

УДК 576.8

**ИЗУЧЕНИЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ И СБРАЖИВАЮЩЕЙ
АКТИВНОСТИ ДРОЖЖЕВОЙ КУЛЬТУРЫ *CANDIDA
GUILLIERMONDII* BDU-127****С.М.ШАФИЕВА, Т.С.МАМЕДОВ**
Бакинский Государственный Университет
shafievasamira@mail.ru

Были изучены некоторые физиологические признаки дрожжевого гриба *Candida guilliermondii* BDU-127, хранившиеся в коллекции культур микробиологической лаборатории Бакинского Государственного Университета. Микроскопические исследования показали, что клетки дрожжей имеют овальную, яйцевидную или эллиптическую форму, а размеры клеток дрожжей колеблются от 2,5 до 10 мкм в поперечнике и от 4 до 20 мкм в длину. Изучение роста культуры при различных температурах показало, что культура гриба способна к росту в пределах от 25 до 45⁰С. Оптимальной температурой является 30⁰С. При изучении сбраживающей активности гриба - газообразование не наблюдалось. Изучение протеолитической активности исследуемой культуры показал положительный результат, а это значит, что *Candida guilliermondii* BDU-127 может вырабатывать фермент протеазу, которая способна разжижать желатин в среде.

Ключевые слова: дрожжевая культура, *Candida guilliermondii*, сбраживание сахаров, протеолитическая активность

Дрожжевые организмы, распространенные на территории Азербайджана остаются не полностью изученными, за исключением работ проводимых по изучению дрожжевой ризосферы некоторых культуральных растений, таких как: яблони, капусты, пшеницы, винограда, кукурузы, где были выделены и идентифицированы аспорогенные дрожжи. А также из простокваш различных районов Азербайджана были выделены и изучены дрожжевые организмы и молочнокислые бактерии (1,2).

В связи с широким использованием дрожжевых организмов во многих областях науки и техники считается важным не только поиск и выделение в чистую культуру, но их идентификация и сохранение в жизнеспособном состоянии в коллекции культур микроорганизмов (7).

Дрожжи являются неподвижными одноклеточными эукариотными организмами, относящимися к грибам. Они широко распространены в природе: встречаются на листьях, ягодах, плодах, фруктах, в соках некта-

ре цветов, воздухе, воде и почве. Очевидно, дрожжи являются первыми микроорганизмами, которые человек начал использовать для своих потребностей – приготовления хлеба, вина, пива и других продуктов (4).

Среди различных представителей дрожжей встречаются виды, которые способны вызывать патологические изменения в других живых организмах. Среди подобного рода дрожжевых грибов достаточно много опасных для человека. Среди дрожжей нет облигатно-патогенных видов, которые могут размножаться только в организме человека. Однако, в природных местообитаниях встречаются факультативно-патогенные и условно-патогенные дрожжи, которые могут вызывать серьезные заболевания у людей с ослабленным иммунитетом (3). На основании вышесказанного можно говорить об актуальности темы нашей работы.

Цель работы – рассмотреть некоторые особенности штамма дрожжевого гриба *Candida guilliermondii* BDU-127, выделенный из филлосферы растений на территории Азербайджана. Для достижения поставленной цели было изучено морфо-культуральные и физиологические свойства дрожжевого гриба.

Материалы и методы

В качестве исследуемого материала была использована культура гриба *Candida guilliermondii* BDU-127, которую хранили на среде сусло-агар (6⁰ Баллинг) при температуре 4-5⁰С и по истечении срока хранения (3 месяца) делали пересев на свежую среду.

К морфологическим признакам относятся форма и размеры клеток, которые изучались при росте на плотной среде. В приготовленное сусло (6⁰ Б и рН 6-6,5) добавили 2% агара и стерилизовали в автоклаве 15 мин при 112⁰С. Стерилизованное сусло-агар разливали в чашки Петри по 15-20 мл. Поверхность агаризованных сред подсушивали в перевернутом положении для удаления конденсационной воды. Посев в чашки Петри на сусло-агар производили, перенося 0,1 мл соответствующего разведения культуры на поверхность среды и его распределяли с помощью стерильного шпателя. Инкубацию проводили при 25⁰С в течение 3 суток (5,6).

К культуральным признакам относится описание гигантской колонии, выросшей на питательной среде. Для получения гигантской колонии производили посев, используя стерильную иглу, которой путем укола переносили небольшое количество клеток на поверхность среды в чашках Петри. Чашки Петри для получения гигантской колонии инкубировали при комнатной температуре. Описание гигантской колонии проводили через 30 суток (5).

В качестве физиологических признаков были выбраны: сбраживание глюкозы, рост при различных температурах, протеолитическая активность.

При установлении способности к росту дрожжи культивировали на

жидкой среде при различных температурах. Для этого приготовили стерильные пробирки со суслом и добавляли в нее суспензию исследуемой культуры 0,1 мл., затем клали в термостат на культивирование при 25, 30, 35, 40, 45°C. Рост гриба при различных температурах изучали в жидкой синтетической среде и оценивали колориметрически (6).

Для изучения сбраживающей активности дрожжей использовали 1% глюкозу, которая добавлялась к основному фону среды следующего состава: 0,5% пептона и 0,1% K₂HPO₄. Вначале готовили основной фон среды, установили рН среды около 6,8 и разлили в пробирки с поплавками по 9 мл в каждую; стерелизовали при 1 атм. Углеводы рекомендуется стерелизовать отдельно в виде 10%-ных водных растворов и добавлять после стерилизации к стерильному фону среды. Все среды с углеводами засеивали одновременно 0,1 – 0,2 мл. суспензии клеток изучаемого микроорганизма и поставили в термостат на культивирование. Если изучаемый организм развивается быстро, то результаты можно регистрировать через 48-96 ч., а если медленно – через 7-10 суток. Сбраживание углеводов наблюдали визуально по образованию газов в поплавках. Результаты сравнивали с контрольной средой, т.е. фоном, не сопровождающим углеводом (5).

Для определения протеазной активности использовали желатин. 10-20 г желатина растворили в 90 мл горячей дистиллированной воды, затем разлили в пробирки по 4,5 мл и в таком виде автоклавировали 15 минут при 112°C. После охлаждения до 37°C в каждую пробирку асептически добавляли по 0,5 мл углеродной дрожжевой основы, концентрация компонентов в которой в 10 раз выше, за исключением глюкозы. Содержание глюкозы оставляло 5%. Пробирки оставили застывать в вертикальном положении. Посев сделали, внося каплю суспензии дрожжей на поверхность столбика. Разжижение желатина оценивали визуально при культивировании гриба при 25°C от 7 до 24 суток (5).

Все опыты проводились в 4 повторностях.

Выводы и их обсуждение

Микроскопические исследования показали, что клетки дрожжей имеют овальную, яйцевидную или эллиптическую форму. Размеры клеток дрожжей колеблются от 2,5 до 10 мкм в поперечнике и от 4 до 20 мкм в длину.

При росте на плотной среде форма дрожжевой культуры была овальная с валиком по краю, диаметр 7 суточной колонии около 10 мм, профиль колоний слегка выпуклый, поверхность шероховатая, блеск и прозрачность матовая, цвет колонии бесцветный (грязно-бурый), край волнистый, структура крупнозернистая, консистенция слизистая (слегка прилипает).

Изучение роста культуры при различных температурах 25, 30, 35, 40

и 45°C показало, что культура гриба способна к росту в пределах от 25 до 45°C. Оптимальной температурой является 30°C. При повышенных температурах (40-45°C) гриб растёт очень слабо.

При изучении сбраживающей активности гриба газообразование не наблюдалось.

Изучение протеолитической активности исследуемой культуры показал положительный результат, а это значит что *Candida guilliermondii* BDU-127 может вырабатывать фермент протеазу, которая способна разжижать желатин в среде.

Таким образом, исследования показали, что клетки дрожжей в основном имеют яйцевидную или эллиптическую форму, а размеры клеток дрожжей колеблются от 2,5 до 10 мкм в поперечнике и от 4 до 20 мкм в длину. Изучение физиологических признаков показало, что культура гриба способна расти при различных температурах, а оптимальной является 30°C; не может сбраживаться глюкозу; способна разжижать желатин в среде.

Исследования по изучению физиологических и биохимических свойств продолжаются для полной характеристики дрожжевой культуры *Candida guilliermondii* BDU-127. Из литературных источников установлено, что группа микроорганизмов относящихся к роду *Candida* в большинстве случаев являются возбудителями ряда грибковых заболеваний у человека и наша дальнейшая работа заключается в поиске особенностей данного штамма и методов их коррекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ганбаров Х.Г. Микробиологическая характеристика простокваш, используемых в агроклиматических районах Большого и Малого Кавказа // Bakı Universitetinin xəbərləri, 2002, №3., с. 69-72.
2. Ганбаров Х.Г., Сафарова А.Х., Шафиева С.М. Протеолитическая активность грибов рода *Aspergillus*, выделенных из почв Азербайджана // Известия Уфимского научного центра РАН, 2018, N3(1), с. 80-84.
3. Бабьева И.П., Чернов И.Ю. Биология дрожжей. М.: КМК, 2004, 222 с.
4. Barnett J.A., Payne R.W., Yarrow D. Yeasts.Characteristics and Identification. Cambridge university. USA, 2000, 1150 p.
5. Нетрусов А.И., Егоров М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии. М.: Академия. 2005, 608 с.
6. Бабьева И.П., Голубев В.И. Методы выделения и идентификация дрожжей. М.: Пищевая промышленность. 1979, 120 с.
7. Rose A.H., Harrison (Editors). Biology of yeasts // London et al.: Acad. Press, 1987, vol. 1-3, 1053 p.

CANDIDA GUILLIERMONDII BDU-127 MAYA GÖBƏLƏYİ ŞTAMININ PROTEOLİTİK VƏ QIQCIRMA AKTVLİYİNİN ÖYRƏNİLMƏSİ

S.M.ŞƏFİYEVƏ, T.S.MƏMMƏDOV

XÜLASƏ

Bakı Dövlət Universitetinin mikrobiologiya laboratoriyasının kulturalar kolleksiyasında saxlanılan *Candida guilliermondii* BDU-127 maya göbələyi ştamının bəzi fizioloji-biokimyəvi xüsusiyyətləri öyrənilmişdir. Mikroskopik tədqiqatlar maya hüceyrələrinin oval, yumurtavari və ya ellips formaya malik olduğunu göstərdi. Maya göbələyi hüceyrələrinin diametri 2,5 - 10 mkm, uzunluğu 4 -20 mkm arasında dəyişmişdir.

Müxtəlif temperaturda kulturanın böyüməsinin öyrənilməsi nəticəsində müəyyən olundu ki, bu maya göbələkləyi ştamı 25-45⁰C arasında inkişaf edə bilər və optimal temperatur 30⁰C-dir. Qıqcırma prosesini öyrənərkən qazın əmələ gəlməsi (qıqcırmanın getməsi) müşahidə edilmədi. Proteolitik aktivliyin tədqiqi müsbət nəticə göstərdi, yəni *Candida guilliermondii* BDU-127 ştamı proteaza enzimin sintez edə bilər.

Açar sözlər: maya göbələyi, *Candida guilliermondii* şəkərlərin qıqcırması, proteolitik aktivlik.

STUDY OF THE PROTEOLYTIC AND FERMENTATIVE ACTIVITY OF YEAST CULTURE CANDIDA GUILLIERMONDII BDU-127

S.M.SHAFIEVA, T.S.MAMEDOV

SUMMARY

Was studied some physiological signs of yeast strain *Candida guilliermondii* BDU-127, which were stored in the culture collection of the microbiological laboratory of Baku State University. Microscopic studies showed that the yeast cells have an oval, eggplant or elliptical shape, and the size of the yeast cells ranges from 2.5 to 10 μm in diameter and from 4 to 20 μm in length.

The study of culture growth at various temperatures showed that the culture of the fungus is capable of growth in the range from 25 to 45⁰C. The optimum temperature was 30⁰C. When studying the fermentative activity of the fungus, gas formation was not observed. A study of the proteolytic activity of the studied culture showed a positive result, which means that *Candida guilliermondii* BDU-127 can produce a protease enzyme.

Keywords: yeast culture, *Candida guilliermondii* proteolytic aktivty, fermentation of sugars