

BİOLOGİYA**ИЗУЧЕНИЕ ВНУТРИПОПУЛЯЦИОННЫХ МОРФО-КУЛЬТУРАЛЬНЫХ
ИЗМЕНЕНИЙ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ, ХРАНИВШИХСЯ
В КОЛЛЕКЦИИ КУЛЬТУР****Х.Г. ГАНБАРОВ, С.М. АБДУЛГАМИДОВА**
Бакинский Государственный Университет

Были изучены морфо-культуральные признаки дрожжевых грибов после хранения 3-х и 6 месяцев на солодовом агаре при температуре 4-6⁰С. Установлено, что культуры хранившиеся более 3-х месяцев, подвергаются спонтанной изменчивости. Отсюда следует, что для сохранения стабильности исследуемых культур надо периодически через каждые 3 месяца пересеивать их на свежую среду или же использовать другие методы хранения на длительные сроки.

Длительное сохранение различных биологических объектов, в том числе и культур микроорганизмов, является актуальной и весьма сложной задачей биологии в целом и микробиологии в частности. Традиционные методы поддержания культур микроорганизмов сводятся к их выращиванию на богатых питательных средах с частными посевами. При этом имеют место спонтанной изменчивости, что часто приводит к потере у штаммов важных физиолого-биохимических свойств. Процесс расщепления популяции на морфолого-физиологические варианты различного типа наблюдается у большинства микроорганизмов (3).

Следует отметить, что спонтанная изменчивость имеет два направления действия. С одной стороны, она может привести к утрате ценных свойств и дегенерации штамма, а с другой - может обеспечить возможность отбора из популяции более активных вариантов (4,5). Поэтому очевидна возможность исследований спонтанной изменчивости дрожжей для выведения наиболее активных и жизнеспособных вариантов при длительном хранении данной популяции.

Целью настоящей работы является изучение спонтанной изменчивости морфо-культуральных признаков дрожжей после хранения 3-х и 6 месяцев в коллекции культур.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали 13 штаммов дрожжей, хранившихся в коллекции кафедры микробиологии БГУ: *Candida pseudotropicalis* штаммы АК9, АК4, МА88, ГА16, КД19 и КН12, *Candida kefir* штаммы ДА13 и ВД2, *Candida macedoniensis* штамм МІ44, *Candida tropicalis* штамм ЛК30, *Bretanomis intermedius* штаммы ДЖ80 и СА17, *Candida* sp. штамм КТ55.

Популяционный состав дрожжевых грибов изучали после 3-х и 6 месяцев хранения на агаризованной среде- солодовое сусло (7⁰ Баллинг) при температуре 4-6⁰С. В качестве контроля служили культуры дрожжей, хранившихся не более одного месяца при тех же условиях (5).

Определение форм и размера клеток исследуемых культур осуществляли путем просмотра под микроскопом препарата- «раздавленная капля», приготовленную из суспензии клеток дрожжей, взятых непосредственно после хранения в коллекции (2).

Культуральные особенности характеризовали на 4 сутки роста на агаризованной среде сусло (2).

Интенсивность роста штаммов дрожжей определяли с помощью ростового коэффициента (1).

Все опыты проводили в 5-кратной повторности.

Результаты и обсуждение

При изучении морфологических признаков дрожжевых грибов, непосредственно после хранения 3-х месяца, наблюдаются изменения форм и размеров клеток исследуемых культур. Яйцевидная форма клеток дрожжей видоизменилась на овальную. Несмотря на это, размеры клеток существенно не изменились. Хотя у штаммов *C. pseudotropicalis* АК9и АК4 наблюдалось небольшое уменьшение, а у штаммов *Bretanomisus intermedius* DJ80 и SA17, наоборот, наблюдалось небольшое увеличение размеров клеток (табл.1).

Таблица 1

Изучения морфологических признаков дрожжевых грибов после хранения в коллекции

Название вида и штамма	Форма клеток			Размеры клеток (мкм)		
	контроль	3 месяца	6 месяцев	контроль	3 месяца	6 месяцев
<i>Candida pseudotropicalis</i>						
АК 9	яйцев	овал	овал	2 x 4	2 x 2.4	1.5 x 2
АК 4	яйцев	овал	овал	2 x 4	2 x 2.4	2 x 4
МА 88	яйцев	овал	овал	4 x 6	4 x 4.5	1.5 x 2
GA16	яйцев	овал	овал	4 x 6	5.5 x 6	1.5 x 2
KD19	яйцев	овал	яйцев	4 x 6	4 x 4.5	1.5 x 2.5
КН 12	яйцев	овал	овал	4 x 6	4 x 4.5	1.5 x 2
<i>C.kefir</i>						
DA13	яйцев	овал	овал	4 x 6	4 x 4.5	1.5 x 2
BD 2	яйцев	овал	яйцев	4 x 6	4 x 4.5	1.5 x 2.5
<i>C.macedoniensis</i>						
MD 44	яйцев	овал	яйцев	4 x 6	5.5 x 6	2 x 4
<i>C.tropicalis</i>						
LK 30	яйцев	овал	яйцев	4 x 6	4 x 4.5	2 x 4
<i>Bretanosvises intermedius</i>						
DJ 80	яйцев	овал	овал	2 x 4	4 x 4.5	1.5 x 2
SA 17	яйцев	овал	овал	2 x 4	4 x 4.5	1.5 x 2
<i>Candida sp.</i>						
КТ 55	яйцев	овал	овал	4 x 6	4 x 4.5	1.5 x 2

Иная картина наблюдается с культурами, хранившихся 6 месяцев. Почти у всех штаммов, за исключением: *C. pseudotropicalis* АК4, наблюдалось уменьше-

ние размеров клеток. Следует отметить, что большинство дрожжевых клеток по сравнению с контролем приобретали овальную форму, а у 4-х штаммов *C. pseudotropicalis* KD19, *C. kefir* BD2, *C. macedoniensis* MI44, *C. tropicalis* LK30 сохранили яйцевидную форму (табл.1).

Следовательно, после 3-х месяцев хранения все штаммы приобрели овальную форму, которая сохранялась и после 6 месяцев хранения, за исключением 4-х штаммов, у которых наблюдалось возвращение к исходной форме. Размеры клеток после 3-х месяцев хранения почти не изменились, а после 6 месяцев – существенно уменьшились.

По культуральным признакам исследуемые культуры подразделялись на 4 группы (табл.2). К первой группе относились штаммы *Candida pseudotropicalis* AK9, AK4 и KD19, *Candida kefir* BD2, *Candida macedoniensis* MI44. Ко второй группе - *Candida kefir* штамм DA13, к третьей - *Candida pseudotropicalis* штамм MA88, *Bretanomises intermedius* штаммы DJ80 и SA17, к четвертой - *Candida pseudotropicalis* штаммы GA16 и KH12, *Candida sp.* штамм KT55.

Таблица 2

Культуральные признаки дрожжевых грибов после хранения в коллекции

Срок хранения	Культуральные признаки			
	Круглая форма с фестончатым краем, шероховатой поверхностью, вогнутая и края волнистые	Круглая с фестончатым краем, гладкая поверхность, выпуклая и края гладкие	Круглая с валиком по краю, шероховатая поверхность, вогнутая и края волнистые	Круглая с валиком по краю, гладкая поверхность, выпуклая и края гладкие
Контроль	<i>C. tropicalis</i> LK30 <i>C. pseudotropicalis</i> AK9, AK4, KD19 <i>C. kefir</i> BD2 <i>C. macedoniensis</i> MI44	<i>C. kefir</i> DA13	<i>Bret. intermedius</i> DJ80, SA17 <i>C. pseudotropicalis</i> MA88	<i>C. pseudotropicalis</i> GA16, KH12 <i>Candida sp.</i> KT55
3 месяца	<i>C. tropicalis</i> LK30 <i>C. pseudotropicalis</i> AK9, AK4, KD19 <i>C. kefir</i> BD2 <i>C. macedoniensis</i> MI44	<i>C. kefir</i> DA13	<i>Bret. intermedius</i> DJ80, SA17 <i>C. pseudotropicalis</i> MA88	<i>C. pseudotropicalis</i> GA16 <i>Candida sp.</i> KT55
6 месяцев		<i>C. kefir</i> DA13 <i>Bret. intermedius</i> DJ80, SA17 <i>C. pseudotropicalis</i> MA88		<i>C. tropicalis</i> LK30 <i>C. pseudotropicalis</i> AK9, AK4, KD19, GA16, KH12 <i>C. kefir</i> BD2 <i>C. macedoniensis</i> MI44 <i>Candida sp.</i> KT55

После хранения в коллекции в течение 3-х месяцев не наблюдалось изменений культурных признаков, за исключением *C. pseudotropicalis* KH12, у которого гладкая поверхность изменилась на шероховатую, выпуклость посередине - на вогнутость, гладкие края – на волнистую (табл.2).

После 6 месяцев хранения у большинства культур наблюдалось изменение культуральных признаков. Так, у I группы штаммов *C.tropicalis* *C.pseudotropicalis* AK9, AK4, KD19, *C.kefir* BD2 и *C.macedoniensis* MI44 колонии с круглой формой с фестончатым краем, шероховатой поверхностью, вогнутой посередине и волнистыми краями превратились в колонии с валиком по краю, гладкой поверхностью, а у штаммов III группы *C.pseudotropicalis* MA88, *Bret.intermedius* DJ80 и SA17 колонии с круглым валиком по краю, шероховатой поверхностью, вогнутой посередине и волнистым краем превратились в колонии круглой с фестончатым краем, гладкой поверхностью, выпуклой посередине и гладким краем (табл.2).

Следовательно, колонии I группы превратились в колонии IV группы, а колонии III группы – во вторую группу. Колонии некоторых штаммов: *C.kefir* DA13, *C.pseudotropicalis* GA16, KH12 и *Candida* sp.штамм KT55, проявляя стабильность, не менялись после 6 месяцев хранения.

После 3-х месяцев хранения коэффициент роста у большинства штаммов увеличивался в разной степени. Так у *C.tropicalis* штамм LK30 наблюдалось увеличение в 4,2 раза, у *C.pseudotropicalis* штаммы AK9, AK4, KD19 и KH12 в 1,6; 4,7; 6,4 и 2,3 раза, соответственно, у *Bret.intermedius* штаммы DJ80, SA17 и *Candida* sp. штамм KT55-2,4; 5,5 и 1,3 раза, соответственно (табл.3). У некоторых штаммов, например *C.pseudotropicalis* MA88, GA16 и *C.kefir* DA 13 наблюдалось незначительное в 1,3 раза уменьшение коэффициента роста. Только *C.kefir* штамм BD2 и *C.macedoniensis* MI44 ростовой коэффициент не изменился.

Таблица 3

Ростовой коэффициент дрожжевых грибов после хранения в коллекции

Название вида и штамма	Контроль	3 месяца хранения	6 месяцев хранения
<i>C.pseudotropicalis</i> :AK9	5,5	9	8
AK4	3,4	16	8
MA88	10,5	8	5
GA16	20	15	5
KD19	5,6	35,6	10
KH12	6,75	15,7	0,25
<i>C.kefir</i> : DA13	12,5	9,4	0,75
BD2	17,25	17,25	0,7
<i>C.tropicalis</i> LK30	3,25	13,5	2,25
<i>C.macedoniensis</i> MI44	4,5	4,5	1,5
<i>Bret.intermedius</i> : DJ80	7,5	18	2,25
SA17	3,25	18	4
<i>Candida</i> sp. KT55	15	20	3

После 6 месяцев хранения у 8 штаммов: *C.pseudotropicalis* MA88, GA16, KH12, *C.kefir* DA13 и BD2, *C.macedoniensis*MI44, *Bret.intermedius* DJ80 и SA17 наблюдалось уменьшение ростового коэффициента в 2,1; 4; 27; 16,7; 24,6; 3; 3,3 и 5 раза, соответственно, по сравнению с контролем (табл.3). Однако у некоторых штаммов: *C.pseudotropicalis* AK9, AK4, KD19, *Bret.intermedius* SA17 наблюдалось небольшое увеличение биомассы по сравнению с контролем. Следовательно, в целом РК штаммов в процессе хранения в коллекции резко падает, хо-

тя после 3-х месяцев хранения у большинства штаммов наблюдается увеличение ростового коэффициента.

Анализ результатов изучения морфо-культуральных признаков дрожжевых грибов после хранения 3-х месяцев позволил констатировать тот факт, что почти все или же большая часть исследуемых культур сохраняют свои свойства и при этом коэффициент роста возрастает. Однако после 6 месяцев хранения наблюдается обратная картина, т.е. культурально-морфологические признаки у большинства штаммов меняются и коэффициент роста падает.

Таким образом, при длительном хранении дрожжевых грибов используемым методом, морфо-культуральные свойства исследуемых культур более 3-х месяцев хранения подвергаются спонтанной изменчивости и тем самым расщеплению популяции с образованием новых форм. Поэтому для сохранения свойств изучаемых дрожжей надо периодически через каждые 3 месяца пересевать их на богатые питательные среды или же использовать другие методы хранения на длительные сроки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ганбаров Х.Г., Сулейманова Г.Ч. Способ определения роста бактерий и дрожжей по ростовому коэффициенту при их выращивании на плотных питательных средах. // Вестник Бакинского Государственного Университета, серия биологических наук 2001, №2, стр.44-48.
2. Егорова Н.С. Практикум по микробиологии. Изд.: МГУ, 1976, 301 с.
3. Мацкевич Н.В. Спонтанная изменчивость и кариология несовершенных грибов. М.: Наука, 1981, 184 с.
4. Михайлова Р.В., Семашко Т.В., Лобанок А.Т., Осока О.М. Спонтанная изменчивость *Penicillium feniculosum* (шт. БИМФ15)-продуцента глюкозооксидазы. // Микология и фитопатология 2001, т.35, вып.3, стр.73-79.
5. Филиппова С.М., Кузнецов В.Ю., Бадяутдинов Д.Н., Рысков А.П., Васильев В.А., Даниленко В.Н. Изучение внутривидовой спонтанной изменчивости морфологических вариантов *Streptomyces oligocarophilus* ISP5589. // Микробиология, 1999, т.68, №3, с.375-382.

KOLLEKSIYADA SAXLANILMIŞ MAYA GÖBƏLƏKLƏRİNİN POPULYASIYA DAXİLİ MÖRFÖ-KULTURAL DƏYİŞİKLİKLƏRİNİN ÖYRƏNİLMƏSİ

X.Q.QƏNBƏROV, S.M.ƏBDÜLHƏMİDOVA

XÜLASƏ

3-6 ay müddətində səmənili aqarda 4-6^o C temperaturda saxlanılmış maya göbələklərinin morfo-kultural xüsusiyyətləri öyrənilmişdir. Aparılan tədqiqata əsasən demək olar ki, 3 aydan artıq kolleksiyada saxlanılmış kulturalar spontan dəyişikliyə uğrayır.

Buradan belə nəticəyə gəlinir ki, tədqiq olunan kulturaların sabitliyinin qorunması üçün onların hər 3 aydan bir təzə qidalı mühütə köçürmək və ya digər saxlama üsullarından istifadə etmək lazımdır.

**INVESTIGATION INSIDE POPULATION MORFO-CULTURAL VARIATIONS
AT THE SFORAGE OF CULTURE COLLECTION**

X.Q.QANBAROV, S.M.ABDULQAMIDOVA

SUMMARY

After 3 and 6 morths storage of yeasts on wort-agar at temperature 4-6⁰C has been investigated the morphological and cultural properties.It was found, that the cultures while keeping in collection, been exposed to spontaneous variability and showed splitting population with formation new forms. From here follow, that preservation of stability invertigation of cultures necessity batch cultivation after each three morth on fresh medium or use other methods on the long period of storage.