

## Влияние различных факторов на обмен белков в дрожжевых клетках при их культивировании

О.М. Балаева-Тихомирова, А.С. Новикова, А.В. Белько

Учреждение образования «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»

*В последние десятилетия разнообразие биотехнологических процессов, в которых используются дрожжи, резко увеличилось. Наибольшее значение имеют Saccharomyces cerevisiae.*

*Цель работы – исследование условий роста, развития и показателей белкового обмена культуры дрожжевых клеток (Saccharomyces cerevisiae) при их культивировании.*

**Материал и методы.** Исследовались хлебопекарные дрожжи (Saccharomyces cerevisiae) в сухом и живом прессованном виде. Определялись оптимальные условия культивирования, показатели обмена белков (общий белок, ДНК, РНК) методами спектрофотометрии и выявлялось влияние экстракта куколок дубового шелкопряда, антибиотика и сахарозы на рост и развитие клеток.

**Результаты и их обсуждение.** Полученные данные расширяют современные представления об использовании культуры дрожжевых клеток в качестве тест-объектов: исследованы условия культивирования хлебопекарных дрожжей (Saccharomyces cerevisiae), возможности использования сухих и живых прессованных дрожжевых клеток в установленных количественных соотношениях (питательная среда: число клеток). В работе определены новые научные данные по обоснованию целесообразности применения экстракта куколок дубового шелкопряда как активатора роста, развития, повышения скорости метаболических процессов в дрожжевых клетках. Выявлены благоприятное действие сахарозы на дрожжевые клетки при их культивировании и обеззараживающее (бактериостатическое) действие антибиотика на питательную среду.

**Заключение.** Комплексное воздействие на культуру дрожжевых клеток при их культивировании экстракта куколок дубового шелкопряда, антибиотика и сахарозы наиболее эффективно влияет на численность и белковый обмен хлебопекарных дрожжей.

**Ключевые слова:** хлебопекарные дрожжи, культивирование, экстракт куколок дубового шелкопряда, антибиотик, сахароза.

## Influence of Different Factors on Metabolism of Proteins in Yeast Cells during their Culturing

O.M. Balaeva-Tikhomirova, A.S. Novikov, A.V. Belko

Educational establishment «Vitebsk State University named after P.M. Masherov»

*In recent decades, a variety of biotechnological processes in which yeast is used, has increased dramatically. The most important are Saccharomyces cerevisiae.*

*The aim is to study the conditions of growth, development and performance of protein metabolism of the culture of Saccharomyces cerevisiae yeast cells during their cultivation.*

**Material and methods.** The object of the study is Saccharomyces cerevisiae in dry and compressed form vivo. The subject of the research is the optimal culture conditions; indices of protein metabolism (total protein, DNA, RNA) the effect of an extract of oak silkworm pupae, antibiotic and sucrose on the growth and development of cells.

**Findings and their discussion.** The findings extend the current ideas about the use of culture of yeast cells as test facilities: the conditions for culturing Saccharomyces cerevisiae, and the possibility of using dry compressed live yeast cells in established proportions (nutrient medium: the number of cells). New scientific evidence to substantiate the feasibility of using the extract of oak silkworm pupae as an activator of growth, development, increase the rate of metabolic processes in yeast cells is identified in the paper. Beneficial effect of sucrose on yeast cells in their culturing and decontamination (bacteriostatic) effects of the antibiotic to the culture medium is revealed.

**Conclusion.** The combined effects of the culture of yeast cells in their culturing pupae of oak silkworm extract, sucrose and an antibiotic is most effective impact on the population and protein metabolism of baker's yeast.

**Key words:** Saccharomyces cerevisiae, cultivation, extract of oak silkworm pupae, antibiotic, sucrose.

В последние десятилетия разнообразие биотехнологических процессов, в которых используются дрожжи, резко увеличилось. Дрожжи применяются для получения различных ферментных препаратов, органических кислот, по-

лисахаридов, многоатомных спиртов, витаминов и витаминных добавок, а также во множестве других мелкомасштабных процессов [1]. Большинство видов дрожжей относятся к роду Saccharomyces и наибольшее значение имеет

*Saccharomyces cerevisiae*. К этому виду относятся расы дрожжей, используемые в хлебопечении, спиртовом производстве, пивоварении, виноделии, производстве кваса [2]. Дрожжи играют большую роль в природных экосистемах. В трофических цепях дрожжи выступают как важное звено в питании беспозвоночных. Осуществляют процессы деструкции растительных остатков [3].

Целью работы является исследование условий роста, развития и показателей белкового обмена культуры дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* при их культивировании.

**Материал и методы.** Объект исследования – хлебопекарные дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*) в сухом и живом прессованном виде, а предмет – оптимальные условия культивирования; показатели обмена белков – общий белок, ДНК, РНК; влияние экстракта куколок дубового шелкопряда (ЭКДШ), антибиотика и сахарозы на рост и развитие клеток. В эксперименте использовался метод культивирования на твердой питательной среде. Выращивание культуры дрожжей проводили при температуре 32°C в течение 24 часов в чашках Петри [4]. Затем дрожжевые клетки отмывались от среды 0,9% раствором NaCl, осаждались центрифугированием и в дальнейшем исследовались по физиолого-биохимическим показателям.

Для установления наиболее оптимальной питательной среды культивирования дрожжей на первом этапе работы выращивание *Saccharomyces cerevisiae* проводили на 3-х питательных средах. Модель для определения питательной среды, наиболее оптимальной для роста дрожжей: питательная среда ГРМ агар (5 мл) + 1 мл раствора сухих дрожжей (1:10; 1:100; 1:1000); питательная среда Висмут-сульфит агар сухой (5 мл) + 1 мл раствора сухих дрожжей (1:10; 1:100; 1:1000); Агар (5 мл) + 1 мл раствора сухих дрожжей (1:10; 1:100; 1:1000).

На втором этапе эксперимента для изучения влияния на культуру дрожжей ЭКДШ, антибиотика и сахарозы в чашки Петри вносили 5 мл питательной среды ГРМ агар. Одновременно в питательную среду вносили 100 мкл ЭКДШ (1:100) и (или) 1 мл 2% сахарозы, антибиотик (цефазолин, С=100 мкг/мл). Модель для изучения влияния различных факторов на рост и развитие дрожжей (сухих и живых прессованных): 1 группа – 1 мл раствора сухих дрожжей (1:100) + 1 мл сахарозы (2%); 2 группа – 1 мл раствора сухих дрожжей (1:100) + 1 мл сахарозы (2%) + антибиотик (100 мкг/л); 3 группа – 1 мл раствора сухих дрожжей (1:100) + антибиотик (100 мкг/л); 4 группа – 1 мл раствора сухих дрожжей (1:100) + антибиотик (100 мкг/л) + 1 мл сахарозы (2%) + 100 мкл

ЭКДШ (1:10); 5 группа – 1 мл раствора сухих дрожжей (1:100) + 1 мл сахарозы (2%) + 100 мкл ЭКДШ (1:10); 6 группа – 1 мл раствора сухих дрожжей (1:100) + 100 мкл ЭКДШ (1:10).

Количество дрожжевых клеток подсчитывалось в камере Горяева [5]. Определение содержания белка в дрожжевых клетках проводили по методу Лоури [6]. Содержание ДНК и РНК (мг/г ткани) устанавливали по методу, предложенному Blober и Potter [7], основанному на спектрофотометрическом определении ДНК при  $\lambda$  270 и 290 нм и РНК при  $\lambda$  270.

Математическую обработку полученных результатов проводили методами параметрической и непараметрической статистики с использованием пакета статистических программ Microsoft Excel 2003, STATISTICA 6.0.

**Результаты и их обсуждение.** Для определения наиболее оптимальной питательной среды, необходимой для роста дрожжевых клеток, на первом этапе работы было проведено культивирование на 3-х питательных средах в 4-х количественных соотношениях высаживаемых клеток на питательную среду (разведение 1:10, 1:100, 1:1000), средние значения полученных результатов представлены в табл. 1. Из нее видно, что наибольшее количество клеток выросло на среде ГРМ агар. Оптимальное количественное соотношение высаживаемых дрожжевых клеток составляет 1:100 – разведение дрожжей и 1:5 – соотношение дрожжевой суспензии к питательной среде. В дальнейших исследованиях культивирование дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae* проводилось 24 ч при 32°C на 5 мл на питательной среде ГРМ агар при разведении дрожжевых клеток 1:100, что соотносится с данными, полученными по кривым роста дрожжевых клеток (рис.).

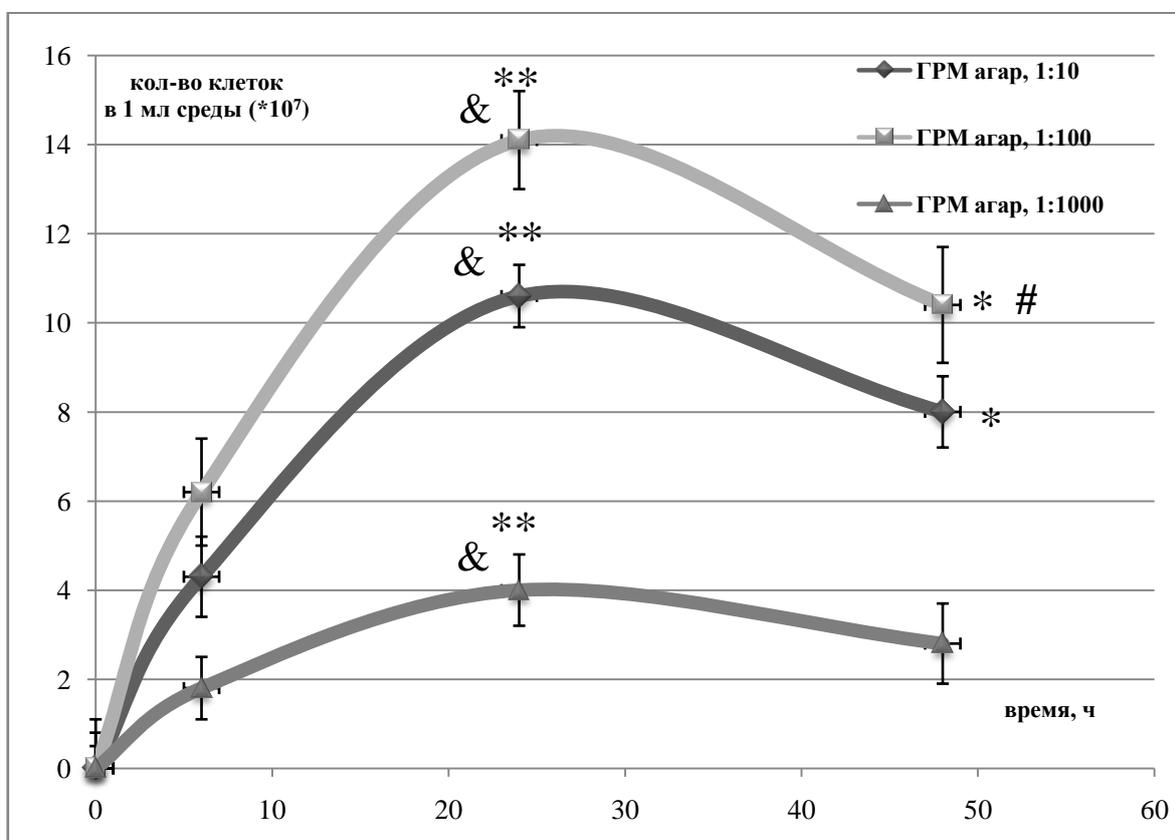
Рост дрожжевых культур можно оценивать по одному или нескольким следующим параметрам: объему осажденных клеток, числу клеток, сырой и сухой массе дрожжевых клеток, содержанию белка, жизнеспособности клеток. По полученным данным строятся ростовые кривые, которые имеют S-образную форму [8]. Реальная ростовая кривая может несколько отличаться от модельной (рис.). На форму ростовых кривых влияют и генетическая характеристика популяции, и количество инокулята, и условия выращивания (состав среды, начальное значение рН, состав газовой фазы, скорости развития).

Кривые роста клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* после 6, 24, 48 часов культивирования на питательной среде ГРМ агар представлены на рис.

**Количество клеток в культуральной среде в зависимости от состава среды и разведения дрожжей ( $M \pm m$ )**

Питательная среда	Разведение дрожжей		
	1:10	1:100	1:1000
ГРМ агар	$10,73 \cdot 10^7 \pm 1,41 \cdot 10^7$	$13,84 \cdot 10^7 \pm 1,48 \cdot 10^7$	$4,04 \cdot 10^7 \pm 0,45 \cdot 10^7$
Висмут-сульфит агар сухой	$3,35 \cdot 10^7 \pm 0,125 \cdot 10^7^{(1)}$	$1,99 \cdot 10^7 \pm 0,30 \cdot 10^7^{(2)}$	$1,18 \cdot 10^7 \pm 0,19 \cdot 10^7^{(3)}$
Агар	$5,49 \cdot 10^7 \pm 0,14 \cdot 10^6^{(1)}$	$5,23 \cdot 10^7 \pm 0,12 \cdot 10^7^{(2)}$	$4,18 \cdot 10^7 \pm 0,11 \cdot 10^7$

**Примечание:** <sup>1</sup>P<0,05 по сравнению с питательной средой ГРМ агар и разведением дрожжей 1:10; <sup>2</sup>P<0,05 по сравнению с питательной средой ГРМ агар и разведением дрожжей 1:100; <sup>3</sup>P<0,05 по сравнению с питательной средой ГРМ агар и разведением дрожжей 1:1000.



**Рис. Кривые роста клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в течение 6, 24, 48 часов культивирования.**

Из рис. видно, что самый высокий рост клеток дрожжей наблюдается на питательной среде при соотношении среды с дрожжевой суспензией 5:1 и разведении 1:100 через 24 часа культивирования. Отмечено, что через 6 часов прирост культивируемых дрожжевых клеток недостаточен: не хватает времени для развития клеток, а через 48 часов резко убывает численность клеток, что свидетельствует

о нехватке питательных ресурсов для развития дрожжевых клеток. Таким образом, оптимальным соотношением количества среды, высаживаемых дрожжевых клеток и времени роста и развития является 5:1 (разведение дрожжей 1:100), время культивирования 24 часа. Оптимальные значения для культивирования клеток будут применяться при дальнейших исследованиях.

Таким образом, по результатам первого этапа исследований для дальнейшего культивирования выбрана среда ГРМ агар, разведение дрожжевых клеток 1:100 и контроль по количеству клеток для сухих дрожжей (табл. 2).

Полученные данные по количеству клеток и оптимальных условий для роста и развития были подтверждены значениями показателей обмена белков хлебопекарных дрожжей.

Установлено, что количество общего белка (табл. 3) статистически значимо выше при разведении 1:100 для всех сред и наибольшее количество отмечено при культивировании на питательной среде ГРМ агар.

Содержание общего белка в клетках дрожжей, культивируемых на среде ГРМ агар с разведением 1:10, представим в виде 100%, следовательно, содержание общего белка при выращивании на питательной среде ГРМ агар с разведением 1:100 увеличилось на 186,5%, с разведением 1:1000 – на 108%.

При определении концентрации ДНК и РНК в дрожжевых клетках (табл. 4–5) отмечены статистически значимые отличия в группе с разведением 1:100 для всех 3-х питательных сред. Наибольшее количество содержится в клетках, культивируемых на среде ГРМ агар.

Количество ДНК в клетках дрожжей, выросших на среде ГРМ агар с разведением 1:10, со-

ставляет 100%, следовательно, количество ДНК при выращивании на питательной среде ГРМ агар с разведением 1:100 увеличилось на 120,9%, с разведением 1:1000 – на 18,8%. На других средах количество ДНК меньше, чем на среде ГРМ агар.

По сравнению с содержанием РНК (табл. 5) в клетках дрожжей, выросших на среде ГРМ агар с разведением 1:10 (100%), отмечено увеличение концентрации РНК при разведениях 1:100 на 100%, 1:1000 – на 29,6%. На других питательных средах количество РНК меньше, чем на среде ГРМ агар.

Содержание мочевины и мочевой кислоты в дрожжевых клетках (*Saccharomyces cerevisiae*) незначительное, поэтому определение их количества затруднено. Низкое содержание мочевины и мочевой кислоты в среде связано с тем, что они являются источниками азота для дрожжей и поэтому дрожжи их не выделяют из организма, а наоборот поглощают эти вещества из среды.

На втором этапе эксперимента было исследовано влияние различных факторов на культуру дрожжевых клеток, их численность и обмен белков. Культивирование клеток проводилось в одинаковых условиях в 3-х последовательностях, средние значения полученных результатов представлены в табл. 6.

Таблица 2

**Количество клеток в культуральной среде  
в зависимости от типа дрожжей и их разведения ( $M \pm m$ )**

Питательная среда	Вид и разведение дрожжей	
	1 мл сухие дрожжи (1:100)	1 мл живые прессованные дрожжи (1:100)
ГРМ агар	$2,2 \cdot 10^7 \pm 0,07 \cdot 10^7$	$13,84 \cdot 10^7 \pm 1,48 \cdot 10^7$

Таблица 3

**Содержание белка (мг/г) в дрожжевых клетках при их культивировании  
в зависимости от состава среды и разведения дрожжей ( $M \pm m$ )**

Питательная среда	Разведение дрожжей		
	1:10 (n=9)	1:100 (n=9)	1:1000 (n=9)
ГРМ агар	$89,47 \pm 2,35$	$256,33 \pm 11,6^{1,3}$	$186,13 \pm 8,12^1$
Висмут-сульфит агар	$14,42 \pm 0,65^1$	$24,31 \pm 0,75^2$	$19,43 \pm 0,56^3$
Агар	$21,52 \pm 0,89^1$	$32,37 \pm 0,94^2$	$18,85 \pm 0,67^3$

**Примечание:** <sup>1</sup>P<0,05 по сравнению с питательной средой ГРМ агар и разведением дрожжей 1:10; <sup>2</sup>P<0,05 по сравнению с питательной средой ГРМ агар и разведением дрожжей 1:100; <sup>3</sup>P<0,05 по сравнению с питательной средой ГРМ агар и разведением дрожжей 1:1000.

Таблица 4

**Содержание ДНК (мг/г) в дрожжевых клетках при их культивировании в зависимости от состава среды и разведения дрожжей ( $M \pm m$ )**

Питательная среда	Разведение дрожжей		
	1:10 (n=9)	1:100 (n=9)	1:1000 (n=9)
ГРМ агар	3,83±0,21	8,46±0,14 <sup>1,3</sup>	4,55±0,06 <sup>1,2</sup>
Висмут-сульфит агар	0,98±0,04 <sup>1</sup>	1,32±0,01 <sup>2</sup>	1,15±0,03 <sup>3</sup>
Агар	1,22±0,06 <sup>1</sup>	1,54±0,0 <sup>2</sup>	1,43±0,02 <sup>3</sup>

**Примечание:** <sup>1</sup>P<0,05 по сравнению с питательной средой ГРМ агар и разведением дрожжей 1:10; <sup>2</sup>P<0,05 по сравнению с питательной средой ГРМ агар и разведением дрожжей 1:100; <sup>3</sup>P<0,05 по сравнению с питательной средой ГРМ агар и разведением дрожжей 1:1000.

Таблица 5

**Содержание РНК (мг/г) в дрожжевых клетках при их культивировании в зависимости от состава среды и разведения дрожжей ( $M \pm m$ )**

Питательная среда	Разведение дрожжей		
	1:10 (n=9)	1:100 (n=9)	1:1000 (n=9)
ГРМ агар	9,76±0,34	19,54±0,2 <sup>1,3</sup>	12,65±0,09 <sup>1,2</sup>
Висмут-сульфит агар	2,38±0,04 <sup>1</sup>	3,67±0,01 <sup>2</sup>	3,05±0,03 <sup>3</sup>
Агар	3,36±0,05 <sup>1</sup>	4,09±0,03 <sup>2</sup>	3,78±0,01 <sup>3</sup>

**Примечание:** <sup>1</sup>P<0,05 по сравнению с питательной средой ГРМ агар и разведением дрожжей 1:10; <sup>2</sup>P<0,05 по сравнению с питательной средой ГРМ агар и разведением дрожжей 1:100; <sup>3</sup>P<0,05 по сравнению с питательной средой ГРМ агар и разведением дрожжей 1:1000.

Таблица 6

**Количество дрожжевых клеток при влиянии ЭКДШ и дополнительных факторов на их культивирование ( $M \pm m$ )**

Группы	Вид и разведение дрожжей	
	1 мл суспензии сухих дрожжей (1:100)	1 мл суспензии живых прессованных дрожжей (1:100)
Контроль	2,2·10 <sup>7</sup> ±0,07·10 <sup>7</sup>	13,8·10 <sup>7</sup> ±1,48·10 <sup>7</sup>
1 мл сахарозы (2%)	3,5·10 <sup>7</sup> ±0,13·10 <sup>7</sup> ( <sup>1</sup> )	25,2·10 <sup>7</sup> ±0,8·10 <sup>7</sup> ( <sup>1</sup> )
Антибиотик (100 мкг/л)	2,7·10 <sup>7</sup> ±0,12·10 <sup>7</sup>	11,9·10 <sup>7</sup> ±0,3·10 <sup>7</sup>
100 мкл ЭКДШ (1:10)	3,7·10 <sup>7</sup> ±0,19·10 <sup>7</sup> ( <sup>1</sup> )	20,3·10 <sup>7</sup> ±1,25·10 <sup>7</sup> ( <sup>1</sup> )
1 мл сахарозы (2%) + антибиотик (100 мкг/л)	4,32·10 <sup>7</sup> ±0,8·10 <sup>7</sup> ( <sup>1-3</sup> )	32,5·10 <sup>7</sup> ±1,04·10 <sup>7</sup> ( <sup>1-3</sup> )
1 мл сахарозы (2%) + 100 мкл ЭКДШ (1:10)	6,9·10 <sup>7</sup> ±0,1·10 <sup>7</sup> ( <sup>1,2,4</sup> )	18,8·10 <sup>7</sup> ±1,14·10 <sup>7</sup> ( <sup>1,4</sup> )
Антибиотик (100 мкг/л) + 1 мл сахарозы (2%) + 100 мкл ЭКДШ (1:10)	8,8·10 <sup>7</sup> ±0,28·10 <sup>7</sup> ( <sup>1-4</sup> )	21,3·10 <sup>7</sup> ±1,52·10 <sup>7</sup> ( <sup>1,3</sup> )

**Примечание:** <sup>1</sup>P<0,05 по сравнению с контролем; <sup>2</sup>P<0,05 по сравнению с группой ГРМ агар + сахароза; <sup>3</sup>P<0,05 по сравнению с группой ГРМ агар + антибиотик; <sup>4</sup>P<0,05 по сравнению с группой ГРМ агар + ЭКДШ.

Таблица 7

**Содержание белка (мг/л) в дрожжевых клетках при влиянии ЭКДШ и дополнительных факторов на их культивирование ( $M \pm m$ )**

Группы	Вид и разведение дрожжей	
	1 мл суспензии сухих дрожжей (1:100)	1 мл суспензии живых прессованных дрожжей (1:100)
Контроль	189,2±8,63	256,3±8,63
1 мл сахарозы (2%)	291±6,23 <sup>1</sup>	458±8,32 <sup>1</sup>

Окончание табл. 7

Антибиотик (100 мкг/л)	236±5,63	244±4,33
100 мкл ЭКДШ (1:10)	311±4,15 <sup>1</sup>	480±4,44 <sup>1</sup>
1 мл сахарозы (2%) + антибиотик (100 мкг/л)	405±7,43 <sup>1-3</sup>	543±6,54 <sup>1-3</sup>
1 мл сахарозы (2%) + 100 мкл ЭКДШ (1:10)	466±9,13 <sup>1,2,4</sup>	465±6,11 <sup>1</sup>
Антибиотик (100 мкг/л) + 1 мл сахарозы (2%) + 100 мкл ЭКДШ (1:10)	504±10,6 <sup>1-4</sup>	587±11,2 <sup>1-4</sup>

**Примечание:** <sup>1</sup>P<0,05 по сравнению с контролем; <sup>2</sup>P<0,05 по сравнению с группой ГРМ агар + сахароза; <sup>3</sup>P<0,05 по сравнению с группой ГРМ агар + антибиотик; <sup>4</sup>P<0,05 по сравнению с группой ГРМ агар + ЭКДШ.

Как видно из табл. 6, сахароза выступает как активатор размножения и роста дрожжевых клеток, т.к. хлебопекарные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* являются сахаромикетами и легко ассимилируют сахара. Антибиотик при введении в питательную среду и культивировании не оказывал статистически значимого влияния на количество дрожжевых клеток. Добавление к питательной среде ЭКДШ способствовало размножению дрожжевых клеток и, как следствие, увеличению их числа [9]. Наиболее статистически важные изменения числа клеток по сравнению с контролем отмечены у групп при добавлении ЭКДШ и дополнительных факторов: при добавлении сахарозы число дрожжевых клеток увеличилось на 59,1% для сухих дрожжей и на 91% для живых прессованных дрожжей; сахароза + антибиотик – на 96,4% и на 135,5% соответственно; ЭКДШ – на 68,2% и на 47,1% соответственно; ЭКДШ + сахароза – на 213,6% и на 36,2% соответственно; ЭКДШ + сахароза + антибиотик – на 300% и на 54,3% соответственно.

Из табл. 6 следует, что в группах: 1) содержащих антибиотик (ГРМ агар + антибиотик – 100%) происходили следующие изменения количества дрожжевых клеток при добавлении дополнительных факторов: антибиотик + сахароза – увеличение на 60% для сухих дрожжей и на 173,1% для живых прессованных дрожжей; антибиотик + сахароза + ЭКДШ – на 225,9% и на 79% соответственно; 2) содержащих сахарозу (ГРМ агар + сахароза – 100%) – количество клеток увеличилось при добавлении дополнительных факторов: сахароза + антибиотик – на 23,4% и на 29% соответственно; сахароза + ЭКДШ – увеличилось на 97,1% для сухих дрожжей и уменьшилось для живых прессованных дрожжей на 25,4%; сахароза + антибиотик + ЭКДШ – увеличилось на 152,4% для сухих дрожжей и уменьшилось на 15% для живых дрожжей; 3) содержащих ЭКДШ: ЭКДШ – 100%; ЭКДШ + сахароза – количество дрожжевых клеток увеличилось на 86,5% для сухих дрожжей и уменьшилось на 7,4% для живых дрожжей; ЭКДШ + сахароза + антибиотик – увеличилось на 137,8% и на 4,9% соответственно.

Статистически значимое количественное увеличение клеток подтверждается следующими значениями биохимических показателей, представленных в табл. 7–9.

Установлено увеличение содержания общего белка (табл. 7) при добавлении к питательной среде ЭКДШ и дополнительных факторов (антибиотик, сахароза): сахароза – увеличение на 53,8% для сухих дрожжей и на 78,7% для живых дрожжей; сахароза + антибиотик – на 114,1% и на 111,8% соответственно; ЭКДШ – на 64,4% и на 87,3% соответственно; ЭКДШ + сахароза – на 146,3% и на 81,4% соответственно; ЭКДШ + сахароза + антибиотик – на 166,4% и на 129,3% соответственно; антибиотик – увеличилось на 24,7% для сухих дрожжей и уменьшилось на 4,8% для живых дрожжей.

Рассмотрим изменение содержания белка по группам: 1) содержащих антибиотик: антибиотик – 100%; антибиотик + сахароза – увеличилось на 71,6% для сухих дрожжей и на 122,5% для живых дрожжей; антибиотик + сахароза + ЭКДШ – на 113,6% и на 140,6% соответственно; 2) содержащих сахарозу: сахароза – 100%; сахароза + антибиотик – количество клеток увеличилось на 39,2% и на 18,6% соответственно; сахароза + ЭКДШ – на 60,1% и на 1,5% соответственно; сахароза + антибиотик + ЭКДШ – на 73,2% и на 28,2% соответственно; 3) содержащих ЭКДШ: ЭКДШ – 100%; ЭКДШ + сахароза – количество дрожжевых клеток увеличилось на 49,8% для сухих дрожжей и уменьшилось на 3,1% для живых дрожжей; ЭКДШ + сахароза + антибиотик – увеличилось на 62,1% и на 22,3% соответственно.

Установлено увеличение содержания ДНК (табл. 8) при добавлении к питательной среде ЭКДШ и дополнительных факторов (антибиотик, сахароза): сахароза – увеличение на 36,4% для сухих дрожжей и на 81% для живых дрожжей; сахароза + антибиотик – на 132,6% и на 153% соответственно; ЭКДШ – на 68,7% и на 101,2% соответственно; ЭКДШ + сахароза – на 182% и на 153% соответственно; ЭКДШ + сахароза + антибиотик – на 207,6% и на 90,4% соответственно; антибиотик –

увеличилось на 8,7% для сухих дрожжей и уменьшилось на 2,8% для живых дрожжей.

Рассмотрим изменение содержания ДНК по группам: 1) содержащих антибиотик: антибиотик – 100%; антибиотик + сахароза – увеличилось на 113,9% для сухих дрожжей и на 160,3% для живых дрожжей; антибиотик + сахароза + ЭКДШ – на 183% и на 198,1% соответственно; 2) содержащих сахарозу: сахароза – 100%; сахароза + антибиотик – количество клеток увеличилось на 70,5% и на 39,8% соответственно; сахароза + ЭКДШ – на 106,7% и на 5,2% соответственно; сахароза + антибиотик + ЭКДШ – на 125,6% и на 60% соответственно; 3) содержащих ЭКДШ: ЭКДШ – 100%; ЭКДШ + сахароза – количество дрожжевых клеток увеличилось на 67,2% для сухих дрожжей и уменьшилось на 5,3% для живых дрожжей; ЭКДШ + сахароза + антибиотик – увеличилось на 82,4% и на 43,9% соответственно.

Установлено увеличение содержания РНК (табл. 9) при добавлении к питательной среде ЭКДШ и дополнительных факторов (антибиотик, сахароза): сахароза – увеличение на 11,5% для сухих дрожжей и на 65,5% для живых дрожжей;

сахароза + антибиотик – на 83,4% и на 123,4% соответственно; ЭКДШ – на 67,1% и на 86,4% соответственно; ЭКДШ + сахароза – на 97,6% и на 75,1% соответственно; ЭКДШ + сахароза + антибиотик – на 123,6% и на 133,6% соответственно; антибиотик – увеличилось на 9,4% для сухих дрожжей и уменьшилось на 6,2% для живых дрожжей.

Рассмотрим изменение содержания РНК по группам: 1) содержащих антибиотик: антибиотик – 100%; антибиотик + сахароза – увеличилось на 67,7% для сухих дрожжей и на 138,3% для живых дрожжей; антибиотик + сахароза + ЭКДШ – на 104,4% и на 149,2% соответственно; 2) содержащих сахарозу: сахароза – 100%; сахароза + антибиотик – количество клеток увеличилось на 64,1% и на 35% соответственно; сахароза + ЭКДШ – на 76,8% и на 5,8% соответственно; сахароза + антибиотик + ЭКДШ – на 100% и на 41,2% соответственно; 3) содержащих ЭКДШ: ЭКДШ – 100%; ЭКДШ + сахароза – количество дрожжевых клеток увеличилось на 18,3% для сухих дрожжей и уменьшилось на 6% для живых дрожжей; ЭКДШ + сахароза + антибиотик – увеличилось на 34% и на 66,3% соответственно.

Таблица 8

**Содержание ДНК (мг/г) в дрожжевых клетках при ЭКДШ и влиянии дополнительных факторов на их культивирование ( $M \pm m$ )**

Группы	Вид и разведение дрожжей	
	1 мл суспензии сухих дрожжей (1:100)	1 мл суспензии живых прессованных дрожжей (1:100)
Контроль	6,54±0,22	8,46±0,14
1 мл сахарозы (2%)	8,92±0,32 <sup>1</sup>	15,31±0,32 <sup>1</sup>
Антибиотик (100 мкг/л)	7,11±0,11	8,22±0,03
100 мкл ЭКДШ (1:10)	11,03±0,09 <sup>1</sup>	17,02±0,04 <sup>1</sup>
1 мл сахарозы (2%) + антибиотик (100 мкг/л)	15,21±0,34 <sup>1-3</sup>	21,4±0,14 <sup>1-3</sup>
1 мл сахарозы (2%) + 100 мкл ЭКДШ (1:10)	18,44±0,05 <sup>1,2,4</sup>	16,11±0,08 <sup>1</sup>
Антибиотик (100 мкг/л) + 1 мл сахарозы (2%) + 100 мкл ЭКДШ (1:10)	20,12±0,03 <sup>1-4</sup>	24,5±0,05 <sup>1-4</sup>

**Примечание:** <sup>1</sup>P<0,05 по сравнению с контролем; <sup>2</sup>P<0,05 по сравнению с группой ГРМ агар + сахароза; <sup>3</sup>P<0,05 по сравнению с группой ГРМ агар + антибиотик; <sup>4</sup>P<0,05 по сравнению с группой ГРМ агар + ЭКДШ.

Таблица 9

**Содержание РНК (мг/г) в клетках при влиянии дополнительных факторов на их культивирование ( $M \pm m$ )**

Группы	Вид и разведение дрожжей	
	1 мл суспензии сухих дрожжей (1:100)	1 мл суспензии живых прессованных дрожжей (1:100)
Контроль	16,42±0,03	19,54±0,2
1 мл сахарозы (2%)	18,35±0,04 <sup>1</sup>	32,34±0,15 <sup>1</sup>

Окончание табл. 9

Антибиотик (100 мкг/л)	17,96±0,11	18,32±0,06
100 мкл ЭКДШ (1:10)	27,43±0,04 <sup>1</sup>	36,43±0,13 <sup>1</sup>
1 мл сахарозы (2%) + антибиотик (100 мкг/л)	30,11±0,14 <sup>1-3</sup>	43,65±0,22 <sup>1-3</sup>
1 мл сахарозы (2%) + 100 мкл ЭКДШ (1:10)	32,45±0,12 <sup>1,2,4</sup>	34,23±0,09 <sup>1</sup>
Антибиотик (100 мкг/л) + 1 мл сахарозы (2%) + 100 мкл ЭКДШ (1:10)	36,71±0,15 <sup>1-4</sup>	45,65±0,32 <sup>1-4</sup>

**Примечание:** <sup>1</sup>P<0,05 по сравнению с контролем; <sup>2</sup>P<0,05 по сравнению с группой ГРМ агар + сахароза; <sup>3</sup>P<0,05 по сравнению с группой ГРМ агар + антибиотик; <sup>4</sup>P<0,05 по сравнению с группой ГРМ агар + ЭКДШ.

Следовательно, питательная среда ГРМ агар – наиболее оптимальная для развития дрожжей из имеющихся питательных сред. Наибольший рост дрожжевых клеток наблюдался при разведении 1:100. Также установлено, что ЭКДШ участвует в активации сухих дрожжей, что значительно ускоряет их рост. Добавление в среду сахарозы ускоряло рост дрожжей, так как они способны легко ассимилировать сахара. Антибиотик при введении в питательную среду и культивировании не оказывал статистически значимого влияния на количество дрожжевых клеток.

**Заключение.** В результате проделанной работы была определена наиболее оптимальная среда для развития хлебопекарных дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*) и установлено влияние ЭКДШ и дополнительных факторов (сахароза, антибиотик) на рост и развитие культуры дрожжей.

Таким образом, оптимальной средой из представленных (висмут-сульфит агар сухой, ГРМ агар, агаровая среда) для развития дрожжей является ГРМ агар. Наибольший рост дрожжевых клеток на питательной среде наблюдался в разведении 1:100 при культивировании в течение суток и температуре 32°C. Это подтверждается полученными данными по количеству дрожжевых клеток и определенными биохимическими показателями. Причина заключается в том, что в среде ГРМ агар содержатся все необходимые для питания дрожжей компоненты и разведение дрожжевой суспензии 1:100 является оптимальным, т.к. нет такой конкуренции между дрожжевыми клетками за компоненты питания, как при разбавлении 1:10, и дрожжевая суспензия не так сильно разбавлена, как при разведении 1:1000.

При добавлении ЭКДШ к питательной среде наблюдается увеличение количества дрожжевых клеток и повышение уровня некоторых биохимических показателей [10]. Так, при добавлении ЭКДШ к питательной среде ГРМ агар количество дрожжевых клеток увеличивается на 68,2% для сухих дрожжей и на 47,1% для живых дрожжей в сравнении с контролем. Изменения коли-

чества клеток наблюдаются также при действии ЭКДШ в комплексе с сахарозой и антибиотиком: ГРМ агар + ЭКДШ – 100%; ЭКДШ + сахароза – количество дрожжевых клеток увеличилось на 86,5% для сухих дрожжей и уменьшилось на 7,4% для живых дрожжей; ЭКДШ + сахароза + антибиотик – увеличилось на 137,8% и на 4,9% соответственно. Из вышесказанного можно отметить, что наибольшие изменения происходят под действием ЭКДШ у сухих дрожжей. Из этого можно сделать вывод о том, что ЭКДШ выступает как активатор дрожжевых клеток, находящихся в состоянии покоя, что при взаимодействии с сахарозой и антибиотиком ведет к увеличению количества дрожжевых клеток и изменению некоторых биохимических показателей. Также ЭКДШ положительно влияет на дрожжевые клетки путем снижения последствий окислительного стресса.

Влияние дополнительных факторов (антибиотик и сахароза) на рост и развитие дрожжей изучено как по отдельности, так и в комплексе с ЭКДШ. При добавлении к питательной среде сахарозы число дрожжевых клеток увеличилось на 59,1% для сухих дрожжей и на 91% для живых прессованных дрожжей. При действии сахарозы в комплексе с ЭКДШ и (или) антибиотиком произошли следующие значимые изменения (ГРМ агар + сахароза – 100%): сахароза + антибиотик – количество клеток увеличилось на 23,4% и на 29% соответственно; сахароза + ЭКДШ – увеличилось на 97,1% для сухих дрожжей; сахароза + антибиотик + ЭКДШ – увеличилось на 152,4% для сухих дрожжей. Это можно объяснить тем, что хлебопекарные дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae*) являются сахаромицетами и, следовательно, они способны легко ассимилировать сахара, что приводит к более быстрому росту клеток и их размножению. Антибиотик при введении в питательную среду и культивировании не оказывал статистически значимого влияния на количество дрожжевых клеток.

Комплексное воздействие на культуру дрожжевых клеток ЭКДШ, антибиотика и сахарозы наи-

более эффективно влияет на численность и белковый обмен хлебопекарных дрожжей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Молекулярная биология клетки / Б. Албертс [и др.]. – М.: Мир, 1994. – Т. 1. – 80 с.
2. Коновалов, С.А. Биохимия дрожжей / С.А. Коновалов. – М., 1998. – 271 с.
3. Кузнецов, В.А. Культура клеток / В.А. Кузнецов, Л.А. Селезнева. – М.: Наука, 1997. – 203 с.
4. Бабьва, И.П. Биология дрожжей / И.П. Бабьва, И.Ю. Чернов. – М.: Т-во, 2004. – 239 с.
5. Адамс, Р. Методы культуры клеток для биохимиков / Р. Адамс. – М.: Мир, 1983. – 289 с.
6. Lowry, O.H. Protein measurement with Folin phenol reagent / J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–275.
7. Blober, G. Distribution of radioactivity between the acid-soluble pool and pools of RNA in the nuclear, nonsedimentable and ribosome fractions of rat liver after a single injection of labeled orotic acid / G. Blober, V.R. Potter // Biochem. Biophys. Acta. – 1968. – Vol. 166. – P. 48–54.
8. Бабич, О.О. Оптимизация процесса культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / О.О. Бабич, С.А. Сухих, Л.С. Солдатова // Вестн. ВСГТУ. – 2011. – № 3. – С. 19.
9. Чиркин, А.А. Разделение ингибирующей и активирующей синтез ДНК активностей в гемолимфе куколок дубового шелкопряда / А.А. Чиркин [и др.] // Фундаментальные и прикладные проблемы стресса: материалы II Междунар. науч.-практ. конф. – Витебск, 2011. – С. 37–39.
10. Чиркин, А.А. Химическая характеристика гемолимфы куколок китайского дубового шелкопряда, акклиматизированного в Ви-

тебской области / А.А. Чиркин [и др.] // Биологическое разнообразие Белорусского Поозерья: современное состояние, проблемы использования и охраны: материалы II Междунар. конф. – Витебск, 2008. – С. 244–246.

REFERENCES

1. Alberts B. *Molekuliarnaya biologiya kletki* [Molecular Biology of the Cell], Vol. 1, M., Mir, 1994, 80 p.
2. Konovalov S.A. *Biokhimiya drozhei* [Biochemistry of Yeast], M., 1998, 271 p.
3. Kuznetsov V.A., Selezneva L.A. *Kultura kletok* [Culture of Cells], M., Nauka, 1997, 203 p.
4. Babva I.P., Chernov I.Yu. *Biologiya drozhei* [Biology of Yeast], M., T-vo, 2004, 239 p.
5. Adams R. *Metodi kulturi kletok dlia biokhimitov* [Methods of Cell Culture for Biochemists], M., Mir, 1983, 289 p.
6. Lowry, O.H. Protein measurement with Folin phenol reagent / J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–275.
7. Blober, G. Distribution of radioactivity between the acid-soluble pool and pools of RNA in the nuclear, nonsedimentable and ribosome fractions of rat liver after a single injection of labeled orotic acid / G. Blober, V.R. Potter // Biochem. Biophys. Acta. – 1968. – Vol. 166. – P. 48–54.
8. Babich O.O., Sukhikh S.A., Soldatova L.S. *Vestnik VSGTU* [Newsletter of VSTGU], 2011, 3, p. 19.
9. Chyrkin A.A. *Fundamentalniye i prikladniye problemi stressa. Mater. II Mezhdunar. nauch.-prakt. konf.* [Fundamental and Applied Problems of Stress. Materials of the 2<sup>nd</sup> International scientific and practical conference], Vitebsk, VGU, 2011, pp. 37–39.
10. Chyrkin A.A. *Mater. II Mezhdunar. konf.* [Materials of the 2<sup>nd</sup> International conference], Vitebsk, VGU, 2008, pp. 244–246.

Поступила в редакцию 09.06.2015

Адрес для корреспонденции: e-mail: olgabal.tih@gmail.com – Балаева-Тихомирова О.М.