

Последние десятилетия характеризуются возрастанием интереса применения биотехнологий во многих сферах деятельности человека. Среди разнообразия микроорганизмов, используемых в биотехнологической промышленности, привлекают внимания дрожжи. Рассматривая дрожжи как объект биотехнологии, следует отметить их условную патогенность для организма человека и животных, окружающей среды и «технологичность» - высокую скорость роста на широком спектре доступных для усвоения субстратах. Метаболический потенциал дрожжей не ниже, чем у других микроорганизмов, а ряд физиологических отличий, например, устойчивость к неблагоприятным факторам, имеет прикладной аспект. Дрожжи широко распространены в различных экологических нишах. Изучение дрожжей является перспективным направлением в биотехнологии. На протяжении всей истории человечества известно широкое практическое применение дрожжей. Они используются в бродильных производствах для изготовления алкогольных напитков и хлеба, являются моделью для физиологических, молекулярных и генетических исследований, используются как продуценты многих важных для человека соединений – витаминов, липидов, нуклеиновых кислот, ферментов, органических кислот, спиртов, полисахаридов [1]. Широко используются дрожжевые культуры в биоремедиационных технологиях, очистки окружающей среды от ксенобиотиков [2, 3, 4, 5, 6]. Некоторые виды дрожжей используются в качестве агентов биоконтроля развития фитопатогенных микроорганизмов, выделяя вещества, подавляющие их рост [7, 8]. Дрожжи способны к биоадсорбции и биоаккумуляции тяжелых металлов с последующим образованием малотоксичных соединений [9, 10, 11]. Известно о способности дрожжей метаболизировать микотоксины и, соответственно, снижать их токсическое воздействие на организм [12, 13, 14, 15, 16]. В последнее десятилетие в нашей стране резко обострилась проблема микотоксикозов животных, представляющих собой чрезвычайно высокую экологическую и экономическую опасность. При скармливании животным кормов, загрязненных микотоксинами, регистрируются отдаленные последствия, снижение продуктивности, повышение заболеваемости и массовая гибель животных [17]. Проблема лечения и профилактики отравлений животных, вызываемых микотоксинами, остается весьма актуальной в ветеринарной токсикологии. Средства специфической профилактики и лечения, микотоксикозов до настоящего времени не разработаны. Наиболее распространенный метод защиты животных от микотоксинов – применение адсорбентов различного происхождения. Наиболее совершенным адсорбентом микотоксинов, на наш взгляд, может стать клеточная стенка дрожжей. Клеточная стенка дрожжей составляет около 25 % сухой массы клетки. Полисахариды клеточной стенки (маннаны, глюкоманнаны) относятся к неперевариваемым. β - (1, 6) - глюканы дрожжей являются рецепторами киллер-

токсинов, играющих, как известно, важную роль во взаимоотношениях между микроорганизмами [14, 18, 19, 20, 21]. Дрожжи характеризуются устойчивостью к микотоксинам, что предопределяет возможность их использования для детоксикации организма животных. Учитывая перспективность применения дрожжей в качестве адсорбентов, следует отметить и необходимость совершенствования их технологии производства, направленную на прежде всего повышение выхода дрожжей и, соответственно, снижение их себестоимости. В биотехнологическом производстве стоимость сырья, входящего в состав питательных сред, доходит до 40 % от себестоимости продукта. В этой связи возникает необходимость увеличения выхода биомассы дрожжей, используемых в качестве адсорбентов микотоксинов, и, соответственно, снижения затрат на решение проблем с микотоксикозом животных. Увеличение биомассы микроорганизмов наблюдается при совместном культивировании нескольких микроорганизмов. Выраженный эффект, в частности, отмечается у комплексных пробиотических препаратов, в которых бактериальные культуры дополняют друг друга по спектру антагонистического действия и по механизму влияния на макроорганизм [22]. Антагонистические свойства бактерий при межмикробных отношениях, в частности, в микросимбиозе, между доминантными и ассоциативными микроорганизмами, недостаточно охарактеризованы. Активация автолитических ферментов антагониста может стимулировать действие пептидогликанов бактерий-регуляторов [23]. На основе этих данных возможна разработка способов: отбора бактериальных препаратов с целью создания новых синбиотиков. Показано ускорение роста *Saccharomyces cerevisiae* при совместном культивировании с *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii*. При этом, в зависимости от соотношения клеток в инокуляте отмечалось положительное, отрицательное и нейтральное влияние симбиоза на рост клеток. Стимулирующий эффект роста дрожжей, возможно, вызван воздействием специфических факторов, неспецифических экзометаболических (витамины, аминокислоты и т.п.), выделяемых в среду пропионовыми бактериями [24]. Следует ожидать, что совместное культивирование не снизит адсорбционной способности биомассы дрожжей и бактерий. Ранее было показано, что бактерии обладают достаточно высокой адсорбционной способностью по отношению к микотоксинам [18, 19, 20, 21, 25]. Целью данной работы - оценка адсорбирующей активности инактивированных дрожжей в отношении Т - 2 токсина и изучение влияния совместного культивирования *Saccharomyces cerevisiae* - 11 с *Issatchenkia orientalis* - 96 на выход биомассы. Материалы и методы Объектом исследования являлись различные таксономические группы дрожжей: *Saccharomyces cerevisiae* - 11, *Issatchenkia orientalis* - 96, *Candida tropicalis* - 99, *Candida pseudotropicalis* 44 пк, *Pichia jadinii* - 2008, *Rhodotorula glutinis* - 2003, *Torulopsis kefir* - 2006 из коллекции штаммов ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». Дрожжи поддерживали в аэробных условиях на агаризованной среде Сабуро,

содержащей (г/л дистиллированной воды): глюкозу – 10.0, пептон – 10.0, дрожжевой экстракт – 5.0, NaCl – 0.25, агар – 20.0. В последующем из питательной среды методом многократных центрифугирований и промывок получали взвесь микробных клеток, которую затем высушивали до влажности 10 - 12 % и в дальнейшем использовали для исследований. Для экспериментальных исследований использовали кристаллический Т - 2 токсин, не отличающийся от существующих стандартов, полученный в лаборатории микотоксинов ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ». Качественное и количественное определение Т - 2 токсина проводили хроматографическими методами (ТСХ и ГЖХ). Т - 2 токсин является одним из наиболее токсичных и достаточно распространённых трихотеценовых микотоксинов типа А. По сравнению с другими микотоксинами, Т - 2 микотоксин относится к наименее адсорбируемым микотоксинам и поэтому результаты опытов с его использованием могут являться критерием оценки адсорбционных свойств адсорбентов микотоксинов [26].

Определение адсорбционной способности адсорбентов *in vitro* при pH = 7 (при температуре 37°C, в течение 30 минут) проводили по методике [27], которая учитывает специфику индикации Т - 2 токсина и прочность связывания. Изучение адсорбции проводили в десяти повторностях, за результат принимали их среднее значение. При разработке способа увеличения выхода дрожжевой биомассы объектами исследования являлись дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*-11 и *Issatchenkia orientalis* - 96. Изоляты *Issatchenkia orientalis* – 96 и *Saccharomyces cerevisiae* - 11 выделены в 1996 и 2011 году сотрудниками «ФЦТРБ-ВНИВИ» из компостных куч. Культуры выращивали на среде следующего состава: пептон - 10 г/л, глюкоза - 20 г/л, pH – 5,6 ± 0,2. Температура культивирования составила 30°C. Культуры *Saccharomyces cerevisiae* - 11 и *Issatchenkia orientalis* вводили в среду одновременно, в соотношении 1 : 1, 2 : 1, 3 : 1, 1 : 2, 1 : 3. Первоначальная посевная доза инокулята составила 6,0 ± 0,01 lg КОЕ/мл. Результаты исследований

Результаты изучения адсорбирующей активности инактивированных дрожжей в отношении Т - 2 токсина представлены в таблице 1. Из приведённых в таблице данных, следует, что все взятые в опытах инактивированные дрожжи обладают в той или иной степени способностью адсорбировать Т – 2 микотоксин. Так более активно связывают Т - 2 микотоксин микробные клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* - 11 (78,8 %), рода *Candida* (62,8 - 72,1 %), менее *Torulopsis kefir* - 2006 (47,9 %). Таблица 1 - Адсорбирующая активность дрожжей в отношении Т - 2 токсина

Исследуемые штаммы	Адсорбция, %	Десорбция, %
<i>Issatchenkia orientalis</i> - 96	70,6	7,6
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> - 11	78,8	5,7
<i>Candida tropicalis</i> - 99	62,8	6,1
<i>Candida pseudotropicalis</i>	44	
пк 72,1	4,6	
<i>Pichia jadinii</i> - 2008	63,7	11,4
<i>Rhodotorula glutinis</i> - 2003	59,3	5,7
<i>Torulopsis kefir</i> - 2006	47,9	0,67

Таким образом, инактивированные дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* - 11, обладают большей эффективностью адсорбции Т - 2 токсина, что позволяет их использовать как адсорбент микотоксинов в виде

кормовой и пищевой добавки для профилактики отравлений микотоксинами. Выращивание в монокультуре показало, что *Saccharomyces cerevisiae* - 11, в отличие от *Issatchenkia orientalis* - 96 быстрее накапливает биомассу. На 72 ч культивирования количество клеток составила $16,0 \pm 1,2$ lg КОЕ/мл. При совместном культивировании дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* - 11 и *Issatchenkia orientalis* - 96 (соотношении клеток *Saccharomyces cerevisiae* - 11 - *Issatchenkia orientalis* - 96 в посевном материале 3:1) отмечен стимулирующий эффект. Активный рост сахаромикета происходил на 12 ч раньше, чем в монокультуре и позволил получить культуральную жидкость с титром $25,1 \pm 2,3$ lg КОЕ/мл. Результаты исследований показали, что совместное культивирование дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* - 11 и *Issatchenkia orientalis* - 96 может быть использовано для интенсификации роста дрожжей и повышения их выхода.