

КИЛЛЕР АКТИВНОСТЬ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

В.А. БАГИЯН

*Институт микробиологии НАН Армении, 378510, Абовян*

The killer activity of 88 strains *Saccharomyces cerevisiae* has been studied. The presence of 23 cultures with mycocinogenic activity, optimal conditions and osmotolerant activity for these strains have been revealed. Highly expressed killer activity have 7 strains to 5 sensitive cultures.

*Дрожжи — микоцин — киллер активность — таксономия*

Киллер феномен довольно распространен среди дрожжей, как аксомицетовых, так и базидиомицетовых. На сегодня киллер активность обнаружена у более чем 50 видов так называемых микоциногенных дрожжей, продуцирующих токсины — микоцины. Причем некоторые одинаковые виды относятся к разным киллер типам, поскольку различаются своими ингибирующими особенностями [5].

Анализ киллер активности зависит от многих факторов: состава среды, условий инкубирования, концентрации клеток чувствительного штамма [4]. Однако главное ограничение в обнаружении микоциногенных штаммов — это выбор подходящего чувствительного штамма. Киллер штаммы выделяют микоцины, к которым они не восприимчивы, но которые тормозят рост чувствительных дрожжей. Как специфическая невосприимчивость, так и токсичность ограничены главным образом родственными организмами. Следовательно, выбор чувствительных штаммов для обнаружения микоциногенных дрожжевых культур — в первую очередь таксономическая проблема [3].

В связи с этим целью работы являлось исследование киллер феномена у штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, обнаружение новых микоцин-чувствительных штаммов, изучение влияния условий инкубирования и состава среды на возможность обнаружения и величину киллер активности.

**Материал и методика.** Объектами исследований служили 88 культур дрожжей *S. cerevisiae*, музейных и выделенных из заквасок и хлебного теста.

Для анализа киллер активности использовали свежие (2-3 суточные) активно растущие культуры дрожжей. Суспензии клеток культур, исследуемых в качестве чувствительных штаммов, переносили на агаризованную поверхность в чашки Петри со средой следующего состава (г/л):

|                       |        |  |        |
|-----------------------|--------|--|--------|
| А . глюкоза           | 5,0    | Б . $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ | 13,8   |
| пептон                | 2,5    | лимонная кислота   | 6,5    |
| дрожжевой экстракт    | 2,0    | дистиллированная вода                                    | 300 мл |
| агар                  | 20,0   |  |        |
| дистиллированная вода | 700 мл |  |        |

Компоненты А и Б стерилизуются при 112° в течение 20 мин. После автоклавирования А и Б смешиваются и разливаются в чашки Петри. Посев киллер штаммов производили прямым штрихом. Инкубирование 3-4 сут., при 15°.

Устойчивость дрожжей к высоким осмотическим давлениям изучали на средах с 50 и 60% (по массе) глюкозы [1].

Мальтазную активность дрожжей определяли в микрогазомере Елешкого [2].

**Результаты и обсуждение.** Поскольку главное ограничение в обнаружении микоциногенных дрожжей – это выбор подходящего чувствительного штамма, каждый из 88 штаммов исследовался как в качестве киллер штамма, так и на наличие киллер чувствительности к действию киллер фактора. В итоге для изучения было получено 7656 вариантов.

В результате исследования всех полученных вариантов было обнаружено 5 микоцин-чувствительных штаммов и 23 штамма с киллер активностью, из которых 16 проявляют киллер действие только к конкретному чувствительному штамму. Ярко выраженной киллер активностью в отношении всех обнаруженных чувствительных штаммов характеризуются культуры 7, 23, 46, 48, 60, 99 и 100, вероятно, обладающие более широким спектром ингибирующего действия. Причиной разного действия киллер культур на микоцин-чувствительные штаммы может быть и принадлежность последних к разным подвидам *S. cerevisiae*, поскольку одно из применений киллер феномена – это применение его как таксономического инструмента для идентификации дрожжей ниже видового уровня, а вид *S. cerevisiae* в последнее время подразделяют на 4 подвида: *S. cerevisiae*, *S. paradoxus*, *S. pasterianus*, *S. bayanus*.

Исследование влияния состава среды и условий инкубирования на чувствительность анализа по определению киллер активности показало, что микоциногенные дрожжи имеют более высокую киллер активность на питательно богатых средах. Рекомендуется в качестве основных компонентов питательной среды для анализа использовать глюкозу, дрожжевой экстракт, пептон, лимонную кислоту.

Выявлено, что дрожжевые микоцины инактивируются при повышении температуры выше 20°. Предпочтительная температура для инкубирования в течение анализа киллер активности 15°.

Исследование влияния различных концентраций клеток суспензий чувствительных штаммов на чувствительность самого анализа показало, что оптимальным является концентрация клеток в приготовленной суспензии  $1 \cdot 10^5$ /мл.

Важным условием тестирования киллер активности является значение рН среды. Установлено, что дрожжевые микоцины, как правило, более активны при значениях рН – 4-5.

Для бродильных производств исключительно большое значение имеет уменьшение риска загрязнения ферментационного процесса нежелательной дрожжевой микрофлорой, хорошо развивающейся при тех же условиях культивирования, оптимальных для роста производственных рас. Поэтому важное значение приобретает изучение биологических способов воздействия на торможение роста дикой дрожжевой микрофлоры, а именно использование производственных штаммов с киллер активностью. В этой связи в отношении ярко выраженных микоциногенных штаммов проводились исследования их

производственных свойств.

Для определения степени осмотолерантности культур изучалась способность их к росту на средах с повышенным осмотическим давлением. Установлена однородность штаммов по их способности развиваться на среде с 50% глюкозы, в то время как способностью к росту на среде с 60% глюкозы обладали штаммы №№ 23, 46, 48, 60 и 100.

Изучение влияния хлористого натрия на мальтазную активность дрожжей показало, что менее чувствительными к соли являлись штаммы 23, 60 и 100. Из приведенной таблицы видно, что NaCl в концентрации 2% скорость сбраживания мальтозы этими штаммами вообще не снижает.

Таблица. Влияние NaCl на мальтазную активность культур дрожжей

| №№ штаммов | Мальтазная активность, мин |         |
|------------|----------------------------|---------|
|            | Без NaCl                   | NaCl 2% |
| 7          | 40                         | 43      |
| 23         | 32                         | 32      |
| 46         | 35                         | 36      |
| 48         | 36                         | 40      |
| 60         | 35                         | 35      |
| 99         | 40                         | 45      |
| 100        | 30                         | 30      |

Таким образом, в результате проведенных сравнительных исследований киллер активности 88 культур дрожжей выявлены 23 микоциногенных штамма, из которых 7 обладают ярко выраженной киллер активностью в отношении всех 5 обнаруженных чувствительных штаммов. Особо перспективными по своим производственным характеристикам являются штаммы *S. cerevisiae* №№ 23, 60 и 100. Учитывая, что активность дрожжевых микоцитов повышается с понижением температуры ниже 18°, целесообразно использование этих культур в пивоварении.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бабьева И.П., Голубев В.И. Методы выделения и идентификации дрожжей. 120. М., 1979.
2. Семихатова Н.М. Хлебопекарные дрожжи. 199. М., 1980.
3. Lachance R. Can. J. Microbiol., 33, 783-788, 1987.
4. Prescott D.M. Yeast, 6, 1, 1990.
5. Rose H.A., Harrison J.S. Agr. Biol. Chem., 53, 2593-2599, 1989.

Поступила 14.VIII.200.