

О МОРФОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВАХ ШТАММА *S. CEREVISIAE* Y-503 В УСЛОВИЯХ ОСМОТИЧЕСКОГО, ТЕМПЕРАТУРНОГО И КИСЛОТНОГО СТРЕССА

© 2019 Э.А. Халилова, Э.А. Исламмагомедова, С.Ц. Котенко,
Р.З. Гасанов, А.А. Абакарова, Д.А. Аливердиева

Прикаспийский институт биологических ресурсов
Дагестанского научного центра РАН, г. Махачкала

Статья поступила в редакцию 04.03.2019

В статье приводятся результаты влияния осмотического, температурного и кислотного стресса на морфолого-культуральные особенности штамма *S. cerevisiae* Y-503, полученного в результате лазерного воздействия. Концентрацию NaCl (5 %, 10 %, 15 %, 20 %) варьировали при различных значениях pH (3,0; 4,5; 7,0; 9,0; 11,0) и температуры (30°C и 37°C). Длительное культивирование штамма Y-503 проводили без предварительной адаптации. Выявлены оптимальные условия для сохранения жизнеспособности клеток культуры в отсутствие NaCl в среде при следующей последовательности значений pH 4,5>pH 3,0>pH 7,0>pH 9,0>pH 11,0 (30°C) и pH 3,0>pH 11,0>pH 7,0>pH 9,0>pH 4,5 (37°C); и с 5 % NaCl при pH 9,0>pH 4,5>pH 7,0>pH 3,0>pH 11,0 (30°C) и pH 7,0>pH 11,0>pH 3,0>pH 9,0>pH 4,5 (37°C). Показано, что при всех факторах стресса повышение температуры приводило к увеличению почкующихся клеток, образованию включений и спор. Результаты исследований могут быть использованы в разработке биотехнологий различного назначения, основанных на использовании устойчивых к экстремальным условиям дрожжей *S. cerevisiae*.

Ключевые слова: гетерозиготный тетраплоид *S. cerevisiae* Y-503; кислотность, температура, NaCl; морфологические и культуральные свойства

ВВЕДЕНИЕ

По современным представлениям дрожжи рода *Saccharomyces* характеризуются хорошо изученным геномом, протеомом и метаболизмом в различных экологических и физиологических условиях, что делает их важной биологической моделью для изучения адаптации к стрессу [1]. Они могут расти в широком диапазоне температур от 0°C до 45°C [2], pH от 2.0 до 7.0 [3], концентраций соли [4]. В ряде работ при изучении действия экстремальных воздействий стрессовые факторы используют по отдельности, создавая

Халилова Эсланда Абдурахмановна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии и биотехнологии. E-mail: eslanda61@mail.ru

Исламмагомедова Эльвира Ахмедовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимии и биотехнологии. E-mail: islammagomedova@mail.ru

Котенко Светлана Цалистиновна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии и биотехнологии. E-mail: kotenco@mail.ru

Гасанов Расул Закирович, младший научный сотрудник лаборатории биохимии и биотехнологии. E-mail: gasanov@bk.ru

Абакарова Аида Алевдиновна, ст. лаборант лаборатории биохимии и биотехнологии. E-mail: aida.abakarva@rambler.ru

Аливердиева Динара Алиевна, кандидат биологических наук, зав. лабораторией биохимии и биотехнологии. E-mail: aliverdieva_d@mail.ru

условия «моностресса». Такой принцип исследований оправдывает себя простотой постановки экспериментов и интерпретации полученных данных. Наиболее изученными являются такие стрессоры, как гипертермия [5], гипо- или гиперосмотическое воздействие [6, 7], окислительный стресс [8, 9], этанол [10] и др.

В экстремальных условиях среды микроорганизмы, как правило, подвергаются влиянию не одного, а нескольких стресс-факторов, действующих одновременно или последовательно. Однако последствия воздействия на метаболизм единичных стресс-факторов могут существенно отличаться от последствий, вызываемых одновременным их воздействием. Наибольшее внимание уделяется таким сочетаниям, как гипертермия и неоптимальные концентрации NaCl [11], осмотические стрессоры и H₂O₂ [12] воздействие ультрафиолетового излучения и углеродное голодание [13] и др. В условиях одновременного воздействия нескольких стресс-факторов между ними может возникать антагонизм, снижающий вредные последствия. Кросспротекторное (перекрестная защита) или антагонистическое взаимодействие стрессоров в настоящее время известно для целого ряда воздействий [14]. Причем, температура является одним из важных факторов, влияющих на микробную активность, скорость роста, окислительный стресс и экспрессию генов антиоксидантных ферментов *S. cerevisiae*.

Размер клетки является важной характеристикой, которая влияет практически на все аспекты клеточной физиологии. В процессе клеточного цикла эукариотных микроорганизмов молекулярные механизмы регулируют деление, рост и контроль размера клеток [15, 16].

Исследуемый нами штамм Y-503 является гетерозиготным тетраплоидом и увеличение копий его генома коррелирует с морфологическими изменениями размеров, формы клеток и колоний; физиологической активностью, устойчивостью к различным воздействиям окружающей среды по сравнению с гаплоидными клетками [17, 18].

Целью настоящего исследования являлось изучение влияния двух (рН, t°C) и нескольких стресс-факторов (рН, NaCl и t°C) на морфологические и культуральные свойства штамма *S. cerevisiae* Y-503 (рис. 1).



Рис. 1. Одновременное воздействие стресс-факторов на гетерозиготный тетраплоид *S. cerevisiae* Y-503

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектами исследований являлся штамм *Saccharomyces cerevisiae* Y-503, гетерозиготный тетраплоид, полученный в результате лазерного воздействия, из коллекции лаборатории биохимии и биотехнологии ПИБР ДНЦ РАН и Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов ФГУП ГосНИИГенетика (Россия) [17]. Принадлежность штамма к таксону *Saccharomyces* показана с помощью молекулярно-генетических методов [18].

Морфолого-культуральные свойства. Морфологию клеток (форма, величина клеток, способ вегетативного размножения) изучали на световом микроскопе CX21 FS1 (Olympus, Япония). Спорообразование дрожжей определяли на стандартной ацетатной среде, г/л: бакто – агар – 20 (Difco, Нидерланды); CH₃COONa – 10 (Вектон, Россия); KCl хч – 5 (Вектон, Россия). Основным критерием для определения морфотипов колоний служила совокупность признаков: формы, пигментации, окраски, поверхности, профиля, края, структуры. Штамм дрожжей выращивался на твердой среде YPD: дрожжевой экстракт – 0,5 % (BD, США), пептон – 0,5 % (BD, США), глюкоза (D-глюкоза) – 2,0 % (Merk, Германия), агар-агар – 2,5 % (Difco, Нидерланды) [19]. Кислот-

ность среды корректировали 1N HCl или 4M KOH (Россия).

Для изучения стрессоустойчивости дрожжей (морфология клеток, гигантские колонии) к концентрациям NaCl (0 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %), рН (3,0; 4,5; 7,0; 9,0; 11,0) и температуре 30°C и 37°C культивирование осуществляли на стандартной среде YPD на чашках Петри в течение двадцати суток.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

I. Исследование влияния величин кислотного (3,0; 4,5; 7,0; 9,0; 11,0), осмотического (5, 10, 15, 20 % NaCl) и температурного (30°C и 37°C) стресс – факторов на морфологические свойства клеток штамма *S. cerevisiae* Y-503 (рис. 2).

Влияние 2 стрессоров (рис. 2,а,б). При 30°C и различных значениях рН клетки штамма *S. cerevisiae* Y-503 приобретали характерные **овально-округлую и округло-овальную формы**, в отдельных случаях присутствовали округлые (рН 3,0), яйцеобразные (рН 4,5; 7,0; 9,0) и овальные (рН 7,0; 11,0) (рис. 2,а). Определены условия, обеспечивающие жизнедеятельность дрожжевой культуры, которые подтвердили ранее полученные результаты [20]. Установлен ряд вариантов, оптимальных для метаболизма клеток, в следующей последовательности: рН 4.5>рН 9.0>рН 11.0>рН 7.0>рН 3.0. Размеры клеток составляли для: **рН 4,5** (9×10 мкм, 8×10 мкм, 5×12 мкм, 9×9 мкм, 8×8 мкм, 7×7 мкм, 6×6 мкм и др.), **рН 9,0** (6×9 мкм, 6×8 мкм, 5×8 мкм, 4×7 мкм, 4×4 мкм, 3×5 мкм, 3×3 мкм и др.), **рН 11,0** (6×8 мкм, 6×7 мкм, 4×7 мкм, 4×5 мкм, 3×8 мкм, 3×5 мкм, 3×3 мкм и др.). Во всех случаях присутствовало достаточное количество мелких клеток. Отличительной особенностью культивирования при 37°C являлось радикальное изменение формы с формированием круглых клеток и несколько меньший размер (6×6 мкм, 5×5 мкм, 4×4 мкм, 3×3 мкм, 2×2 мкм) на среде с **рН 11,0**, по сравнению с 30°C. Аналогичные результаты с уменьшением размера клеток были получены при **рН 4,5 и 7,0**.

В клетках живого организма в экстремальных условиях включаются механизмы, регулирующие реакцию на стресс. В литературе имеются сведения, что повышение температуры может привести к изменению размера, объема, внутриклеточной гранулярности и фракции почкующихся клеток *S. cerevisiae* [21]. Контроль размера клеток в ответ на воздействие различных стресс-факторов осуществляется регуляторным механизмом клеточного цикла на уровне G1/S и G2/M интерфазы [22]. В условиях эксперимента на средах с **рН 3,0 и 9,0** обнаружено увеличение размера клеток согласно с предыдущим вариантом (при 30°C). При **рН 3,0**

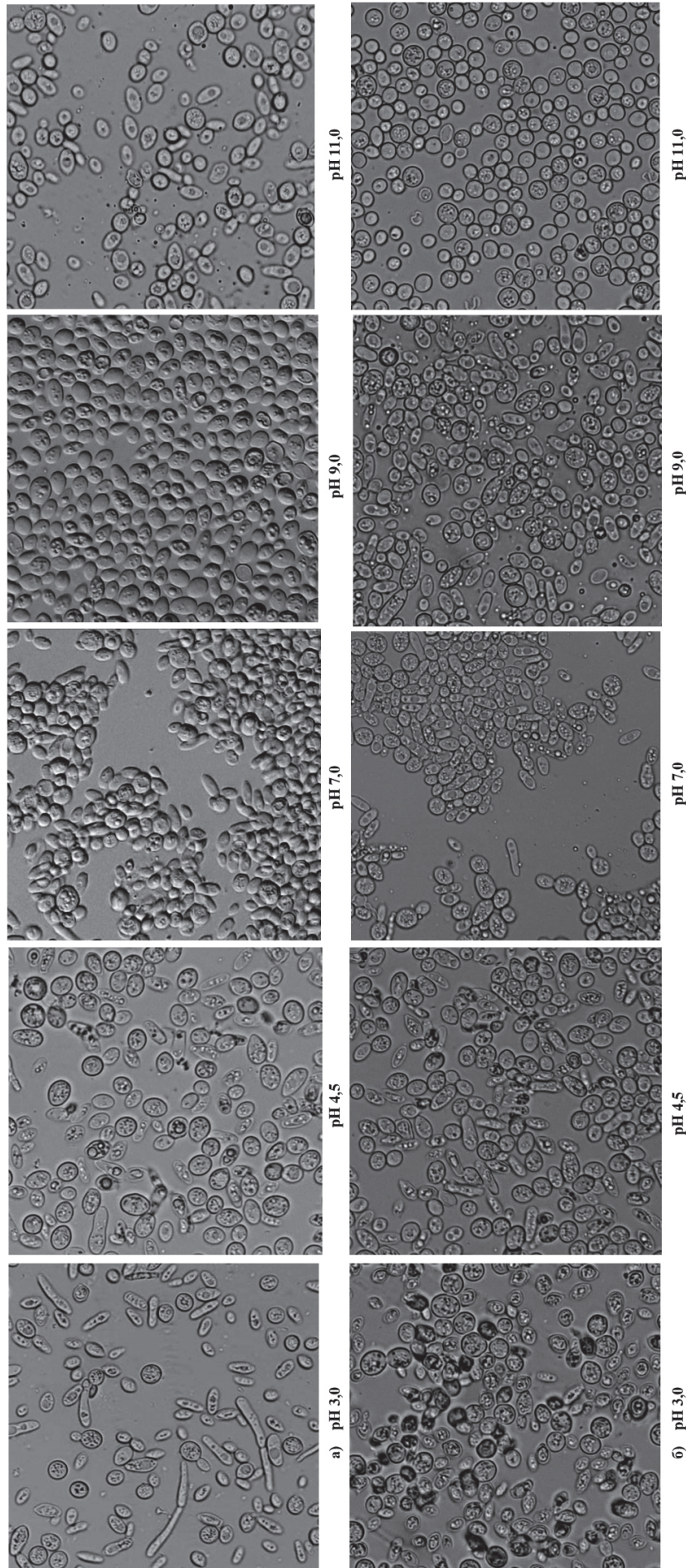


Рис. 2. Морфология клеток штамма *S. cerevisiae* Y-503 при воздействии различных значений pH, отсутствия NaCl и температуре: а) 30°C, б) 37°C

самый крупный размер составлял: 6×6 мкм, 5×5 мкм, 5×6 мкм (30°C), при увеличении температуры на 7°C - 7×7 мкм, 8×8 мкм, 9×9 мкм. В варианте с pH 9,0 размеры 6×9 мкм, 6×8 мкм, 5×8 мкм увеличились до 9×9 мкм, 8×8 мкм, 7×8 мкм.

При 30°C показано отсутствие **почкующихся** клеток почти во всех вариантах, кроме pH 3,0 и 11,0 (до 10 %). Увеличение температуры приводило к их росту, соответственно, в опытах с pH 7,0 (до 20 %), pH 3,0; 4,5 – единицы, за исключением pH 11,0. Обнаружено, что накопление **включений** в клетках выявлено на средах с pH 3,0 и 11,0, но в большей степени, при повышенной температуре (pH 4,5; 7,0 и 9,0). Из ранних исследований известно, что **R-формы** характерны для клеток штамма Y-503 в неблагоприятных условиях [23]. Наибольшее количество R-форм при 30°C обнаружено в клетках на среде с pH 3,0 (до 40 %); отсутствие - при pH 9,0 и всех видах стресса - pH 11,0. Повышение температуры до 37°C приводило к увеличению числа удлинённых клеток в вариантах с pH 4,5; 7,0; 9,0, наряду с отсутствием их – при pH 3,0 и 11,0. Общеизвестно, что мейотически продуцируемые **споры** в почкующихся клетках *S. cerevisiae* имеют состояние повышенной стрессовой устойчивости, которая сохраняется для многочисленных поколений. Обнаружено, что образование спор у гетерозиготного штамма Y-503 характерно только для повышенной температуры.

Внесение 10 % NaCl в среду для культивирования Y-503 выявило овально – округлые клетки, варибельность по размеру, появление редких клеток R-формы. В случае с 15 и 20 % NaCl практически все клетки овальные и очень много мелких; обнаружены сумки со спорами, много клеток R-формы. Интерпретируя полученные данные, можно заключить, что добавление 10-20 % NaCl в среду привело к ингибированию метаболизма дрожжей и, как следствие, гибели клеток, что подтверждало результаты ранее проведенных исследований [24]. Соответственно, в эксперименте с 3 стрессорами будет использован вариант исключительно с 5 % NaCl.

Влияние 3 стрессоров (рис. 3,а,б). В условиях одновременного воздействия нескольких стресс - факторов может возникнуть внутренний антагонизм, снижающий вредные последствия, приводящий к перекрёстной адаптации/защите. Показано, что клетки штамма Y-503 при 30°C в абсолютном большинстве, как и в опытах с 2 стрессорами, имели **округло-овальную и овально-округлую форму**, за исключением небольшого количества овальной – 5-20 % (pH 3,0; 4,5; 7,0), округлой – до 20 % (pH 3,0) и яйцеобразной - 10 % (pH 9,0). Следует отметить, что увеличение температуры (37°C) приводило к большему разнообразию форм клеток при доминировании тех же клеток, что и при 30°C, за

исключением однородной культуры с округлыми клетками при pH 11,0. Более того, известно, что добавление NaCl способствует высокому накоплению глицерина и трегалозы, что позволяет избежать уменьшения воды и усадку клеток [25].

Действительно, поверхность клетки в отдельных вариантах сред с увеличением соли и температуры практически не уменьшалась, но становилась менее эллипсоидной (рис 2, 3).

Наибольшее число **почкующихся** при 30°C обнаружено на среде с pH 11,0 (50 %), pH 4,5 и 7,0 (20-30 %), где выявлены клетки с 3-4 почками. Между тем, на среде с pH 9,0 они отсутствовали. Согласно литературным данным, продолжительное воздействие соли и температуры на культуру дрожжей приводит к росту клеток [26]. Обнаружена следующая закономерность: увеличение температуры до 37°C в вариантах с 2 и 3 стрессорами приводило к увеличению почкующихся до 30-40 % по сравнению с более низкой температурой. Наименьший рост почкующихся клеток выявлен при pH 3,0 и 7,0. Очевидно, доля ювенильных клеток при 30°C была ниже в 0,5-2,0 раза, что свидетельствовало о различной длительности прохождения клеткой ранних стадий митоза, которая может зависеть от разного рода экстремальных факторов.

Относительно клеток **R-формы** отмечено, что при 30°C они присутствовали в вариантах с pH 3,0; 4,5; 7,0 (10-40 %). Одновременное воздействие стрессоров, приводило к активному образованию **включений** при всех диапазонах концентраций pH и NaCl (рис. 3,а,б). Необходимо отметить полное отсутствие **вакуолей** при воздействии 3 стрессоров на клетки штамма *S. cerevisiae* Y-503. Результаты исследований показали, что наличие **спор** при воздействии 2 или 3 стрессоров на клетки штамма Y-503 характерно только при повышенной температуре.

II. Морфология колоний штамма *S. cerevisiae* Y-503 при воздействии кислотного (3,0; 4,5; 7,0; 9,0; 11,0), осмотического (5 % NaCl) и температурного (30°C и 37°C) стресса (рис. 4).

В благоприятных условиях выращивания дрожжи *S. cerevisiae* формируют гладкие, округлой формы колонии. В условиях изменения состава среды, голодании или генетических изменениях дрожжи могут менять картину роста для создания сложной коммуникации, состоящей из многочисленных взаимодействующих клеток. Известно предположение, что колонии со сложной структурой способствуют защите клеток от агрессивной среды, поскольку морфологический ответ колонии на стресс связан с клеточной коммуникацией, дифференциацией, специализацией и клеточной адгезией [27].

Первая серия опытов по воздействию 2 стресс - факторов на культуральные свойства штамма

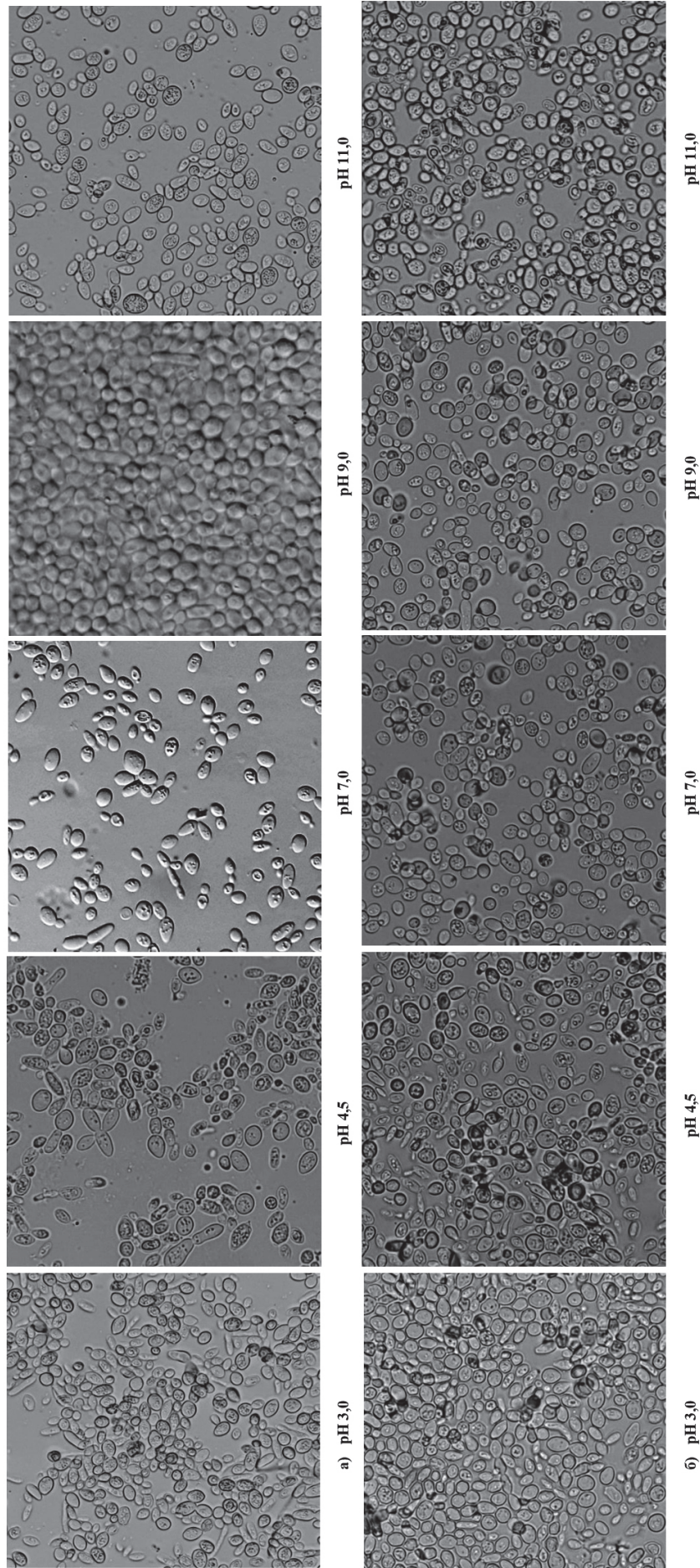


Рис. 3. Морфология клеток штамма *S. cerevisiae* Y-503 при воздействии различных значений кислотного, осмотического (5 % NaCl) и температурного (30°C-а, 37°C-б) стресса

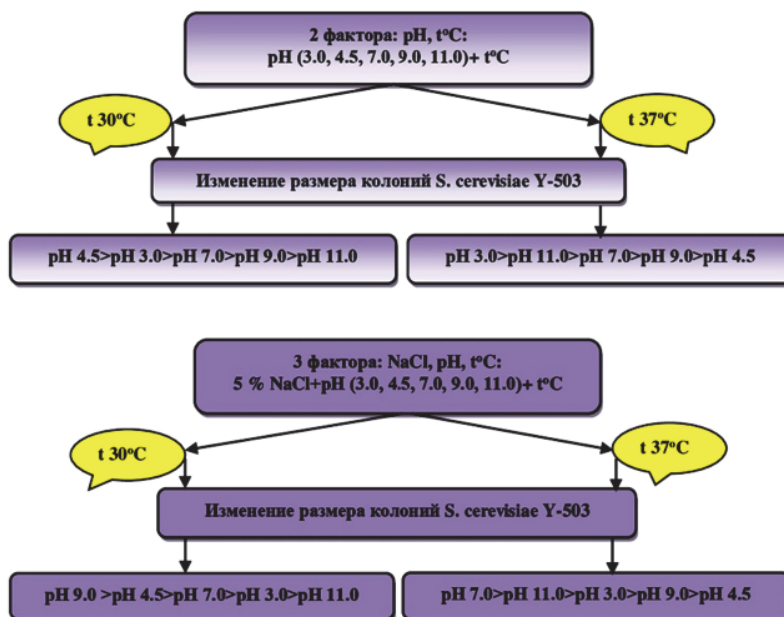


Рис. 4. Изменение размеров гигантских колоний штамма *S. cerevisiae* Y-503 в условиях осмотического, температурного и кислотного стресса

Y-503 осуществлялась при 30°C (рис. 4). Во всех вариантах обнаружена закономерность образовывать характерные для штамма колонии округлой формы в виде цветка с фестончатым краем. В дальнейшем, с увеличением концентрации соли, колонии приобретали неправильный контур. Окраска менялась от светлого пигмента на более темный, начиная с варианта с 10 % NaCl в среде; поверхность приобретала бугристость, а с 15 % NaCl появлялся легкий блеск. Установлено, что присутствие летальных доз 15-20 % NaCl приводило к угнетению жизнеспособности клеток; показаны точечные колонии (меньше 1 мм). Ингибирование роста клеток при внесении в среду повышенных количеств NaCl обусловлено подавлением дыхания и снижением синтеза антиоксидантных ферментов [28].

Установлено, что лучшие условия для роста колоний при 30°C и 37°C наблюдались в кислых средах (за исключением варианта с щелочной средой pH 11.0 при 37°C), затем следовала нейтральная (pH 7.0), когда клетки штамма не являлись достаточно активными, но и не гибли в условиях стресса (рис. 5). Действительно, подкисление среды (pH 3.0, 4.5) оказывало стабилизирующее действие на рост колоний штамма Y-503.

Добавление 5 % NaCl в среду при всех вариантах температур привело к изменению окраски колоний со светло-бежевой на более темную, причем при 30°C наблюдались более глубокие борозды и радиальная исчерченность, чем при 37°C (рис. 6). Наряду с этим, с 5 % NaCl в среде при любой температуре относительная скорость роста наблюдалась вблизи щелочной зоны (pH

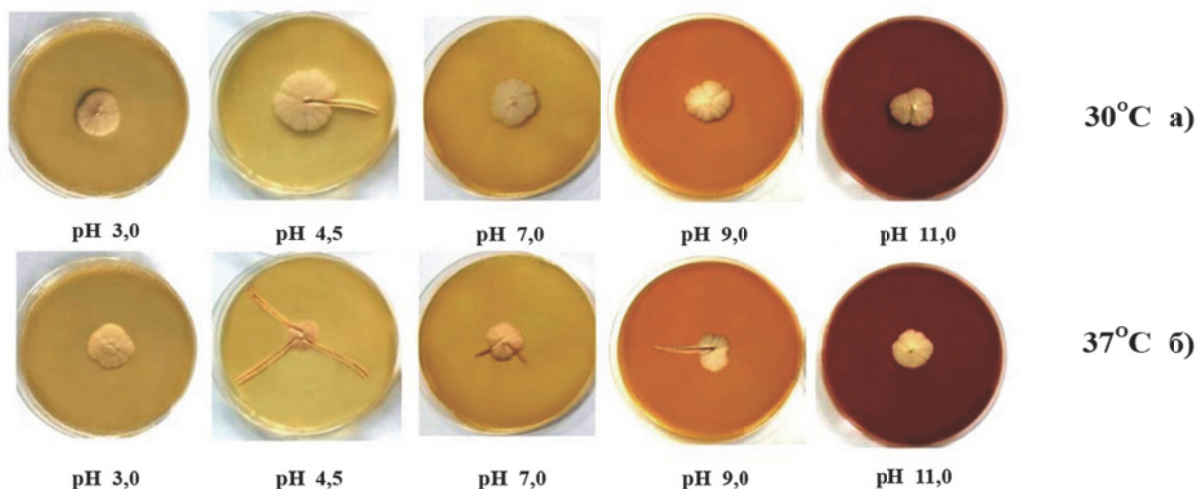


Рис. 5. Морфология колоний штамма *S. cerevisiae* Y-503 на средах при различных значениях кислотного и температурного (30°C-а, 37°C-б) стресса в отсутствие NaCl

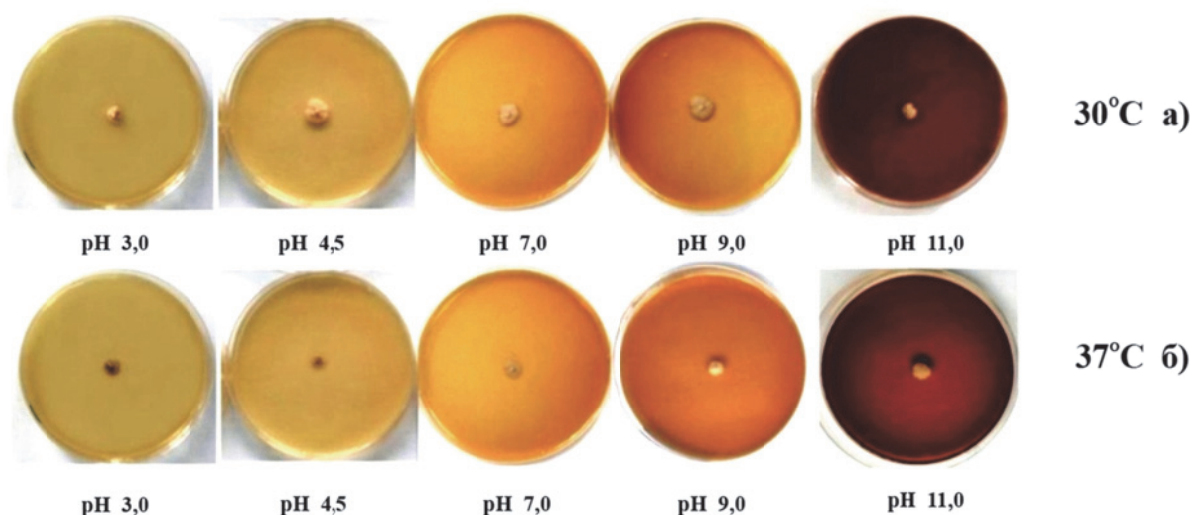


Рис. 6. Морфология колоний штамма *S. cerevisiae* Y-503 на средах при различных значениях кислотного, осмотического (5 % NaCl) и температурного (30°C-а, 37°C-б) стресса

9.0 и 11.0), в которой более высокий pH является превентивным фактором роста [29]. Безусловно, при данной концентрации NaCl дрожжи сохраняли жизнеспособность, хотя диаметр колонии значительно уменьшился.

Нельзя не учитывать тот факт, что штамм Y-503, который ранее был получен в результате лазерного воздействия [17], способен выдерживать длительное культивирование (20 суток) без предварительной адаптации, которое значительно усиливало антагонизм совместного действия осмотического, температурного и кислотного стресса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Штамм *S. cerevisiae* Y-503, являясь гетерозидным тетраплоидом, способен сохранять жизнеспособность и метаболическую активность в условиях осмотического, температурного и кислотного стресса при длительном культивировании без предварительной адаптации.

Изменение морфологических свойств дрожжей при воздействии различных стрессоров является следствием перекрестной адаптации и особенностям полиплоида Y-503. Выявлены оптимальные условия для сохранения жизнеспособности клеток культуры в отсутствие NaCl в среде при следующей последовательности значений pH 4,5>pH 3,0>pH 7,0>pH 9,0>pH 11,0 (30°C) и pH 3,0>pH 11,0>pH 7,0>pH 9,0>pH 4,5 (37°C); и с 5 % NaCl при pH 9,0>pH 4,5>pH 7,0>pH 3,0>pH 11,0 (30°C) и pH 7,0>pH 11,0>pH 3,0>pH 9,0>pH 4,5 (37°C). При этом доминирующими формами клеток для штамма Y-503 являлись овально – округлые и округло – овальные; с увеличением температуры – наблюдали преобразование эллипсоидных форм в более округлые. Установлено, что при всех факторах

стресса повышение температуры приводило к увеличению почкующихся клеток, образованию включений и спор. Выявлено наибольшее количество R-форм в клетках на кислых средах и полное их отсутствие на средах с pH 11.0 при любых видах стресса. Присутствие вакуолей, независимо от температуры, характерно для клеток дрожжей на средах с нейтральным и щелочным значением pH исключительно при воздействии 2 стрессоров.

Представленные результаты исследований влияния различных видов стресса могут быть полезны для решения научных и практических задач, связанных с разработкой биотехнологий различного назначения, основанных на использовании устойчивых к экстремальным условиям дрожжей *S. cerevisiae*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Hanson P.K., Bell A.N., Bhaganna P. *Saccharomyces cerevisiae*: a unicellular model genetic organism of enduring importance // Current protocols essential laboratory techniques. 2018. V. 16. № 1. P. 1-15.
2. Cray J.A., Mswaka A.Y., Timson D.J. The biology of habitat dominance; can microbes behave as weeds? // Microb biotechnol. 2013. V. 6 (5). P. 453-492.
3. Arroyo-López N., Orlic S., Querol A. Effects of temperature, pH and sugar concentration on the growth parameters of *S. cerevisiae*, *S. kudriavzevii* and their interspecific hybrid // International journal of food microbiology. 2009. V. 131. P. 120-127.
4. Hohmann S. Osmotic stress signaling and osmoadaptation in yeasts // Microbiol mol biol rev. 2002. V. 66 (2). P. 300-372.
5. Khmelinskii I., Makarov V.I. EPR hyperthermia of *S. cerevisiae* using superparamagnetic Fe₃O₄

- nanoparticles // Journal of Thermal Biology. 2018. V. 77. P. 55-61.
6. Tekarlan-Sahin S.H., Alkim C., Sezgin T. Physiological and transcriptomic analysis of a salt-resistant *Saccharomyces cerevisiae* mutant obtained by evolutionary engineering // Bosnian Journal of Basic Medical Sciences. 2018. V. 18(1). P. 55-65.
 7. Herbert K.C., Foster S.J. Starvation survival in *Listeria monocytogenes*: Characterization of the response and the role of known and novel components *cerevisiae* // Microbiology. 2001. V. 147. № 8. P. 2275-2284.
 8. Guerra-Castellano A., Díaz-Quintana G.A., Pérez-Mejías G. González-Arzola C.A., García-Mauriño S.M., De La Rosa M.A., I. Díaz-Moreno I. Oxidative stress is tightly regulated by cytochrome c phosphorylation and respirasome factors in mitochondria // Proc Natl Acad Sci USA. 2018. V. 115 (31). P. 7955-7960.
 9. Domènech A., Ayté J., Antunes F. Using *in vivo* oxidation status of one- and two-component redox relays to determine H₂O₂ levels linked to signaling and toxicity // BMC Biol. 2018. V. 16 (1). P. 61-71.
 10. Navarro-Tapia E., Querol A., Pérez-Torrado R. Membrane fluidification by ethanol stress activates unfolded protein response in yeasts // Microb Biotechnol. 2018. V. 11 (3). P. 465-475.
 11. Periago P.M., Schaik W., Abee T. Identification of proteins involved in the heat stress response of *Bacillus cereus* ATCC 14579 // Appl. Environ. Microbiol. 2002. V. 68. P. 3486-3495.
 12. Guan Q., Haroon S., Bravo D.G., Will J.L., Gasch A.P. // Cellular memory of acquired stress resistance in *Saccharomyces cerevisiae* / Genetics. 2012. V. 192 (2). P. 495-505.
 13. Revin V., Atykya N., Lyovina E., Dragunova Y., Ushkina V. Effect of ultraviolet radiation on physiological and biochemical properties of yeast *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation of ultradispersed starch raw material / // Electronic Journal of Biotechnology. 2018. V. 31. P. 61-66.
 14. Świącilo A. Cross-stress resistance in *Saccharomyces cerevisiae* yeast – new insight into an old phenomenon // Cell Stress and Chaperones. 2016. V. 21. № 2. P. 187-200.
 15. Turner J.J., Ewald J.C., Skotheim J.M. Cell size control in yeast // Current Biology. 2012. 22(9). P. 350-359. doi: 10.1016/j.cub.2012.02.041.
 16. Zadrag-Tecza R., Kwolek-Mirek M., Alabrudzińska M., Skoneczna A. Cell Size Influences the Reproductive Potential and Total Lifespan of the *Saccharomyces cerevisiae* Yeast as Revealed by the Analysis of Polyploid Strains // Oxidative medicine and cellular longevity. 2018. V. 1. P. 1-17.
 17. Абрамов Ш.А., Котенко С.Ц., Далгатова Б.И., Мамаев А.Т., Пейсахова Д.С. / А.с CCC3 № 1284998. Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-503, используемый в производстве хлебобулочных изделий // Б.И. 1987. № 3. С. 104.
 18. Аливердиева Д.А., Мамаев Д.В., Бондаренко Д.В., Шольц К.Ф. Зондирование активного центра дикарбоксилатного транспортера плазматической мембраны *Saccharomyces cerevisiae* // Биохимия. 2007. Т. 72. Вып. 3. С. 325-337.
 19. Аливердиева Д.А., Мамаев Д.В., Лагутина Л.С. Транспорт сукцината в клетки *Saccharomyces cerevisiae* после продолжительной холодовой преинкубации // Прикладная биохимия и микробиология. 2009. Т. 45. № 5. С. 485-577
 20. Исламмагомедова Э.А., Халилова Э.А., Котенко С.Ц., Гасанов Р.З., Аливердиева Д.А. Влияние экстремальных значений pH на морфологические особенности дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2018. Т. 20. № 5 (2). С. 219-225.
 21. Zakhartsev M., Reuss M. Cell size and morphological properties of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in relation to growth temperature // FEMS yeast research. 2018. V. 18. № 6. P. 1-16.
 22. Turner J.J., Ewald J.C., Skotheim J.M. Cell size control in yeast // Current Biology. 2012. 22 (9). P. 350-R359. doi: 10.1016/j.cub.2012.02.041
 23. Абрамов Ш.А., Котенко С.Ц., Далгатова Б.И. Влияние мутагенного фактора на морфолого-биохимическую активность дрожжей *S. cerevisiae* // Прикл. биохимия и микробиология. 1989. Т. 26. Вып. 3. С. 397-400.
 24. Халилова Э.А., Исламмагомедова Э.А., Котенко С.Ц., Абакарова А.А., Аливердиева Д.А. Морфолого – культуральные особенности клеток дрожжей *S. cerevisiae* различной ploidy в условиях осмотического стресса // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2018. Т. 20. № 2. С. 160-166.
 25. Kofli N.T, Nagahisa K., Shimizu H., Shioya S. Responses of different strains of *Saccharomyces cerevisiae* to osmotic stress // Sains Malaysiana. 2006. V. 35 (2). P. 9-15.
 26. Kelley B., Worthen C., Johnston S., Hileman S. Does the time that salt is added affect yeast growth? // Journal of Introductory Biology Investigations. 2017. V. 6. № 2. P. 45-51.
 27. Granek J.A. Environmental and genetic determinants of colony morphology in yeast // PLoS genetics. 2010. V. 6(1). P. 1-12.
 28. Gostinčar C., Gunde-Cimerman N. Overview of oxidative stress response genes in selected halophilic fungi // Genes (Basel). 2018. V. 9 (3). P. 143-153.
 29. Salari R., Salari R. Investigation of the best *Saccharomyces cerevisiae* growth condition // Electronic physician. 2017. V. 9 (1). P. 3592-3597.

**ON THE MORPHOLOGICAL PROPERTIES OF THE STRAIN *S. CEREVISIAE* Y-503
IN THE CONDITIONS OF OSMOTIC, TEMPERATURE AND ACID STRESS**

© 2019 E.A. Khalilova, E.A. Islammagomedova, S.Ts. Kotenko,
R.Z. Gasanov, A.A. Abakarova, D.A. Aliverdieva

Caspian Institute of Biological Resources of Dagestan Scientific Centre RAS, Makhachkala

The article presents the results of the influence of osmotic, temperature and acid stress on the morphological and cultural characteristics of the strain *S. cerevisiae* Y-503, obtained as a result of laser exposure. The concentration of NaCl (5%, 10%, 15%, 20%) was varied at different pH values (3.0; 4.5; 7.0; 9.0; 11.0) and temperatures (30°C and 37°C). Long lasting cultivation of strain Y-503 was performed without prior adaptation. The optimal conditions for maintaining cell culture viability in the absence of NaCl in the medium were determined with the following sequence of values of pH 4.5 > pH 3.0 > pH 7.0 > pH 9.0 > pH 11.0 (30°C) and pH 3.0 > pH 11.0 > pH 7.0 > pH 9.0 > pH 4.5 (37°C); and with 5% NaCl at pH 9.0 > pH 4.5 > pH 7.0 > pH 3.0 > pH 11.0 (30°C) and pH 7.0 > pH 11.0 > pH 3.0 > pH 9.0 > pH 4.5 (37°C). It was shown that for all stress factors, an increase in temperature led to an increase in budding cells, the formation of inclusions and spores. The research results can be used in the development of biotechnologies for various purposes, based on the use of *S. cerevisiae* yeast resistant to extreme conditions.

Keywords: heterozygous tetraploid *S. cerevisiae* Y-503; acidity, temperature, NaCl; morphological and cultural properties.

*Eslanda Khalilova, Candidate of Biological Sciences,
Leading Researcher of the Laboratory of Biochemistry and
Biotechnology. E-mail: eslanda61@mail.ru*

*Elvira Islammagomedova, Candidate of Biological Sciences,
Senior Researcher of the Laboratory of biochemistry and
biotechnology. E-mail: islammagomedova@mail.ru.*

*Svetlana Kotenko, Candidate of Biological Sciences,
Leading Researcher of the Laboratory of Biochemistry and
Biotechnology.*

*Rasul Gasanov, Minor Researcher of the Laboratory of
Biochemistry and Biotechnology. E-mail: gacanov@bk.ru*

*Aida Abakarova, Senior Assistant of the Laboratory of
Biochemistry and Biotechnology.*

*Dinara Aliverdieva, Candidate of Biological Sciences,
Deputy Director on Scientific Work, Head of the Laboratory
of Biochemistry and Biotechnology.*

E-mail: aliverdieva_d@mail.ru