УДК 663.126

ВЛИЯНИЕ МАЛЬТОЗЫ И ГЛЮКОЗЫ НА РОСТ ДРОЖЖЕЙ

Е.А. Таранович, 3 курс
Научный руководитель – **В.М. Гречко,** старший преподаватель
Полесский государственный университет

Saccharomyces cerevisiae широко применяются в биотехнологических исследованиях благодаря своей высокой скорости роста, удобству культивирования и чувствительности к изменениям состава питательной среды. Глюкоза и мальтоза относятся к числу наиболее значимых сахаров, используемых дрожжами, однако их воздействие на рост клеток различается. Глюкоза является предпочтительным источником углерода и быстрее вовлекается в энергетический обмен, тогда как мальтоза требует предварительного транспорта в клетку и ферментативного расщепления, что может замедлять рост. В связи с этим сравнительное изучение влияния данных субстратов представляет как теоретический, так и практический интерес [1, с. 22]. Цель данной работы – экспериментально оценить влияние различных концентраций глюкозы и мальтозы на размножение дрожжей *S. cerevisiae*.

Чистую культуру *S. cerevisiae* выделяли методом последовательных разведений на плотной питательной среде YPD следующего состава: 2 % глюкоза, 1% дрожжевой экстракт, 2 % пептон, 2 % агар (для плотной среды). Выделенную культуру переносили в жидкую среду YPD без глюкозы (1 % дрожжевой экстракт, 2 % пептон, дистиллированная вода), в которую дополнительно вносили исследуемые углеводы (глюкозу или мальтозу) в концентрациях 2 %, 5 %, 10 % и 20 %. Культивирование проводили в термостате при 30 °С без перемешивания. Через 17 часов после посева отбирали аликвоты, разводили в 5 раз для подсчёта клеток с использованием камеры Горяева.

Подсчёт вели в 5 больших квадратах (80 малых квадратов). Концентрацию клеток (X, кл/мкл) вычисляли по формуле:

$$X = (A \times 4000 \times D) / n, \text{ кл/мкл}$$

где A – общая сумма клеток в 5 больших квадратах,
D – степень разведения (D=5),
n – количество малых квадратов (n=80).

Выбор временной точки 17 ч обусловлен тем, что при данных условиях дрожжи *S. cerevisiae* обычно проходят лаг-фазу (2–4 ч), затем вступают в экспоненциальную (логарифмическую) фазу, которая продолжается около 8–12 ч. К 17 ч культура, как правило, достигает конца логарифмической фазы – начала стационарной фазы, когда скорость роста замедляется из-за исчерпания питательных веществ, накопления метаболитов (в том числе этанола) или осмотического стресса. В этот период различия в эффективности утилизации разных источников углерода проявляются наиболее контрастно. Измерение численности клеток на 17 ч позволяет зафиксировать общий объем биомассы, произведенной за один цикл культивирования.

Таблица – Концентрация клеток *S. cerevisiae* в средах с глюкозой и мальтозой через 17 ч культивирования

Концентрация углевода	2 %	5 %	10 %	20 %
Глюкоза (сумма клеток А)	108	102	94	94
Глюкоза (клеток/мкл)	$2{,}70\times10^4$	$2{,}55\times10^4$	$2{,}35\times10^4$	$2{,}35\times10^4$
Мальтоза (сумма клеток А)	56	127	60	91
Мальтоза (клеток/мкл)	$1{,}40\times10^4$	$3{,}18\times10^4$	$1{,}50\times10^4$	$2{,}28\times10^4$

При увеличении концентрации глюкозы с 2 % до 10 % наблюдали снижение количества клеток с $2{,}70\times10^4$ до $2{,}35\times10^4$ кл/мкл, что может быть связано с эффектом Кребтри – подавлением дыхания при высоких концентрациях легкоусвояемого сахара [3, с. 68]. В случае мальтозы максимальное количество клеток ($3{,}18\times10^4$ кл/мкл) было достигнуто при 5 %, что на 18 % выше максимального показателя на глюкозе ($2{,}70\times10^4$ кл/мкл). Это согласуется с данными о более эффективной ассимиляции углерода из мальтозы некоторыми штаммами дрожжей [2, с. 217]. Дальнейшее повышение концентрации мальтозы 10 % и 20 %) приводило к снижению выхода биомассы, вероятно, вследствие осмотического стресса или энергетических затрат на синтез мальтазы [1, с. 31].

Различия между вариантами стали очевидны именно на этой фазе роста (конец логарифмической – начало стационарной). Снижение выхода при 10% и 20% глюкозы ($2{,}35\times10^4$ клеток/мкл) свидетельствует о том, что к 17 ч клетки на высоких концентрациях глюкозы уже испытали осмотический или метаболический стресс, тогда как умеренная концентрация мальтозы (5 %) обеспечила более длительную продуктивную фазу роста.

Экспериментально установлено, что размножение *S. cerevisiae* на мальтозе характеризуется более высоким максимумом биомассы ($3{,}175\times10^4$ кл/мкл при 5 %), чем на глюкозе ($2{,}70\times10^4$ кл/мкл при 2 %). При этом высокие концентрации глюкозы (≥10 %) подавляют рост сильнее, чем аналогичные концентрации мальтозы, что может объясняться различиями в механизмах транспорта и метаболизма этих сахаров.

Список использованных источников

1. Меледина, Т. В. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Морфология, химический состав, метаболизм [Текст] : учеб. пособие / Т. В. Меледина, С. Г. Давыденко. – Санкт-Петербург : Университет ИТМО, 2015. – 88 с.

2. Пономарёва, О. И. Влияние сахарозы и мальтозы на размножение дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [Текст] / О. И. Пономарёва, Е. В. Борисова, С. Ю. Пименова, В. А. Иванова // Вестник

Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2016. – № 1. – С. 215–220.

3. Римарева, Л. В. Теоретические и практические основы биотехнологии дрожжей [Текст] : учеб. пособие для вузов / Л. В. Римарева. – Москва : ДеЛи принт, 2010. – 251 с.