

в среде, *Rhodothorula mucilaginosa* и T1 – 10°C. Оптимальной концентрацией соли для нормального роста и развития всех изолятов являлось полное отсутствие соли в среде (0%). Сравнивая полученные данные, можно сказать, что мезофилы показали устойчивость к осмотическому стрессу в большей степени, нежели психрофильные культуры.

Осмотическое давление оказывает влияние на рост и развитие клеток и, как результат, колоний дрожжевых культур. На основе результатов микроскопирования были сделаны следующие наблюдения: культура 3–26 показала уменьшение клетки в диаметре на концентрации 2,5% на 15% от изначального диаметра, однако далее вплоть до 7,5% диаметр увеличился по сравнению с изначальным; культуры 8–36, 7–71 и *Rhodothorula mucilaginosa* показали тенденцию к уменьшению диаметра клетки на 10–15% от начального диаметра на концентрации 2,5%, однако с повышением концентрации NaCl диаметр изменялся незначительно; культура *Saccharomyces cerevisiae* показала увеличение диаметра клетки на 32% от изначального на концентрации NaCl 2,5%, на 40% при 5% NaCl, после чего на концентрации 7,5% NaCl уменьшилась на 13% от изначального; культура T1 не показала значительных изменений в диаметре клетки вплоть до 7,5% концентрации NaCl, однако на концентрации 10% увеличилась в диаметре на 30% от изначального.

Дополнительно было отмечено, что пигментированные культуры (7–71 и *Rhodothorula mucilaginosa*) с повышением концентрации соли в среде постепенно прекращали синтез пигментов.

Заключение. В ходе исследования была проведена сравнительная характеристика устойчивости мезофильных и психрофильных культур дрожжей к стрессовым факторам. Результаты показали, что мезофильные дрожжи имеют более широкий диапазон оптимальных условий для роста, более высокую устойчивость в условиях повышенного осмотического давления по сравнению с психрофильными культурами дрожжей в условиях проводимых экспериментов. Значительных различий в фазах роста же у всех изучаемых культур, помимо *Sacharomyces cerevisiae*, не наблюдалось.

Исследования по данной теме будут проводиться и дальше. В качестве будущих методов будут использоваться: изучение устойчивости к УФ-излучению; изучение устойчивости к циклам замораживание-оттаивание и т.д.

Литература

1. Черныш, В.Г. Изучение морфологии различных видов дрожжей / В.Г. Черныш, И.П. Прохорчик, О.Б. Иванченко. – СПбГУНиПТ, 2011. – 32 с.
2. Yeasts in modern biotechnology / Kazan National Research Technological University [et al.] // Journal IAR. – 2016. – Т. 15, № 1. – С. 24–29.
3. Меледина, Т.В. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* морфология, химический состав, метаболизм / Т.В. Меледина, С.Г. Давыденко. – СПб. Университет ИТМО, 2015. – 88 с.

СКРИНИНГ ПРОДУЦЕНТОВ БИОСУРФАКТАНТОВ СРЕДИ ПСИХРОТОЛЕРАНТНЫХ ДРОЖЖЕЙ

М.В. Лях, Е.А. Грибанова

БГУ, г. Минск, Республика Беларусь, *macha.lyakh.06@gmail.com*

Поверхностно-активные вещества (ПАВ) играют ключевую роль во множестве промышленных сегментов. Хотя большинство химических ПАВ получают из нефтепродуктов, что является экономически выгодным, это не всегда экологично. В связи с этим биотехнологические и химические компании стремятся разработать более безопасные и экологически чистые методы производства с использованием природных биомолекул

с уникальными свойствами. В этом контексте биоПАВ представляют собой многообещающую альтернативу, так как они синтезируются природными системами и обладают более низкой токсичностью и лучшей способностью к разложению ксенобиотиков [1].

Грибные биоПАВ отличаются самым широким химическим разнообразием. Некоторые из них, такие как софоролипиды, целлобиозные липиды и гидрофобины, производятся исключительно грибами. Эти биосурфактанты имеют универсальную химическую структуру и находят применение в различных сферах, включая личную гигиену, пищевую промышленность, сельское хозяйство, фармацевтику, биомедицину, материаловедение, биоэнергетику и охрану окружающей среды [2].

Актуальность данного исследования обусловлена растущим интересом к биологическим поверхностно-активным веществам на мировом рынке. Эти натуральные продукты могут быть использованы в коммерческих товарах и для экологических целей. Их молекулы имеют сложную структуру, состоящую из гидрофильных и гидрофобных частей, что позволяет применять их в различных отраслях, как экологических, так и промышленных [1].

Цель данных исследований заключалась в исследовании потенциала психротолерантных дрожжевых культур в качестве продуцентов биологически активных соединений, известных как биоПАВ.

Материал и методы. В качестве объектов исследования выступали 21 штамм психротолерантных культур дрожжей, предоставленных из коллекции кафедры микробиологии биологического факультета БГУ. Дрожжи ранее были выделены из различных образцов мелкозёма, Восточной Антарктиды, привезенных в результате белорусских антарктических экспедиций 2015–2017 г.

Определение термоустойчивости. Температурный диапазон роста определяли при росте на питательной среде Сабуро при 10 °C, 18 °C, 22 °C, 28 °C, 37 °C, 44 °C в течение 3–4 суток. По окончании роста делали вывод о температурном диапазоне роста культур.

Тест на гемолиз на кровяном агаре (hemolytic test). Аликвоту 100 мкл культуральной жидкости, полученной после роста дрожжей в среде BPM, точно инокулировали в лунку в кровяном агаре (HIMEDIA). Инкубировали при 37 °C в течение 24–48 часов. Регистрировали наличие/отсутствие прозрачных ореолов вокруг колоний свидетельствующих о гемолизе эритроцитов и наличии биоПАВ.

СТАВ тест. Осуществляли высев исследуемых культур медальоном на агар со СТАВ (СТАВ – 0.15 г/л, метиленовый синий – 0,005 г/л, агар-агар – 2%). Культивировали в течение 7 суток при оптимальной температуре. Регистрировали наличие/отсутствие темно-синих зон вокруг колоний, указывающие на продукцию анионных биосурфактантов.

Тест на растекания масла (Oil spreading test). Аликвоту 20 мкл культуральной жидкости вносили в центр масляного слоя, окрашенного жирорастворимым красителем. Вытеснение масла свидетельствовало о наличии поверхностно-активных веществ в исследуемом образце.

Определение индекса эмульгирования. Культуральную жидкость смешивали 1:1 с гидрофобным агентом, активно встряхивали в течение 2 минут и оставляли на 24 часа в стационарных условиях. Индекс эмульгирования (EI) рассчитываем, как отношение высоты эмульсионного слоя к общей высоте жидкости.

Исследование антимикробной активности. Антимикробную активность определяли к коллекционным тест-культурам кафедры микробиологии: *Pectobacterium carotovorum*, D3310, jn42, j289, *Staphylococcus saprophyticus*, *Sarcina lutea*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*. Ночные тест-культуры высевали методом Коха на поверхность питательной среды ПДА, после чего

в среде формировали лунки. Аликвоту 100 мкл исследуемой культуральной жидкости, точно инокулировали в лунку. Инкубировали при 28 °С в течение 24–48 часов. Регистрировали наличие/отсутствие прозрачных ореолов вокруг колоний, свидетельствующих об ингибировании роста тест-культур синтезируемыми биоПАВ.

Результаты и их обсуждение. Согласно поставленной цели эксперимента, проводили первичный скрининг продукции биоПАВ среди психротолерантных культур дрожжей Восточной Антарктиды. С использованием среды ВРМ, содержащей глицерин в качестве единственного источника углерода, наличие эмульгирующей активности было выявлено у 14 из 21 исследуемых штаммов. Культуры 1.16–1 (EI=45%), 1.16–2 (EI=45%), 3–39 (EI=42,5%), 4–8 (EI=47,5%) и 7–180 (EI=47,5) показали наибольшие значения, поэтому были отобраны в качестве перспективных продуцентов биоПАВ и использовались в последующих опытах.

Строгих психрофилов (криофилов), нормально существующих и размножающихся только при относительно низких температурах (обычно не выше 10 °С) среди изучаемых микроорганизмов не обнаружено. Указанные штаммы способны расти в диапазоне температур от 10 °С до 44 °С с оптимумом роста при 18 °С–22 °С.

Дополнительно определяли влияние источника углевода на продукцию биосурфактантов и их активность. В качестве источников углеводов выступали глицерин, глюкоза, натуральное масло (подсолнечное), натуральное моторное масло, синтетическое моторное масло. Согласно результатам, при использовании глицерина и глюкозы образовывалось наибольшее количество биоПАВ. При этом диапазон значений индекса эмульгирования составил от 32,5 до 45%.

Вытеснение масла свидетельствует о положительной активности биоПАВ в отношении гидрофобных соединений. При росте дрожжей в средах с глицерином и глюкозой в качестве единственных источников углеводов были синтезированы биосурфактанты, способные вытеснять слой масла на 2–9 мм штаммами 1.16–1, 1.16–2, 4–8, 3–39, 7–180.

Гемолитическая активность была выявлена только у штамма 1–15. Следует отметить, что активность была выявлена не при внесении аликвоты культуральной жидкости, а при непосредственном росте культуры дрожжей на поверхности кровяного агара в течение 5 суток. Отсутствие ореолов на других посевах культуры, свидетельствовало о том, что в остальных исследуемых штаммах количество биоПАВ недостаточное для разрушения эритроцитов крови.

По результатам СТАВ-теста культур и культуральной жидкости наличие темносиних зон вокруг колоний, указывающих на продукцию анионных биосурфактантов выявлено не было.

При постановке опыта по исследованию антимикробной активности было выявлено, что наиболее сильное ингибирующее рост тест-культур влияние оказывали биоПАВ, продуцируемые культурами 3–39 и 7–180 при росте на глюкозе, значения диаметров зон задержки роста составили 5,7 и 6 мм соответственно. В отличие от других штамм 3–39 показал дополнительно стимулирующий рост эффект на культуру клеток *Serratia marcescens*.

Заключение. Биотехнологическое производство биосурфактантов все еще находится на стадии становления, поэтому психротолерантные дрожжевые культуры являются перспективными производителями биоПАВ. В ходе проведенных опытов было обнаружено, что источники углеводов влияют на количество продуцируемых биоПАВ, исследуемых штаммов. Глицерин и глюкоза оказывают наибольшее влияние на синтез биосурфактантов. Дополнительно, биосурфактанты психротолерантных дрожжевых культур могут быть использованы в качестве антимикробных агентов и агентов, стимулирующих рост бактерий.

Литература

1. Banat, I.M. Biosurfactants: the green generation of speciality chemicals and potential production using Solid-State fermentation (SSF) technology / I.M. Banat [et al.] // Bioresource Technology. – 2021. – Т. 320 – С. 124222.
2. Duarte, A.W.F. Cold-adapted enzymes produced by fungi from terrestrial and marine Antarctic environments / A.W.F. Duarte [et al.] // Critical Reviews in Biotechnology. – 2018. – Т. 38, № 4. – С. 600–619.
3. Da Silva, A.F. Fungal biosurfactants, from nature to biotechnological product: bioprospection, production and potential applications / A.F. da Silva [et al.] // Bioprocess Biosyst Eng. – 2021. – Т. 44, № 10. – С. 2003–2034.

ОЦЕНКА ЭВОЛЮЦИИ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТИ У МОДЕЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

П.Ю. Пинчук, А.И. Гулис, А.Ю. Этро
ВГУ имени П.М. Машерова, г. Витебск,
Республика Беларусь, polina_mileeva@mail.ru

Моллюски имеют важное значение в медицине, ветеринарии и экономике, поскольку они переносят заболевания, поражающие многих животных (птиц, рептилий, амфибий и млекопитающих, включая людей). Изучение метаболизма моллюсков необходимо для понимания эволюции большинства заболеваний, например, ожирения, инсулинорезистентности, сахарного диабета II типа и жирового гепатоза. Прогресс в познании их метаболизма может быть достигнут за счет увеличения числа модельных видов.

Наше исследование сосредоточено на изучении процессов метаболизма, в частности пентозофосфатного пути, легочных пресноводных моллюсков *Lymnaea stagnalis* (*L. stagnalis*), *Planorbis corneus* (*P. corneus*) и *Biomphalaria glabrata* (*B. glabrata*), которые относятся к одному классу Gastropoda. Распространение данных видов моллюсков в континентальных поверхностных водах и их трофическое положение подразумевает их использование в качестве моделей для экотоксикологической оценки. Также, они являются гермофродитами, которые могут производить большое количество потомства. Так, *L. stagnalis* использовали в качестве функционального инструмента в тестах на фертильность и плодовитость. Кроме того, доступен стандартный тест, в котором *L. stagnalis* используют в качестве тестового организма для оценки репродуктивности в экотоксикологических исследованиях [1].

В последние годы секвенирование нового поколения (NGS) стало общепринятой методикой исследования общих биологических процессов, происходящих в организмах. Разработка многочисленных передовых инструментов для биоинформатического анализа способствовала одновременному извлечению очень больших объемов информации, включая геномные, транскриптомные, протеомные и метаболомные данные. Растущее число биологических исследований на основе NGS за последнее десятилетие привело к значительному сокращению времени и затрат, связанных с анализами NGS. Были опубликованы многочисленные транскриптомные анализы на основе РНК-секвенирования, изучающие широкий спектр биологических реакций у *P. corneus* [2].

Цель данной работы заключалась в проведении сравнительного анализа на молекулярном уровне пентозофосфатного пути у организмов в ряду моллюск (*B. glabrata*) → крыса (*Rattus norvegicus*) → человек (*Homo sapiens*).

Материал и методы. Материалом для исследования послужили аминокислотные последовательности 10 ферментов пентозофосфатного пути: 6-фосфоглюконатдегидрогеназа [EC:1.1.1.43], 6-фосфоглюконолактоназа [EC: 3.1.1.31],