500.

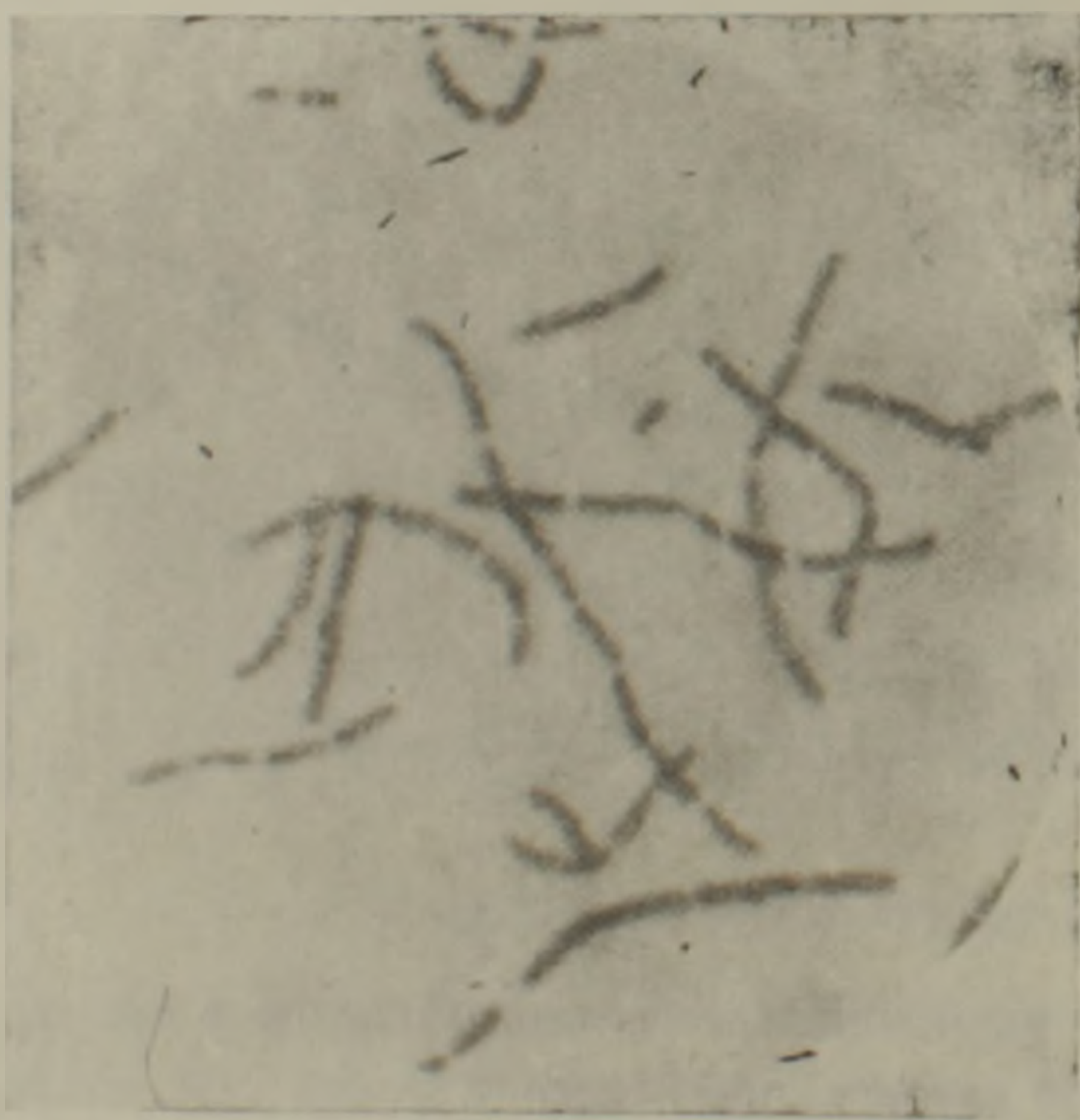


Рис. 4. Незернистые молочнокислые палочки йогурта. Метахромативные зерна находятся в гомогенном состоянии по всей длине клетки. 18-часовая культура, температура инкубации 44°C. Ув. 1X1500.

хроматина и физиологическим состоянием клетки. Возможно, что у незернистых форм молочнокислых палочек метахроматин находится в «гомогенном» состоянии и расположен по всей длине клетки.

У слабозернистых клеток наблюдается начало появления мельчайших гранул. Для явно зернистых форм молочнокислых палочек характерно гранулярное распределение хроматина по всей клетке в виде чет-

ких, ярко окрашенных гранул различной величины, окруженных протоплазмой или протоплазменной пленкой. Такую форму грануляции хроматина можно считать конечным или завершающим этапом образования зерен. Однако какое функциональное значение имеет описанная перестройка хроматина, пока не выяснено. Известно лишь, что еще в 1930 го-

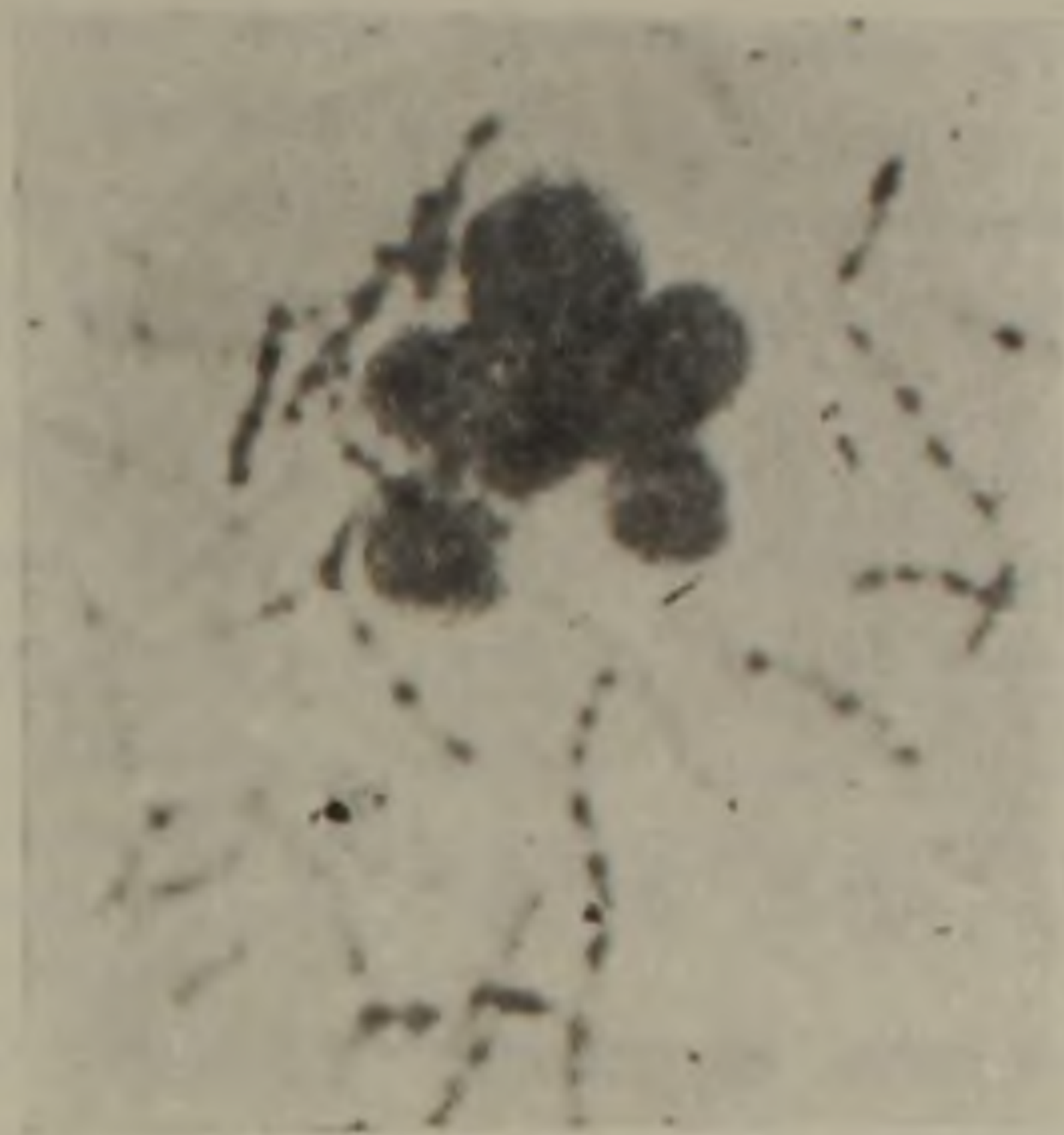


Рис. 5. Смешанная культура югорта. Четко видны зернистые палочки, клетки аспорогенных дрожжей и диплококки. Двухсуточная культура, температура инкубации 36°C. Ув. 1X1500.

ду для приготовления сухих культур молочнокислых палочек на крахмальной среде рекомендовалось брать зернистые физиологически активные формы молочнокислых бактерий. Поэтому посевной материал всегда брали не с агаризированной среды, а со сквашенного цельного молока или обрат. Утеря зернистости зависит также и от многих других причин, связанных с физиологической функцией клетки бактерий.

Институт микробиологии
АН АрмССР

Поступило 20.VI 1974 г.

Լ. Հ. ՆՐԶԻՆԿՅԱՆ, Ա. Բ. ԱԿՈՊՈՎԱ

ՅՈՒՂՈՐԻԻ ԿԱԹՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ԶՈՂԱԶԵՎ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ
ՄԵՏԱՔՐՈՄԱՏԻՆԱՅԻՆ ԳՐԱՆՈՒԼՆԵՐԻ ՄԱՍԻՆ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Զարգացման 18 ժամվա ընթացքում, 44° ջերմության պայմաններում, յուղորդի կաթնաթթվային հատիկավոր ձողաձև բակտերիաների հատիկավորությունը չի նկատվում, իսկ 24—72 ժամյա զարգացման պայմաններում նկատվում են պայծառ ներկված մետաքրոմատինային գրանուլներ: 96 ժամվա զարգացման ընթացքում նկատվում են եզակի ոչ հատիկավոր ձողիկներ:

իսկ 163 ժամից հետո՝ ոչ հատիկավոր ձողաձև բակտերիաները թվով գերադանցում են հատիկավորներին:

Յուղորդի կաթնաթթվային ձողիկների և ստրեպտակոկների համատեղ զարգացումը շաքարասնկերի հետ նպաստում է կաթնաթթվային ձողաձև բակտերիաների հատիկավորության արտահայտմանն ու պահպանմանը: 42—44°-ի համեմատությամբ պարզ արտահայտված հատիկավորությունը նկատվում է 32, 34, 36, 38° ջերմության պայմաններում:

Առավելագույն թթուառաջացում կատարվում է վերը նշված երեք տեսակ միկրոօրգանիզմների համատեղ զարգացման՝ 42 և 44° ջերմային պայմաններում:

Զարգացման 172 ժամվա ընթացքում 32, 34, 36, 38° պայմաններում յուղորդի խառը կուլտուրայի կաթնաթթվային ձողաձև բակտերիաների կենսունակությունը, համեմատած 42 և 44°-ի հետ, պահպանվում է:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Երզնկյան Լ. Հ. Ացիդոֆիլ կաթը, նրա պատրաստումը և կիրառումը անասնաբուծության մեջ: ՀՍՍՀ ԳԱ հրատարակություն, 1955:
2. Խաչատրյան է. Աստվածային ուտելիք: Գիտություն և տեխնիկա, 11, 19, Երևան, 1969:
3. Гибшман М. Р. Микробиология, 26, 3, 1947.
4. Ерзинкян Л. А. Биологические свойства некоторых рас молочнокислых бактерий. Изд. АН АрмССР, 1970.
5. Имшенецкий А. А. Строение бактерий. Изд. АН СССР, 1940.
6. Имшенецкий А. А. Микробиология, 13, 1, 1944.
7. Омелянский В. Л. Практическое руководство по микробиологии, 1940.
8. Родаева И. А. Молочная промышленность, 3, 1970.