

Эффективность синтеза внеклеточных полисахаридов штаммами дрожжей *Lipomyces*

Инназар А. Хусаинов	¹	fortes16@yandex.ru
Евгений Р. Якубов	¹	rescaolofe@gmail.com
Зосья А. Канарская	¹	zosya_kanarskaya@mail.ru
Альберт В. Канарский	¹	alb46@mail.ru
Ирина А. Максимова	²	maximova.irina@gmail.com
Алексей В. Качалкин	^{2,3}	kachalkin_a@mail.ru

¹ Казанский национальный исследовательский технологический университет, ул. Карла Маркса, 68, г. Казань, 420015, Россия

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, г. Москва, 119991, Россия

³ Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина РАН, Проспект Науки, 5, г. Пущино, 142290, Россия

Аннотация. Образование внеклеточных полисахаридов – достаточно хорошо изученное свойство бактерий, которое используется для промышленного производства таких внеклеточных бактериальных как ксантан, декстран, геллан, гиалуронан и др. Также широко применяются и полисахариды, синтезируемые грибами, как например, шизофиллан и склероглюкан. Однако полисахариды, синтезируемые дрожжами и дрожжеподобными грибами, пока не нашли широкого промышленного применения, за исключением пуллулана, продуцируемого дрожжами *Aureobasidium pullulans*, несмотря на то, что имеется ряд перспективных разработок по использованию дрожжевых полисахаридов в медицине. Дрожжи синтезируют полимеры, в составе которых содержатся маннаны, глюканы, фосфоманнаны, галактоманнаны и глюкуроноксилманнаны. Полисахариды, продуцируемые разными видами, а иногда даже разными штаммами одного и того же вида могут различаться по химическому составу и структуре. Такое разнообразие состава и свойств открывает большие перспективы применения их в самых разнообразных областях: медицине, химической, пищевой и косметической промышленности, а также в качестве кормовых добавок. В этой связи поиск новых продуцентов полисахаридов весьма актуален. Дрожжи рода *Lipomyces* встречаются в почвах южного и северного полушария Земли, кроме высокогорных районов и почв тундры, где почвообразовательные процессы находятся на ранних стадиях развития, однако богаты этими дрожжами почвы степной и лесной зон. В результате проведения исследований выясняется, что с точки зрения прироста биомассы на представленной питательной среде при исследуемых температурах наибольшее внимание привлекают штаммы дрожжей *Lipomyces lipofer* КБП Y-6267 и КБП Y-6265, особенно при пониженных температурах. С повышением температуры прирост биомассы у этих дрожжей заметно снижается. В качестве продуцентов внеклеточного полисахарида стоит отметить штаммы КБП Y-6267 и КБП Y-6264 при 20 °C и штаммы КБП Y-6268 и КБП Y-6234 при 30 °C, что указывает на возможность использования для этих целей разных видов рода *Lipomyces*. При 30 °C штаммы *Lipomyces lipofer* КБП Y-6268 и *Lipomyces kononenkoe* КБП Y-6234 обладали наибольшими активностями ферментов, тем не менее, зависимость между активностями ферментов, приростами биомассы и выходами полисахарида при пониженных температурах отмечено не было.

Ключевые слова: внеклеточные полисахариды, психрофилы, *Lipomyces*, культивирование, меласса

Efficiency of synthesis of extracellular polysaccharides strains of *Lipomyces* yeast

Innazar A. Khusainov	¹	fortes16@yandex.ru
Evgeniy R. Yakubov	¹	rescaolofe@gmail.com
Zosya A. Kanarskaya	¹	zosya_kanarskaya@mail.ru
Albert V. Kanarskiy	¹	alb46@mail.ru
Irina A. Maximova	²	maximova.irina@gmail.com
Aleksey V. Kachalkin	^{2,3}	kachalkin_a@mail.ru

¹ Kazan National Research Technological University, Karl Marx str., 68, Kazan, 420015, Russia

² Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, 1, Moscow, 119991, Russia

³ Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms (IBPM RAS), Prospect Nauki, 5, Puschino, 142290, Russia

Abstract. The formation of extracellular polysaccharides is a fairly well-studied property of bacteria that is used for the industrial production of such extracellular bacterial as xanthan, dextran, gellan, hyaluronan, etc.. Polysaccharides synthesized by fungi are also widely used, such as schizophyllan and scleroglucan. However, polysaccharides synthesized by yeast and yeast-like fungi have not yet found wide industrial application, with the exception of pullulan produced by *Aureobasidium pullulans* yeast, although there are a number of promising developments in the use of yeast polysaccharides in medicine. Yeast synthesizes polymers that contain mannans, glucans, phosphomannans, galactomannans, and glucuronoxylmannans. Polysaccharides produced by different species, and sometimes even by different strains of the same species, may differ in chemical composition and structure. Such a variety of composition and properties opens up great prospects for their use in various fields: medicine, chemical, food and cosmetic industries, as well as feed additives. In this regard, the search for new producers of polysaccharides is very relevant. Yeast of the genus *Lipomyces* is found in the soils of the southern and northern hemispheres of the Earth, except in the high-mountainous regions and tundra soils, where soil formation processes are in early stages of development, but the soils are rich in steppe and forest zones. As a result of the research, it turns out that from the point of view of biomass growth on the presented

Для цитирования

Хусаинов И.А., Якубов Е.Р., Канарская З.А., Канарский А.В., Максимова И.А., Качалкин А.В. Эффективность синтеза внеклеточных полисахаридов штаммами дрожжей *Lipomyces* // Вестник ВГУИТ. 2018. Т. 80. № 4. С. 269–277. doi:10.20914/2310-1202-2018-4-269-277

For citation

Husainov I.A., Yakubov E.R., Kanarskaya Z.A., Kanarskiy A.V., Maksimova I.A., Kachalkin A.V. Efficiency of synthesis of extracellular polysaccharides strains of *Lipomyces* yeast. *Vestnik VGUIT* [Proceedings of VSUET]. 2018. vol. 80. no. 4. pp. 269–277. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2018-4-269-277

nutrient medium at the temperatures studied, the strains of the *Lipomyces lipofer* yeast КБП Y-6267 and КБП Y-6265 attract the most attention, especially at low temperatures. With an increase in temperature, the increase in biomass in these yeasts decreases markedly. As producers of extracellular polysaccharide, it is worth noting the КБП Y-6267 and КБП Y-6264 strains at 20 °C and the КБП Y-6268 strains and the КБП Y-6234 at 30 °C, which indicates the possibility of using for these purposes different species of the genus *Lipomyces*. At 30 °C, *Lipomyces lipofer* strains of the КБП Y-6268 and *Lipomyces kononenkoae* КБП Y-6234 had the highest enzyme activities, however, there was no relationship between enzyme activities, biomass gains and polysaccharide yields at low temperatures.

Keywords: extracellular polysaccharides, psychrophils, *Lipomyces*, cultivation, molasses

Введение

Образование внеклеточных полисахаридов – хорошо изученное свойство бактерий, которое используется для промышленного производства таких внеклеточных бактериальных полисахаридов, как ксантан, декстран, геллан, гиалуронан и др. Также широко применяются и полисахариды, синтезируемые грибами, как, например, шизофиллан и склероглюкан. Однако полисахариды, синтезируемые дрожжами и дрожжеподобными грибами, пока не нашли широкого промышленного применения, за исключением продуцируемого дрожжами *Aureobasidium pullulans* пуллулана [1]. Однако имеется ряд перспективных разработок по использованию дрожжевых полисахаридов в медицине [2, 3].

Дрожжи синтезируют полимеры, в составе которых содержатся маннаны, глюканы, фосфоманнаны, галактоманны и глюкуроноксилманнаны. Полисахариды, продуцируемые разными видами, а иногда даже разными штаммами одного и того же вида могут различаться по химическому составу и структуре. Такое разнообразие состава и свойств открывает большие перспективы применения их в самых разнообразных областях: медицине, химической, пищевой и косметической промышленности, а также в качестве кормовых добавок [4]. В этой связи поиск новых продуцентов полисахаридов весьма актуален.

Дрожжи рода *Lipomyces* встречаются в почвах южного и северного полушария Земли, кроме высокогорных районов и почв тундры, где почвообразовательные процессы находятся на ранних стадиях развития, однако богаты этими дрожжами почвы степной и лесной зон [5].

Липомицеты в отличие от микромицетов играют не столь существенную роль в деструкции и разложении растительных остатков в лесных почвах, выступая, преимущественно, в качестве симбиотической микрофлоры для более активных почвенных микроорганизмов [6].

Внеклеточные полисахариды липомицетов. Согласно данным ИК-спектроскопии внеклеточные полисахариды липомицетов представляют собой группу родственных соединений, отличающихся друг от друга по соотношению отдельных моносахаридов, типом связей между моносахаридными остатками и конфигурациями последних. На это указывают данные и значения углов вращения нативных полисахаридов [7].

Цель работы – определение перспективности применения дрожжей рода *Lipomyces* в промышленных условиях для получения биомассы и синтеза внеклеточных полисахаридов.

Материалы и методы

В работе использованы штаммы аскомицетовых дрожжей рода *Lipomyces* из коллекции кафедры биологии почв, факультета почвоведения Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (WDCM CCINFO 1173).

Поскольку первоначальная видовая идентификация коллекционных культур дрожжей была выполнена более 30 лет тому назад, была проведена их повторная идентификация на основе анализа нуклеотидных последовательностей D1/D2 доменов региона 26S (LSU) рДНК. Выделение ДНК, проведение ПЦР осуществляли по методике, описанной ранее [8]. Для амплификации интересующего нас региона рДНК, содержащего D1/D2 домены, использовали праймеры: ITS1f (5'-CTT GGT CAT TTA GAG AAG TA) и NL4 (5'-GGT CCG TGT TTC AAG ACG G). Секвенирование ДНК проводили с использованием праймера NL4 на секвенаторе Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer в Научно-производственной компании «Синтол» (Москва). Идентификацию полученных результатов проводили, используя данные генбанка NCBI (ncbi.nlm.nih.gov) и базы данных MycoID (www.mycobank.org). Видовые обозначения дрожжей приводятся в статье после их повторной идентификации.

Культивирование дрожжей проводили на питательной среде, приготовленной из гидролизата кукурузной биомассы. Для приготовления питательной среды к сухой растительной биомассе кукурузы, полученной после водной экстракции сахарозы, добавляли воду в соотношении 1:10 (сухое вещество: вода). Предварительный гидролиз с целью делигнификации проводился при температуре 95 °C на водяной бане в течение 2 ч с добавлением NaOH в количестве 3% и перекиси водорода в количестве 2% к массе сухого вещества. Полученная разваренная масса промывалась проточной водой и отжималась. Концентрация сухого вещества разваренной массы доводилась до 3% добавлением воды с последующим гидропомолом на лабораторном измельчителе ножевого типа. Затем с помощью 14%-ного раствора соляной кислоты pH доводился до 5,0–5,5. Полученная масса нагревалась до 50 °C, вводился фермент Accellerase 500

в количестве 0,20–0,25 мл/г сухого вещества для ферментативного гидролиза растительных полимеров. Гидролиз производился в течение 24 ч. Полученная масса центрифугировалась, надосадочная жидкость стерилизовалась и использовалась в качестве питательной среды.

Культивирование дрожжей проводили в колбах объемом 100 мл при непрерывном перемешивании на шейкере в течение 6–7 сут, варьируя температуру.

Для определения количества дрожжевых клеток в культуральной жидкости использовали камеру Горяева-Тома. Оптическую плотность определяли фотометрическим методом при длине волны 540 нм в кюветах шириной 5 мм по предварительно построенному калибровочному графику. Концентрацию внеклеточных полисахаридов определяли по разнице концентраций редуцирующих веществ в культуральной жидкости до и после кислотного гидролиза.

Удельную скорость роста μ определяли логарифмическим отношением количества биомассы m_1 , полученной за время t , к количеству биомассы дрожжей m_2 , засеянных в колбы, по формуле:

$$\mu = \frac{\ln \frac{m_1}{m_2}}{t}.$$

Время генерации определяли по формуле

$$q = 0,693 / \mu.$$

Выход биомассы дрожжей определяли отношением количества биомассы m_1 , полученной за время t , к количеству редуцирующих веществ m_2 ассимилированных дрожжами за время t , по формуле:

$$B = \frac{m_1}{m_2} \cdot 100\%.$$

Результаты и обсуждение

Культивирование при 20 °С. Изменение численности клеток практически у всех штаммов за исключением КБП У-6258 и КБП У-6234 начинается примерно с 60-го ч культивирования. Линейный характер прироста клеток, начиная с 72-го ч культивирования и до окончания культивирования на 168-м ч, отмечен у штаммов КБП У-6267, КБП У-6265 и КБП У-6264. При этом наибольшая концентрация клеток дрожжей отмечена у штамма КБП У-6267. У штамма КБП У-6234 линейный прирост численности клеток начинается с 96-го ч, тогда как штаммы КБП У-6268 и КБП У-6266 в это время достигают максимума численности клеток. Численность клеток КБП У-6258 изменяется незначительно в течение всего исследуемого периода культивирования при данных условиях (рисунок 1).

Наибольший прирост биомассы также характерен для штамма КБП У-6267. Однако наибольшее значение удельной скорости роста и наименьшее время генерации отмечено у штамма КБП У-6266 (таблица 1).

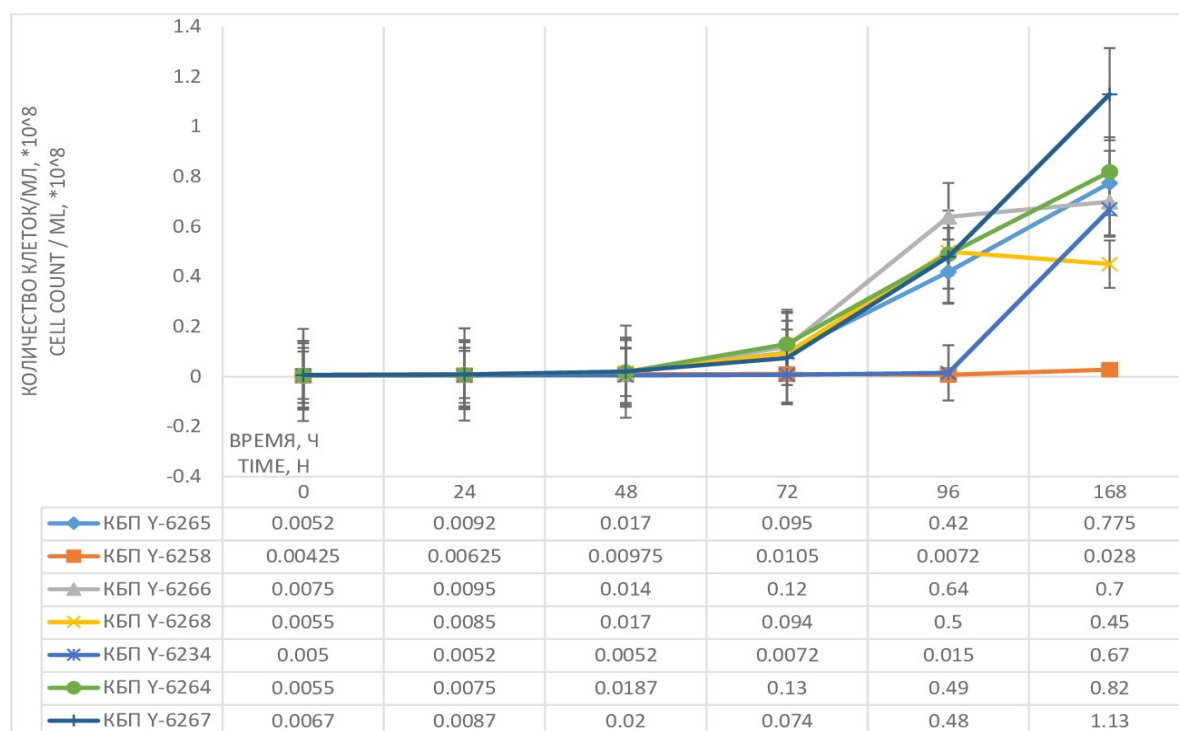


Рисунок 1. Влияние продолжительности культивирования на изменение количества клеток штаммов дрожжей *Lipomyces* при 20 °С

Figure 1. The effect of the duration of cultivation on the change in the number of cells of the yeast *Lipomyces* strains at 20 °C

Кинетические характеристики роста и выход биомассы при 20 °С

Table 1.

Kinetic characteristics of growth and biomass yield at 20 °С

Показатели Indicators	Штаммы Strains						
	КБП Y-6265	КБП Y-6258	КБП Y-6266	КБП Y-6268	КБП Y-6234	КБП Y-6264	КБП Y-6267
Удельная скорость роста, ч ⁻¹ Specific growth rate, h ⁻¹	0,038±0,004	0,005±0,002	0,145±0,033	0,135±0,012	0,049±0,01	0,039±0,009	0,042±0,008
Время генерации, ч Generation time, h	26,100±1,963	201,380±4,259	6,880±0,697	7,410±1,002	20,400±2,744	25,700±4,648	23,670±2,545
Выход биомассы, % Biomass yield, %	43,050±4,199	2,150±0,247	38,040±2,309	45,450±2,464	25,020±3,288	32,490±3,015	56,160±3,218

Р 95

Практически полное потребление РВ питательной среды на 168-м часу культивирования характерно для штаммов КБП Y-6268, КБП Y-6264 и КБП Y-6234. Наибольшая остаточная концентрация РВ питательной среды соответствует

штамму КБП Y-6258. Штаммы КБП Y-6267, КБП Y-6266 и КБП Y-6268 по остаточной концентрации РВ занимают промежуточное положение (рисунок 2).

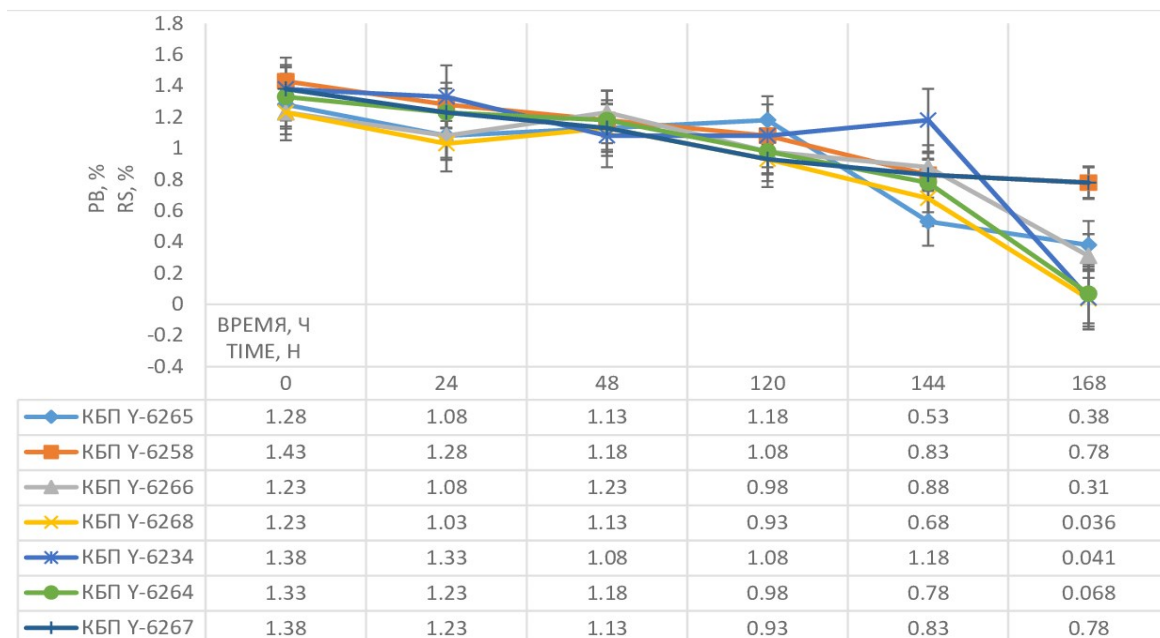


Рисунок 2. Изменение содержания редуцирующих веществ в питательной среде при культивировании дрожжей *Lipomyces* при температуре 20 °С

Figure 2. The change in the content of reducing substances in the substratum during the cultivation of *Lipomyces* yeast at a temperature of 20 °С

Штаммы КБП Y-6267 и КБП Y-6264, имеющие наибольший прирост численности клеток, также демонстрируют высокую полисахарид-синтезирующую способность. Штамм КБП Y-6258, имеющий наименьший прирост численности клеток, имеет также наименьшую концентрацию внеклеточного полисахарида. Однако зависимость концентрации полисахарида от численности клеток не соответствует штамму КБП Y-6265, который при значительной численности клеток имеет низкую концентрацию полисахарида (рисунок 3). Остальные штаммы занимают промежуточное положение по данному параметру.

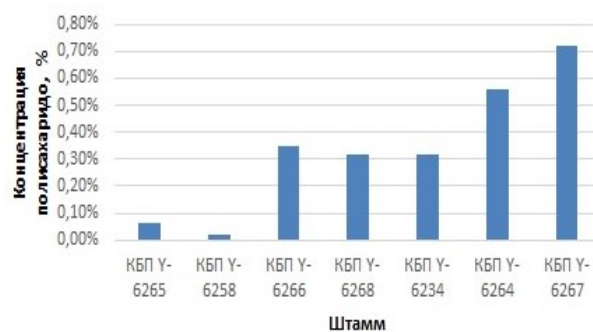


Рисунок 3. Концентрация внеклеточных полисахаридов при синтезе различными штаммами при 20 °С

Figure 3. Concentration of extracellular polysaccharides in the synthesis of different strains at 20 °С

Штаммам КБП Y-6267 и КБП Y-6264, имеющим наибольший прирост клеток и концентрацию полисахарида, характерны также близкие значения ксиланазной и целлобиазной активности (таблица 2). При этом штамму КБП Y-6258, имеющему наименьший прирост клеток и наименьшую концентрацию полисахарида,

свойственны высокие значения ксиланазной, целлобиазной и целлюлазной активности. Таким образом, наличие активностей вышеперечисленных ферментов не дает преимущество микроорганизмам при данных условиях культивирования на исследуемой питательной среде.

Таблица 2.

Ферментативная активность дрожжей *Lipomyces* при 20 °C

Table 2.

Enzymatic activity of the yeast *Lipomyces* at 20 °C

	Штаммы Strains						
	КБП Y-6265	КБП Y-6258	КБП Y-6266	КБП Y-6268	КБП Y-6234	КБП Y-6264	КБП Y-6267
Ксиланазная, IU/mL Xylanase, IU/mL	0,032±0,004	0,085±0,005	0,046±0,005	0,032±0,003	0,046±0,004	0,052±0,005	0,052±0,005
Целлюлазная, FPU/mL Cellulase, FPU/mL	0,065±0,004	0,084±0,008	0,065±0,003	0,230±0,030	0,084±0,004	0,019±0,003	0,046±0,004
Целлобиазная, FPU/mL Cellobiase, FPU/mL	0,084±0,004	0,260±0,030	0,160±0,011	0,100±0,006	0,093±0,002	0,093±0,002	0,084±0,004

Р 95

Культивирование при 25 °C.

Изменение численности клеток практически у всех штаммов начинается примерно с 48-го ч культивирования. При этом наибольшая концентрация клеток дрожжей отмечена у штамма КБП Y-6267 на 144-м ч культивирования. Штаммы КБП Y-6258, КБП Y-6266, КБП Y-6234 достигают максимума численности клеток на 120-м ч культивирования, а остальные – при

144-х ч. После 144-х ч культивирования численность клеток всех штаммов начинает снижаться (рисунок 4).

При данной температуре культивирования наибольший прирост биомассы характерен для штамма КБП Y-6267. Однако наибольшее значение удельной скорости роста и наименьшее время генерации отмечено у штамма КБП Y-6265 (таблица 3).

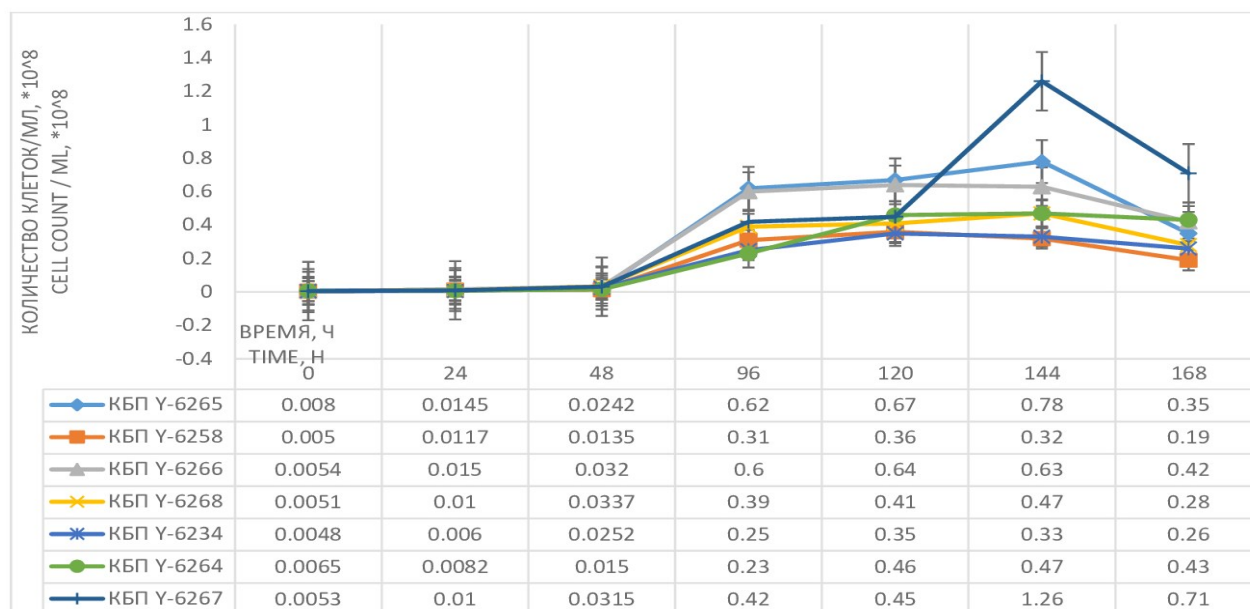


Рисунок 4. Влияние продолжительности культивирования на изменение количества клеток штаммов дрожжей *Lipomyces* при 25 °C

Figure 4. The effect of the duration of cultivation on the change in the number of cells of the yeast *Lipomyces* strains at 25 °C

Кинетические характеристики роста и выход биомассы при 25 °C

Table 3.

Kinetic characteristics of growth and biomass yield at 25 °C

Показатели Indicators	Штаммы Strains						
	КБП Y-6265	КБП Y-6258	КБП Y-6266	КБП Y-6268	КБП Y-6234	КБП Y-6264	КБП Y-6267
Удельная скорость роста, ч ⁻¹ Specific growth rate, h ⁻¹	0,072±0,004	0,057±0,003	0,071±0,002	0,062±0,003	0,040±0,003	0,044±0,003	0,043±0,003
Время генерации, ч Generation time, h	13,890±0,049	17,380±0,079	14,020±0,082	16,040±0,041	24,970±0,034	22,800±0,150	23,050±0,150
Выход биомассы, % Biomass yield, %	35,000±0,392	17,270±0,269	32,300±1,037	16,090±0,115	26,000±0,248	33,070±0,234	50,710±1,039

Р 95

Наибольшее потребление РВ питательной среды на 168-м ч культивирования характерно для штаммов КБП Y-6268 и КБП Y-6267. Наибольшая остаточная концентрация РВ питательной среды

характерна для штамма КБП Y-6258. Штаммы КБП Y-6265, КБП Y-6266, КБП Y-6264 и КБП Y-6234 по степени потребления РВ занимают промежуточное положение (рисунок 5).

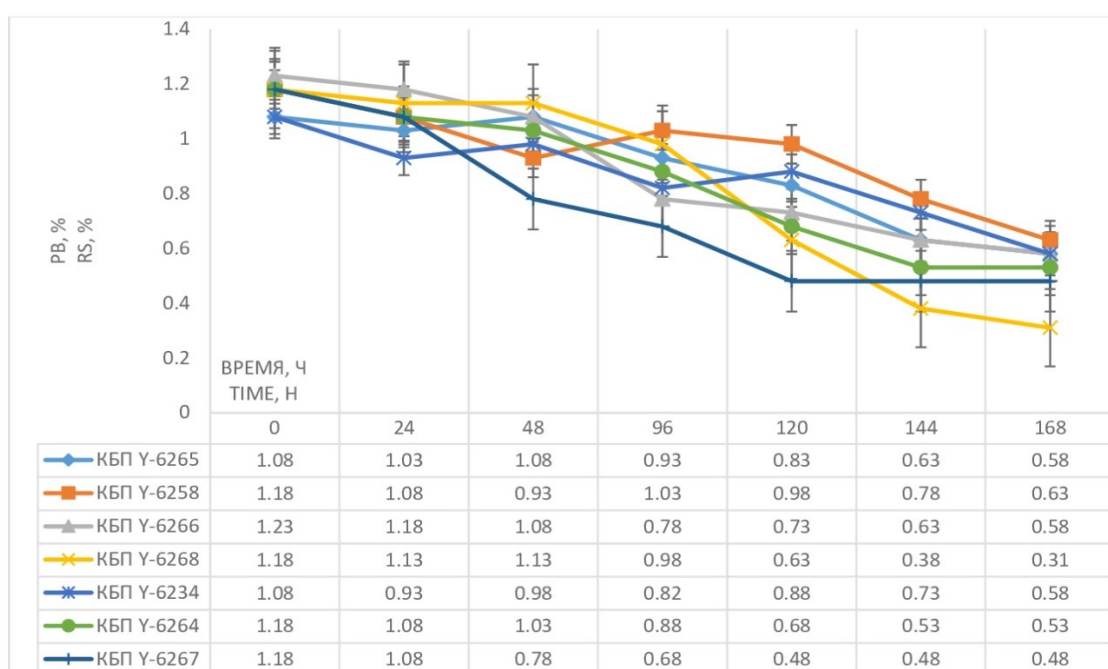


Рисунок 5. Изменение содержания редуцирующих веществ в питательной среде при культивировании дрожжей *Lipomyces* при температуре 25 °C

Figure 5. The change in the content of reducing substances in the substratum during the cultivation of *Lipomyces* yeast at a temperature of 25 °C

Штаммам КБП Y-6267 и КБП Y-6265, имеющим наибольший прирост клеток, характерны относительно невысокие значения ферментативной активности (таблица 4). При этом штамму КБП

Y-6258, имеющему наименьший прирост клеток, свойственно высокое значение ксиланазной, целлобиазной и целлюлазной активности.

Таблица 4.

Ферментативная активность дрожжей *Lipomyces* при 25 °C

Table 4.

Enzymatic activity of the yeast *Lipomyces* at 25 °C

	Штаммы Strains						
	КБП Y-6265	КБП Y-6258	КБП Y-6266	КБП Y-6268	КБП Y-6234	КБП Y-6264	КБП Y-6267
Ксиланазная, IU/mL Xylanase, IU/mL	0,028±0,002	0,093±0,009	0,028±0,006	0,039±0,004	0,052±0,006	0,032±0,003	0,032±0,004
Целлюлазная, FPU/mL Cellulase, FPU/mL	0,084±0,008	0,120±0,006	0,084±0,004	0,320±0,004	0,093±0,006	0,028±0,006	0,056±0,006
Целлобиазная, FPU/mL Cellobiase, FPU/mL	0,056±0,005	0,280±0,045	0,032±0,004	0,180±0,020	0,032±0,004	0,032±0,004	0,032±0,004

Р 95

Культивирование при 30 °C.

Прирост численности клеток практически у всех штаммов за исключением КБП Y-6264 начинается примерно с 48-го ч культивирования. Численность клеток штамма КБП Y-6264 начинает расти с самого начала культивирования и достигает пика на 72-м ч культивирования, после чего их численность резко снижается и становится близкой к значениям численности клеток остальных штаммов к 144-му ч

культивирования. Численность клеток КБП Y-6234 изменяется незначительно в течение всего исследуемого периода культивирования при данных условиях (рисунок 6).

Наибольшее значение удельной скорости роста и наименьшее время генерации также отмечено у штамма КБП Y-6264, однако наибольший прирост биомассы характерен для штамма КБП Y-6265 (таблица 5).

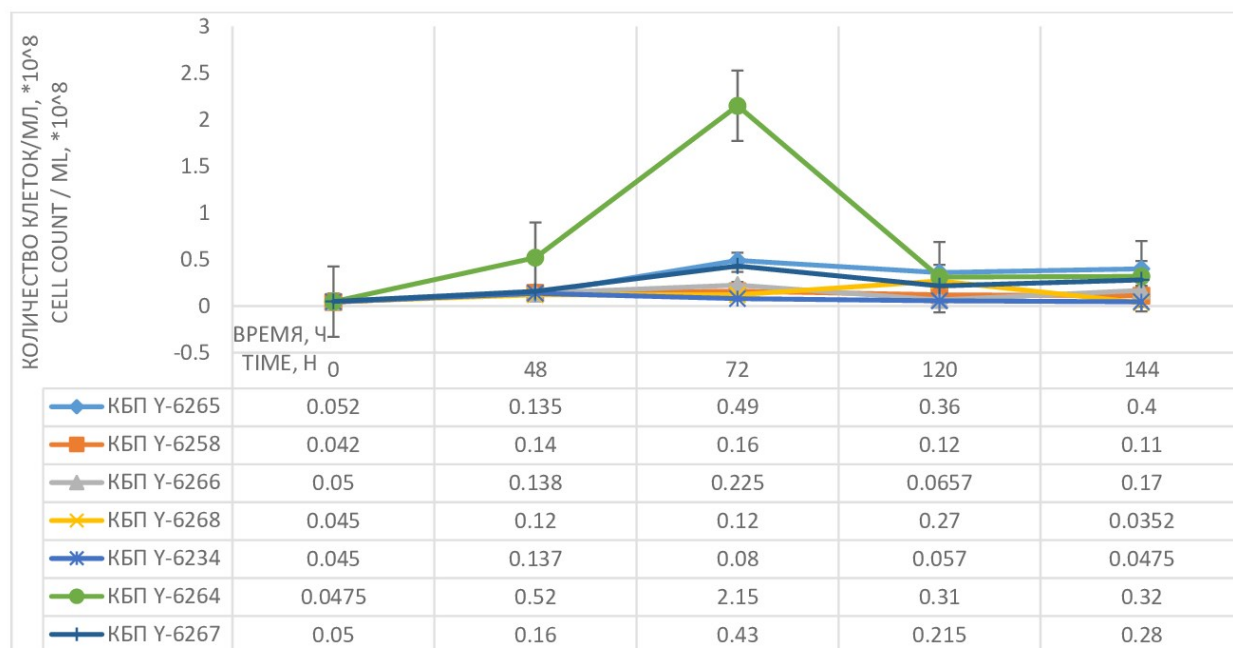


Рисунок 6. Влияние продолжительности культивирования на изменение количества клеток штаммов дрожжей *Lipomyces* при 30 °C

Figure 6. The effect of the duration of cultivation on the change in the number of cells of the yeast *Lipomyces* strains at 30 °C

Таблица 5.

Кинетические характеристики роста и выход биомассы при 30 °C

Table 5.

Kinetic characteristics of growth and biomass yield at 30 °C

Показатели Indicators	Штаммы Strains						
	КБП Y-6265	КБП Y-6258	КБП Y-6266	КБП Y-6268	КБП Y-6234	КБП Y-6264	КБП Y-6267
Удельная скорость роста, ч ⁻¹ Specific growth rate, h ⁻¹	0,054±0,004	0,040±0,007	0,034±0,005	0,054±0,005	0,040±0,003	0,195±0,015	0,128±0,003
Время генерации, ч Generation time, h	18,610±0,115	24,400±0,299	29,490±0,131	18,290±0,153	24,670±0,457	5,100±0,167	7,770±0,167
Выход биомассы, % Biomass yield, %	33,330±0,265	5,140±0,056	10,000±0,707	3,200±0,050	6,780±0,148	20,780±0,324	24,560±0,667

P 95

Наибольшее потребление РВ питательной среды на 144-м ч культивирования характерно для штаммов КБП Y-6258, КБП Y-6266. Наибольшая остаточная концентрация РВ питательной среды характерна для штамма КБП

Y-6234. Штаммы КБП Y-6265, КБП Y-6268, КБП Y-6264 и КБП Y-6267 по степени потребления РВ питательной среды занимают промежуточное положение (рисунок 7).

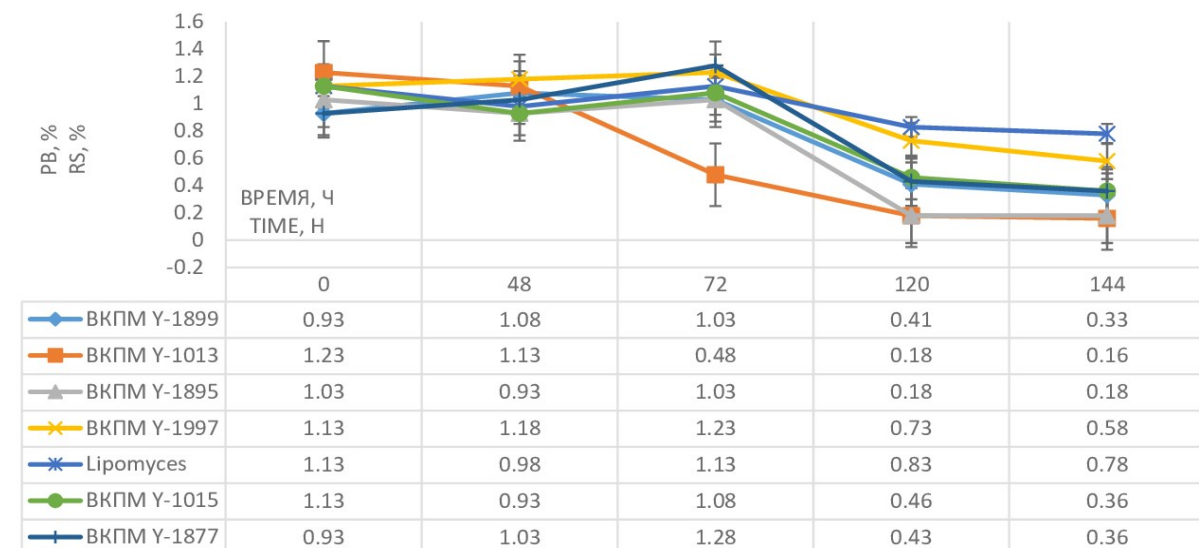


Рисунок 7. Изменение содержания редуцирующих веществ в питательной среде при культивировании дрожжей *Lipomyces* при температуре 30 °C

Figure 7. The change in the content of reducing substances in the substratum during the cultivation of *Lipomyces* yeast at a temperature of 30 °C

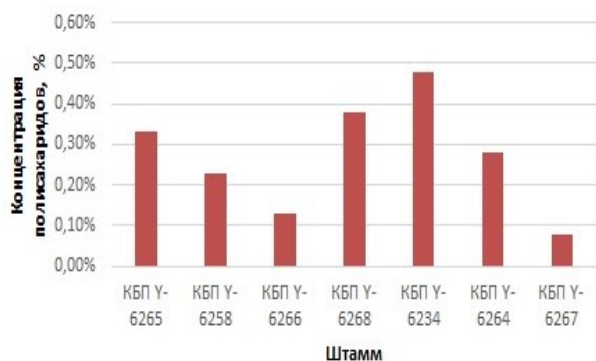


Рисунок 8. Концентрация внеклеточных полисахаридов при синтезе различными штаммами при 30 °C

Figure 8. Concentration of extracellular polysaccharides in the synthesis of different strains at 30 °C

Штамм КБП Y-6234 имеет наибольшую концентрацию внеклеточного полисахарида, несмотря на наименьший прирост численности клеток (рисунок 8). Также заметные концентрации внеклеточного полисахарида имеют штаммы КБП Y-6268, КБП Y-6265 и КБП Y-6264.

Штаммам КБП Y-6234 и КБП Y-6268, имеющим наибольшие концентрации внеклеточного полисахарида, свойственны наибольшие значения ксиланазной и целлюлазной активности, тогда как штаммам КБП Y-6264 и КБП Y-6265, имеющим наибольший прирост клеток и среднюю концентрацию полисахарида, характерны низкие значения ксиланазной и целлюлазной активности (таблица 6).

Таблица 6.

Ферментативная активность дрожжей *Lipomyces* при 30 °C

Table 6.

Enzymatic activity of the yeast *Lipomyces* at 30 °C

	Штаммы Strains						
	КБП Y-6265	КБП Y-6258	КБП Y-6266	КБП Y-6268	КБП Y-6234	КБП Y-6264	КБП Y-6267
Ксиланазная, IU/mL Xylanase, IU/mL	0,013±0,003	0,013±0,002	0,013±0,002	0,039±0,005	0,065±0,012	0,013±0,002	0,013±0,002
Целлюлазная, FPU/mL Cellulase, FPU/mL	0,018±0,002	0,046±0,003	0,028±0,006	0,100±0,010	0,240±0,011	0,074±0,005	0,074±0,006
Целлобиазная, FPU/mL Cellobiase, FPU/mL	0,018±0,002	0,018±0,002	0,018±0,002	0,180±0,020	0,120±0,006	0,018±0,002	0,018±0,002

P 95

Закключение

С точки зрения прироста биомассы на представленной питательной среде при исследуемых температурах наибольшее внимание привлекают штаммы дрожжей *Lipomyces* КБП Y-6267 и КБП Y-6265 (эффективный прирост при пониженных температурах). С повышением

температуры прирост биомассы у этих дрожжей заметно снижается.

В качестве продуцентов внеклеточного полисахарида стоит отметить штаммы КБП Y-6267 и КБП Y-6264 при 20 °C и штаммы КБП Y-6268 и КБП Y-6234 при 30 °C, что указывает на возможность использования для этих целей разных видов рода *Lipomyces*.

При 30 °C штаммы *Lipomyces lipofer* КБП Y-6268 и *Lipomyces kononenkoae* КБП Y-6234 обладали наибольшими активностями ферментов,

тем не менее, зависимости между активностями ферментов, приростами биомассы и выходами полисахарида при пониженных температурах отмечено не было.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Singh R.S., Saini G.K., Kennedy J.F. Pullulan: Microbial sources, production and applications // Carbohydrate Polymers. 2008. V. 73. P. 515–531. doi: 10.1016/j.carbpol.2008.01.003
- 2 Holck P., Sletmoen M., Stokke B.T., Permin H. et al. Potentiation of histamine release by microfungi (1–3) and (1–6) – beta-D-glucans // Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2007. V. 101. № 6. P. 455–458. doi: 10.1111/j.1742-7843.2007.00140.x
- 3 Ghoneum M., Wang L., Agrawal S., Gollapudi S. Yeast therapy for the treatment of breast cancer: a nude mice model // In Vivo. 2007. V. 21. P. 251–258.
- 4 Yeast Biotechnology: Diversity and Applications; ed. T. Satyanarayana, G. Kunze. Springer, 2009. 746 p.
- 5 Oguri E., Masaki K., Naganuma T., Iefuji H. Phylogenetic and biochemical characterization of the oil-producing yeast *Lipomyces starkeyi* // Antonie van Leeuwenhoek. 2012. V. 101. № 2. P. 359–368. doi: 10.1007/s10482-011-9641-7
- 6 Freitas F., Alves V.D., Reis M.A. Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications // Trends in Biotechnology. 2011. P. 388–398. doi: 10.1016/j.tibtech.2011.03.008
- 7 Liu H., Zhao X., Wang F., Jiang X. et al. The proteome analysis of oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi*. // FEMS Yeast Research. 2011. V. 11. № 1. P. 42–51. doi:10.1111/j. 1567-1364.2010.00687.x
- 8 Глушакова А.М., Качалкин А.В., Чернов И.Ю. Почвенные дрожжевые сообщества в условиях агрессивной инвазии борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi*) // Почвоведение. 2015. № 2. С. 221–227.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Инназар А. Хусайнов ассистент, кафедра пищевой инженерии малых предприятий, Казанский национальный исследовательский технологический университет, ул. Карла Маркса, 68, г. Казань, 420015, Россия, fortes16@yandex.ru
Евгений Р. Якубов студент, кафедра пищевой инженерии малых предприятий, Казанский национальный исследовательский технологический университет, Россия, ул. Карла Маркса, 68, г. Казань, 420015, Россия, rescaclofe@gmail.com
Зосья А. Канарская к.т.н., доцент, кафедра пищевой биотехнологии, Казанский национальный исследовательский технологический университет, ул. Карла Маркса, 68, г. Казань, 420015, Россия, zosya_kanarskaya@mail.ru
Альберт В. Канарский д.т.н., профессор, кафедра пищевой биотехнологии, Казанский национальный исследовательский технологический университет, ул. Карла Маркса, 68, г. Казань, 420015, Россия, alb46@mail.ru
Ирина А. Максимова к.б.н., н.с., кафедра биологии почв, Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Ленинские горы, 1, г. Москва, 119991, Россия, maximova.irina@gmail.com
Алексей В. Качалкин к.б.н., в.н.с., кафедра биологии почв, Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Ленинские горы, 1, г. Москва, 119991, Россия, kachalkin_a@mail.ru

КРИТЕРИЙ АВТОРСТВА

Все авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут ответственность за плагиат

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ПОСТУПИЛА 01.09.2018

ПРИНЯТА В ПЕЧАТЬ 16.11.2018

REFERENCES

- 1 Singh R.S., Saini G.K., Kennedy J.F. Pullulan: Microbial sources, production and applications. Carbohydrate Polymers. 2008. vol. 73. pp. 515–531. doi: 10.1016/j.carbpol.2008.01.003
- 2 Holck P., Sletmoen M., Stokke B.T., Permin H. et al. Potentiation of histamine release by microfungi (1–3) and (1–6) – beta-D-glucans. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2007. vol. 101. no. 6. pp. 455–458. doi: 10.1111/j.1742-7843.2007.00140.x
- 3 Ghoneum M., Wang L., Agrawal S., Gollapudi S. Yeast therapy for the treatment of breast cancer: a nude mice model. In Vivo. 2007. vol. 21. pp. 251–258.
- 4 Yeast Biotechnology: Diversity and Applications; ed. T. Satyanarayana, G. Kunze. Springer, 2009. 746 p.
- 5 Oguri E., Masaki K., Naganuma T., Iefuji H. Phylogenetic and biochemical characterization of the oil-producing yeast *Lipomyces starkeyi*. Antonie van Leeuwenhoek. 2012. vol. 101. no. 2. pp. 359–368. doi: 10.1007/s10482-011-9641-7
- 6 Freitas F., Alves V.D., Reis M.A. Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications. Trends in Biotechnology. 2011. pp. 388–398. doi: 10.1016/j.tibtech.2011.03.008
- 7 Liu H., Zhao X., Wang F., Jiang X. et al. The proteome analysis of oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi*. FEMS Yeast Research. 2011. vol. 11. no. 1. pp. 42–51. doi:10.1111/j. 1567-1364.2010.00687.x
- 8 Glushakova A.M., Kachalkin A.V., Chernov I.Y. Soil yeast communities in the context of aggressive invasion of the borshevik Sosnovsky (*Heracleum sosnowskyi*). Pochvovedenie [Soil science]. 2015. no. 2. pp. 221–227. (in Russian).

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Innazar A. Khusainov assistant, department of food engineering small enterprises, Kazan National Research Technological University, Karl Marx str., 68, Kazan, 420015, Russia, fortes16@yandex.ru

Evgeniy R. Yakubov student, department of food engineering small enterprises, Kazan National Research Technological University, Karl Marx str., 68, Kazan, 420015, Russia, rescaclofe@gmail.com

Zosya A. Kanarskaya Cand. Sci. (Engin.), associate professor, department of food biotechnology, Kazan National Research Technological University, Karl Marx str., 68, Kazan, 420015, Russia, zosya_kanarskaya@mail.ru

Albert V. Kanarskiy Dr. Sci. (Engin.), professor, department of food biotechnology, Kazan National Research Technological University, Karl Marx str., 68, Kazan, 420015, Russia, alb46@mail.ru

Irina A. Maximova Cand. Sci. (Biol.), researcher, department of soil biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, 1, Moscow, 119991, Russia, maximova.irina@gmail.com

Aleksey V. Kachalkin Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, department of soil biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, 1, Moscow, 119991, Russia, kachalkin_a@mail.ru

CONTRIBUTION

All authors equally participated in the writing of the manuscript and are responsible for plagiarism

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

RECEIVED 9.1.2018

ACCEPTED 11.16.2018