

## ХАРАКТЕРИСТИКА ДРОЖЖЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОСИСТЕМ ВОСТОЧНОЙ АНТАРКТИДЫ

**Грибанова Е.А., Мямин В.Е.**

*Белорусский государственный университет, Минск,  
lika-den98@mail.ru, vladmiamin@mail.ru*

На данный момент известно, что доминирующими микроорганизмами в регионах с холодным климатом и пониженными температурами являются экстремофилы. Они обладают различными механизмами, которые способствуют их выживанию в экстремальных условиях среды и тем самым позволяют им справляться с многочисленными стрессовыми воздействиями [2].

За последнее время было получено множество разнообразных сведений о психрофильных и психротолерантных микроорганизмах. На сегодняшний день проводятся обширные исследования микробной жизни в полярных средах и, как результат, исследователи всё чаще обнаруживают и описывают новые таксоны экстремофилов полярных регионов. Биологически активные вещества, выделенные из клеток экстремофилов, имеют широкое применение в медицине и биотехнологии [1].

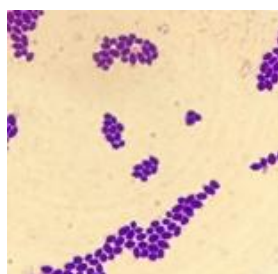
Целью данной работы являлось выделение чистых культур дрожжей из образцов почв полярных регионов, изучение их морфологических и физиолого-биохимических особенностей.

Выделение проводили на средах Хата, ВВМ, Сабуро и глюкозо-пептонном агаре (ГПА) с антибиотиками хлорамфениколом (25 мкг/мл) и стрептомицином (25 мкг/мл). Использовали 4 образца, полученных из Восточной Антарктиды: 1 – образец гиполитов в районе станции Молодежная; 2 – образец эндолитов в районе станции Молодежная; 3 – образец гиполитов из Земли Мак-Робертсона, горы Принс-Чарльз; 4 – образец гиполитов в районе полевой базы Гора Вечерняя.

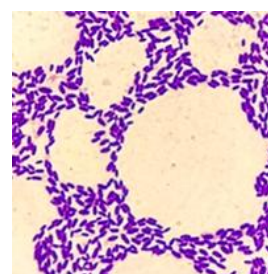
Всего было выделено более 50 чистых культур микроорганизмов, но только 17 из них при окрашивании можно было отнести к дрожжам (рис. 1).



2-3



2-2



3-26

**Рисунок 1** – Примеры морфологии клеток чистых культур дрожжей, выделенных из образцов Восточной Антарктиды.

Выделенные культуры дрожжей были рассеяны до изолированных колоний, данные о морфологии их колоний представлены в таблице 1.

**Таблица 1** – Морфологические характеристики колоний культур дрожжей.

Образец	Культура	Среда	Морфология колонии
1	15	Хата	Бело-прозрачная, плоская, с неровным краем, матовая
	16.1	Хата	Белая, круглая, выпуклая, глянцевая
	16.2	Хата	Белая, круглая, выпуклая, глянцевая
	31	Хата	Прозрачная, круглая, выпуклая, глянцевая
	32	Сабуро	Беловато-кремовая, круглая, выпуклая, глянцевая
2	2	Хата	Белая, выпуклая, округлая, глянцевая
	3	Хата	Выпуклая, круглая, глянцевая, прозрачная
3	38	ГПА	Розовая, выпуклая, круглая, глянцевая
	39	ГПА	Белые, выпуклая, круглая, глянцевая
	26	Хата	Светло-розовая, выпуклая, круглая, глянцевая
4	1	Хата	Коралловая, круглая, выпуклая, глянцевая
	6	Хата	Оранжевая, круглая, выпуклая, глянцевая
	7	Хата	Кремовая, круглая, выпуклая, глянцевая
	8	Хата	Оранжевая, круглая, выпуклая, глянцевая
	9	Хата	Розовая, круглая, выпуклая, глянцевая
	10	Хата	Кремовая с белым кругом внутри, глянцевая, выпуклая
	11	Хата	Кремовая, глянцевая, выпуклая

На следующем этапе работы был исследован температурный оптимум и диапазон роста выделенных дрожжевых культур (табл. 2).

Для этого исследуемые культуры дрожжей высевали на питательную среду Хата штрихом и инкубировали при различных температурах в течение 10 дней с ежедневным учетом результатов. На десятый день делали выводы о температурных оптимумах исследуемых культур дрожжей. Теоретически можно было ожидать выделения психрофильных микроорганизмов. Однако, как следует из данных таблицы 2, строгих психрофилов (криофилов), нормально существующих и размножающихся только при относительно низких температурах (обычно не выше 10 °С) среди изучаемых микроорганизмов не обнаружено. Можно сказать, что в целом анализируемые культуры были способны расти в достаточно широком диапазоне температур от 4 °С до 37 °С, что позволяет рассматривать их как факультативных психрофилов.

Интересным оказался тот факт, что все 17 исследованных культур антарктических дрожжей имеют капсулы. Их окрашивание проводили двумя методами: метод негативного окрашивания тушью и метод Бурри – Гинса (рис. 2).

**Таблица 2** – Температурный диапазон роста культур дрожжей, выделенных из образцов Восточной Антарктиды.

Культур а	Температура (°C)					
	4	10	18	22	28	37
1-15	1	8	8	8	9	9
1-16.1	5	8	7	7	6	0
1-16.2	4	8	8	7	5	0
1-31	1	8	7	8	8	9
1-32	1	8	8	8	9	9
2-2	4	7	8	8	8	1
2-3	1	1	5	6	8	0
3-26	5	8	8	9	6	1
3-38	5	7	9	9	7	0
3-39	5	7	8	9	4	0
4-1	5	8	8	9	7	0
4-6	3	7	7	8	0	0
4-7	5	8	8	9	7	0
4-8	3	7	7	8	0	0
4-9	4	8	9	9	3	0
4-10	5	8	9	9	2	0
4-11	4	8	8	9	2	0

Примечание: «0» – отсутствие роста; «1-2» – слабый рост по штриху; «3-4» – уверенный рост по штриху без образования колоний; «5-6» – рост с образованием мелких колоний диаметром 0,5-1,0 мм; «7-8» – рост с образованием колоний диаметром 1,5-2,0 мм; «9-10» – рост с образованием колоний диаметром 2,5 мм и более.



4-1

2-3

1-16.2

**Рисунок 2** – Примеры фотографий микроскопирования капсул у чистых культур дрожжей из образцов из Восточной Антарктиды (окрашивание тушью слева, методом Бурри – Гинса справа).

Также проверялась антагонистическая активность культур антарктических дрожжей по отношению к бактериям и грибам. В качестве тест-культур бактерий использовали *Pseudomonas putida*, *Escherichia coli*, *Pantoea agglomerans*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Sarcina lutea*. В качестве тест-культур грибов использовали *Aspergillus niger*, *Penicilium* sp., *Fusarium polysporum*, *Alternaria* sp., *Fusarium culmorum*. Было установлено, что по отношению к грибам ни одна из культур дрожжей не характеризовалась антагонистической активностью. У культур дрожжей 1-32 и 1-15 выявлена

слабая антагонистическая активность к бактериям *Staphylococcus saprophyticus*, у культуры 2-3 также выявлена слабая активность в отношении *Sarcina lutea*.

Также определялась устойчивость к тяжелым металлам антарктических изолятов дрожжей. В качестве тяжелого металла использовали сульфат меди в концентрациях 0,01 %, 0,025 %, 0,05 %, 0,1 %, 0,2 % и 0,3 %. Культуры дрожжей культивировали при температуре 18 °С в течение 5 суток с ежедневной оценкой характера роста исследуемых культур. Установлено, что все 17 изолятов проявляли устойчивость к сульфату меди в концентрации 0,01 %. 3 из 17 исследуемых изолятов характеризовались слабым ростом при концентрации металла в среде 0,3 % и 8 из 17 – при концентрации 0,2 %.

Культуры дрожжей также исследовали на наличие ферментативных активностей в широком диапазоне температур от 10 °С до 37 °С.

Протеолитической активностью на среде с обезжиренным молоком обладали 5 из 17 изучаемых изолятов, причем активность они проявляли в диапазоне от 10 °С до 28 °С (37 °С у культур 1-15 и 1-32). Также было отмечено, что у культуры 2-2 при 18 °С и 28 °С изменялась пигментация колоний – они стали оранжевыми.

Липолитической активностью на среде с твин-20 и твин-80 обладали практически все исследуемые изоляты в широком диапазоне температур от 10 °С до 28 °С (37 °С для культур 1-15, 1-31, 1-32). Следует отметить, что липолитическая активность у некоторых изолятов проявлялась только на твин-20 или твин-80. Также было выявлено, что проявление липолитической активности у разных культур дрожжей при разных температурах имеет разную морфологию: в виде нескольких концентрических зон; в виде плотного помутнения вокруг колонии; в виде диффузных вкраплений вокруг колоний; в виде разрастающегося субстратного мицелия.

Амилолитической активностью на среде с крахмалом обладали 14 из 17 изолятов, причем 8 из 14 проявляли её в широком диапазоне температур от 10 °С до 28 °С (37 °С для культур 1-15 и 1-32), а остальные 6 изолятов – в более узком температурном диапазоне от 18 °С до 28 °С.

ДНКазной активностью обладали 15 из 17 исследуемых штаммов, причем 8 из них проявляли эту активность в широком диапазоне температур от 10 °С до 28 °С (37 °С для культур 1-15 и 1-32), а остальные 7 – в более узком температурном диапазоне от 18 °С до 28 °С.

Целлюлолитическая активность была выявлена у 4 из 17 изолятов дрожжей. При этом культура 2-3 проявляла активность лишь при температурах 22 °С и 28 °С, остальные 3 изолята – в более широком диапазоне температур 10-28 °С.

Пектолитическая активность также была характерна у 4 из 17 изученных изолятов лишь при температурах 22 °С и 28 °С. Одновременно целлюлолитической и пектолитической активностью характеризовался только один изолят 2-3.

## Литература

1. Margesin R., Miteva V. Diversity and ecology of psychrophilic microorganisms // *Research in microbiology*. 2011. Vol. 162. №. 3. P. 346-361.
2. Hoover R. B., Pikuta E. V. Psychrophilic and psychrotolerant microbial extremophiles in polar environments // *Microbiology society*. 2010. 42 p.