

УДК 574.58:582.282.23

В.О. Іваниця, С.О. Білоіваненко

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
тел.: +38 (0482) 68 79 64, e-mail: beloiv@onu.edu.ua

ЧИСЕЛЬНІСТЬ ТА ТАКСОНОМІЧНИЙ СКЛАД ДРІЖДЖІВ ПРИБЕРЕЖНОЇ АКВАТОРІЇ ОСТРОВА ЗМІЙНИЙ

*Вперше для прибережних вод острова Зміїний вивчено чисельність та таксономічний склад дріжджової мікробіоти. Показано, що чисельність дріжджів коливалася у вузькому діапазоні від 202×10^3 до 760×10^3 КУО/л. Проведені дослідження дозволили ідентифікувати 11 видів дріжджів, що належать до 6 родів (*Cryptococcus albidus*, *C. neoformans*, *Aureobasidium pullulans*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Rhodotorula rubra*, *R. glutinis*, *R. minuta*, *Saccharomyces cerevisiae*). Чотири представники ідентифіковано лише до роду (*Cryptococcus*, *Candida*, *Pichia*, *Rhodotorula*). Представники всіх 11 ідентифікованих видів є типовими космополітами і досить широко розповсюджені в інших біотопах Землі. Найбільш поширеними в прибережних водах акваторії острова виявилися представники не ідентифікованих видів *Rhodotorula* spp., *Candida* spp. та виду *Rhodotorula rubra*. Найбільша чисельність та таксономічна різноманітність дріжджів виявлена в районі порту, де в основному здійснюється господарська діяльність.*

Ключові слова: морські дріжджі, чисельність, таксономічний склад, акваторія острова Зміїний.

Дріжджі широко розповсюджені в природі є невід'ємною складовою мікробіоти морських екосистем [6]. Їх чисельність та таксономічний склад регулюються умовами навколишнього середовища. Цей показник багато в чому залежить від типу та концентрації органічного матеріалу і є важливим для оцінки екологічного та санітарного стану довкілля [1, 5]. Морські дріжджі виявлені в морській воді, морських відкладеннях, на водоростях, рибах, морських ссавцях, морських птахів. В прибережних водах, як правило, їх чисельність складає десятки тисяч кл/л води, в глибоководних районах океану, де мало органічних речовин їх кількість складає десятки або менше клітин на літр. Аеробні форми зустрічаються здебільшого в чистих водах, в той час як анаеробні, що бродять, — у забруднених. Дані, що наведено в літературі свідчать про переважання у водах Світового океану аскоміцетових (*Candida*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Pichia*



і *Saccharomyces*) та базидіоміцетових (*Cryptococcus*, *Rhodospiridium*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*) дріжджів [6]. Знайдено дріжджі, що зв'язані з ендемічною фауною глибоководних гідротерм Серединно-Атлантичного хребта і Південно-Тихоокеанського басейну. Філогенетичний аналіз послідовностей генів 26S рРНК показав, що ізольовані культури дріжджів належали до родів: *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Candida*, *Cryptococcus* і *Debaryomyces* [3].

Спеціалізація на виконанні певних функцій мікроорганізмів призводить до формування у них характерного комплексу морфологічних, фізіологічних і біохімічних властивостей. Так, дріжджі ізольовані із перифітону систем гідробіологічної очистки морської води в акваторії Нафтогавані Севастопольської бухти використовували нафту та нафтопродукти як єдине джерело вуглецю та енергії [2].

Метою дослідження було визначення чисельності та таксономічного складу дріжджів прибережних вод акваторії острова Зміїний, що знаходиться на шляху водних потоків ріки Дунай, яка збирає стічні води більшості країн Європи. У цій частині Чорного моря продовжується трансформація та деградація полутантів та формування зміненої мікробіоти. Вивчення чисельності та біологічної різноманітності, зокрема таких мало вивчених на сьогодні мікроорганізмів, як морські дріжджі, в цьому районі набуває важливого значення.

Матеріали та методи

Добір проб для досліджень здійснювали з поверхневого шару (0–50 см) в липні 2009 р. на семи прибережних і одній віддаленій станціях, розташованих рівномірно навколо острова Зміїний (рис. 1).

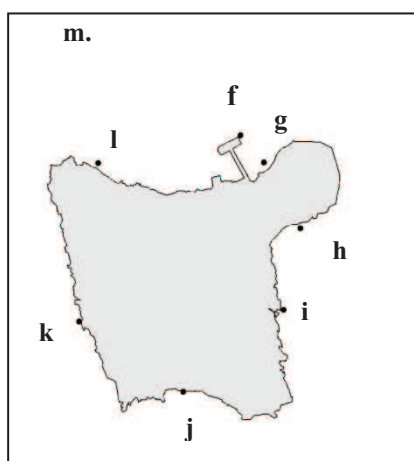


Рис. 1. Схема розташування станцій добору проб у прибережних водах акваторії о. Зміїний

Fig. 2. Scheme of probe sampling stations' location at Zmiinyi island coastal water area

Чисельність дріжджів визначали методом мембранних фільтрів [6]. Фільтри (Millipore Filter Corporation) з діаметром пор 0,22 мкм поміщали на середовище Сабуро з додаванням антибіотиків хлорамфеніколу (150 мкг/мл) та тетрацикліну (100 мкг/мл) для пригнічення росту бактерій) та інгібіторів росту міцеліальних грибів — бенгальського рожевого (0,003%) та кристалічного фіолетового (0,001%) [6, 7]. Всі дослідження проводили в трьох повторях. Культивування дріжджів здійснювали при 20 °С. Підрахунок колонієутворювальних одиниць (КУО) провадили через 3 доби культивування.

Ізольовані штами дріжджів культивували на середовищі Сабуро. Визначення таксономічної приналежності ізольованих культур дріжджів здійснювали за морфологічними, фізіологічними та біохімічними ознаками згідно класичної схеми за визначником та даними літератури [7].

Статистичне опрацювання результатів проводили згідно стандартних методик [9].

Результати дослідження та їх обговорення

Проведені дослідження показали, що чисельність дріжджів в прибережних водах акваторії острова в липні 2009 р. коливалася у вузькому діапазоні від 202×10^3 до 760×10^3 КУО/л (табл. 1). Середня чисельність становила 451×10^3 КУО/л. Чисельність червоних дріжджів була в межах від 11×10^3 КУО/л до 250×10^3 КУО/л. На станції l червоні дріжджі не були виявлені. Чисельність чорних дріжджів становила від 130×10^3 до 150×10^3 КУО/л. На станціях f, j, k, l, m чорні дріжджі не були виявлені.

Таблиця 1

Загальна чисельність дріжджів ($\times 10^3$ КУО/л) в воді акваторії о. Зміїний

Table 1

General yeast cell number ($\times 10^3$ CFU/l) in marine water of Zmiinyi basin

Станція	Загальна чисельність дріжджів	Червоні дріжджі (каротинсинтезувальні)	Чорні дріжджі (меланінсинтезувальні)
<i>g</i>	749 $\pm$ 26	190 $\pm$ 10	130 $\pm$ 6
<i>h</i>	550 $\pm$ 10	120 $\pm$ 7	140 $\pm$ 7
<i>f</i>	370 $\pm$ 15	250 $\pm$ 12	-
<i>i</i>	760 $\pm$ 37	120 $\pm$ 6	150 $\pm$ 6
<i>J</i>	202 $\pm$ 26	11 $\pm$ 5	-
<i>k</i>	376 $\pm$ 13	17 $\pm$ 7	-
<i>l</i>	265 $\pm$ 11	-	-
<i>m</i>	342 $\pm$ 7	15 $\pm$ 6	-



Відомо, що основним природним резервуаром дріжджів є ґрунт та рослини суші. У воді станцій, що межують з відкритими ґрунтами та рослинними рештками берега, виявлено певне збільшення чисельності дріжджової мікробіоти. Найбільша щільність дріжджів встановлена на станції **g** (до 749×10^3 КУО/л), яка межує з пологим ґрунтовим берегом острова та **i** (760×10^3 КУО/л). Цей район характеризується великою кількістю морських водоростей — кладофори, ульви та ентероморфи, які є, очевидно, багатим джерелом органічних речовин для цих мікроорганізмів.

Серед виявлених переважали каротинсинтезувальні дріжджі. Представники меланінсинтезувальних дріжджів найчастіше виділялися на станції **i**.

Дріжджі, що постійно мешкають в морській воді, набувають властивостей, які дають можливість подальшого існування та виживання в даному біогеоценозі. В ході досліджень ізольовано 42 штами переважальних представників морських дріжджів, охарактеризовано їх морфологічні, біохімічні, фізіологічні властивості та проведено їх ідентифікацію.

Проведені дослідження дозволили ідентифікувати 11 видів дріжджів (табл. 2), що належать до 5 родів (*Cryptococcus albidus*, *C. neoformans*, *Aureobasidium pullulans*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Rhodotorula rubra*, *R. glutinis*, *R. minuta*, *Saccharomyces cerevisiae*). Чотири досліджені представники ідентифіковано лише до роду (*Cryptococcus*, *Candida*, *Pichia*, *Rhodotorula*).

У результаті проведених досліджень найбільша таксономічна різноманітність дріжджів виявлена на станції **g**, де зареєстровано присутність 11 видів (8 ідентифікованих та 3 не ідентифікованих). Це і не дивно, оскільки вода на станції **g**, розташованої в районі порту, є найбільш забрудненою. Слід відзначити, що на цій станції встановлено також найбільшу чисельність дріжджової мікробіоти. Райони акваторії, що межують із високим скелястим берегом, характеризуються найменшим числом видів — 4 (станції **h** та **j**). В інших районах виявлено 6—7 видів дріжджів.

Найпоширенішими в прибережних водах острова виявилися представники не ідентифікованих видів *Rhodotorula spp.* (на 7 станціях із 8), *Candida spp.* (на 6 станціях із 8) та виду *Rhodotorula rubra* (на 6 станціях із 8). Найбільш чисельними були представники *Rhodotorula spp.*, *Rhodotorula rubra* та *Aureobasidium pullulans*. Їх частка складала до 64,3%. Епізодично виявлялися представники родів *Saccharomyces* та *Pichia*.

Із групи сахаробіонтів («справжні» дріжджі, що характеризуються відсутністю пігментації, розвинених міцеліальних структур, хламідоспор, слизових капсул, а також здатністю до бродіння) знайдено *Saccharomyces cerevisiae* лише на одній станції **l** та в невеликій кількості (20×10^3 КУО/л), що пояснює відсутність в морському середовищі легкодоступних джерел вуглецю, до яких вони найбільш пристосовані. Ймовірно виявлені сахароміцети потрапили в морське середовище з прибережних рослин.

Таблиця 2

Чисельність представників окремих родів та видів дріжджів ($\times 10^3$ КУО/л)
в воді акваторії о. Зміїний

Table 2

Number of certain yeast genera and species ($\times 10^3$ CFU/l)
in marine water of Zmiinyi basin

Вид	Станція відбору проб							
	<i>g</i>	<i>h</i>	<i>f</i>	<i>i</i>	<i>j</i>	<i>k</i>	<i>l</i>	<i>m</i>
<i>Aureobasidium pullulans</i>	130 $\pm$ 6	140 $\pm$ 6	-	150 $\pm$ 6	-	-	-	-
<i>Candida spp.</i>	79 $\pm$ 1	-	15 $\pm$ 1	-	6 $\pm$ 1	18 $\pm$ 1	29 $\pm$ 1	27 $\pm$ 1
<i>Candida albicans</i>	10 $\pm$ 1	-	10 $\pm$ 1	-	6 $\pm$ 1	13 $\pm$ 1	12 $\pm$ 1	-
<i>Candida glabrata</i>	-	-	-	-	-	-	17 $\pm$ 4	20 $\pm$ 4
<i>Candida parapsilosis</i>	41 $\pm$ 1	-	-	-	-	5 $\pm$ 1	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	10 $\pm$ 2	-	5 $\pm$ 2	-	-	-	-	5 $\pm$ 2
<i>Cryptococcus spp.</i>	68 $\pm$ 11	-	15 $\pm$ 11	15 $\pm$ 11	-	-	144 $\pm$ 11	-
<i>Cryptococcus albidus</i>	34 $\pm$ 5	-	-	10 $\pm$ 5	-	-	26 $\pm$ 5	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	17 $\pm$ 2	-	5 $\pm$ 2	5 $\pm$ 2	-	-	-	-
<i>Pichia spp.</i>	10 $\pm$ 5	-	-	-	-	-	17 $\pm$ 5	-
<i>Rhodotorula spp.</i>	190 $\pm$ 28	220 $\pm$ 28	250 $\pm$ 28	340 $\pm$ 28	110 $\pm$ 28	170 $\pm$ 28	-	150 $\pm$ 28
<i>Rhodotorula glutinis</i>	10 $\pm$ 2	-	-	-	-	40 $\pm$ 2	-	-
<i>Rhodotorula minuta</i>	-	20 $\pm$ 11	70 $\pm$ 11	-	-	-	-	40 $\pm$ 11
<i>Rhodotorula rubra</i>	150 $\pm$ 19	170 $\pm$ 19	-	240 $\pm$ 19	80 $\pm$ 19	130 $\pm$ 19	-	100 $\pm$ 19
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	20 $\pm$ 1	-

Типовими представниками дріжджів-фітобіонтів, що виявлені в акваторії навколо острова Зміїний є представники роду *Rhodotorula* (до $3,4 \times 10^3$ КУО/л). Значна кількість дріжджів-фітобіонтів в прибережних водах острова пояснюється наявністю в цьому районі заростей водоростей-макрофітів, які значною мірою формують умови для існування інших організмів, у тому числі і для дріжджів. За рахунок розвинених капсул клітини цих дріжджів здатні до адгезії на поверхні морських водоростей.



В прибережній акваторії острова найширше представлена морфолого-фізіологічна група сапробіонтів (роди *Candida*, *Aureobasidium*, *Pichia*, *Cryptococcus*), які мають високу гідролітичну активність і беруть участь у деструкції органічних решток, продовжуючи трансформацію та деструкцію політантів, що приносять водні потоки ріки Дунай.

До складу групи дріжджів-опортуністів відносять представників, що викликають захворювання людини та тварин. У досліджуваному районі ідентифіковано представників родів *Candida* (до 79×10^3 КУО/л) та *Cryptococcus* (до 114×10^3 КУО/л), для яких характерним є протеолітична активність та здатність до адгезії.

Отже, в прибережних водах акваторії острова Зміїний чисельність дріжджів коливалася у вузькому діапазоні від 220×10^3 до 760×10^3 КУО/л. Проведені дослідження дозволили ідентифікувати 15 видів дріжджів, що належать до 6 родів *Cryptococcus*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Pichia*. Найбільш поширеними в прибережних водах острова виявилися представники не ідентифікованих видів *Rhodotorula spp.*, *Candida spp.* та виду *Rhodotorula rubra*. Найбільша чисельність та таксономічна різноманітність дріжджів виявлена на станції **g**, що розташована в районі порту і має найбільший антропогенний вплив, та станції **i** — з великою кількістю морських водоростей. Представники усіх ідентифікованих видів є типовими космополітами і досить широко розповсюджені в інших біотопах Землі [5, 6].

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Крисс А.Е. Морская микробиология: глубоководная. М.: Издательство Академии наук СССР, 1959. — 474 с.
2. Миронов О.Г., Дорошенко Ю.В. Нефтеокисляющие дрожжи перифитона систем гидробиологической очистки морских вод. Морський екологічний журнал, № 2, — Т. VI. — 2007. — С. 58–62.
3. Burgaud G., Arzur D., Durand L., Cambon-Bonavita M., Barbier G. Marine culturable yeasts in deep-sea hydrothermal vents: species richness and association with fauna. FEMS Microbiol. Ecol. 73.2010. — P. 121–133.
4. Hagler A.N. Yeasts from marine and estuarine waters with different levels of pollution in the state of Rio de Janeiro, Brasil. // Appl. Environ. Microbiol. — 1981. — P. 173–178.
5. Hagler A.N., Ahearn D.G. Ecology of aquatic yeasts. // The yeasts, second edition, vol. 1 Academic Press, London, United Kingdom. — 2000. — P. 11–21.
6. Koki Horikoshi, Hideto Takami, Takashi Nakase, Makiko Hamamoto. Distribution and identification of red yeasts in deep-sea environments around the northwest Pacific Ocean. // Kluwer Academic Publishers. — 2001. — P. 101–110.



7. Lachance M.A & Starmer W.T. Ecology and yeasts. The yeasts: a taxonomic study, fourth revised and enlarged edition //Elsevier Science Publishers B.V. – 2003. – P. 122–145.

8. Sreedevi N. Kutty and Rosamma Philip. Marine yeasts. // Yeast 2008; 25: P. 465–483. Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com) DOI: 10.1002/yea.1599.

9. The yeasts. A taxonomic study. Eds. C.P. Kurtzman, J.W. Fell// Fourth revised and enlarged edition.– 1998. – 1055 p.

Стаття надійшла до редакції 10.08.2012 р.

В.А. Иваниця, С.А. Белоиваненко

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина,
тел.: +38 (0482) 68 79 64, e-mail: beloiv@onu.edu.ua

ЧИСЛЕННОСТЬ И ТАКСОНОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ДРОЖЖЕЙ ПРИБРЕЖНОЙ АКВАТОРИИ ОСТРОВА ЗМЕИНЫЙ

Реферат

Впервые для прибрежных вод острова Змеиный изучены численность и таксономический состав дрожжевой микробиоты. Показано, что численность дрожжей колебалась в узком диапазоне от 202×10^3 до 760×10^3 КОЕ/л. Проведенные исследования позволили идентифицировать 11 видов дрожжей, относящихся к 6 родам (*Cryptococcus albidus*, *C. neoformans*, *Aureobasidium pullulans*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Rhodotorula rubra*, *R. glutinis*, *R. minuta*, *Saccharomyces cerevisiae*). Четыре представителя идентифицировано только до рода (*Cryptococcus*, *Candida*, *Pichia*, *Rhodotorula*). Представители всех 11 идентифицированных видов являются типичными космополитами и достаточно широко распространены в других биотопах Земли. Наиболее распространенными в прибрежных водах акватории острова оказались представители не идентифицированных видов *Rhodotorula spp.*, *Candida spp.* и вида *Rhodotorula rubra*. Наибольшая численность и таксономическое разнообразие дрожжей обнаружены в районе порта, где в основном осуществляется хозяйственная деятельность.

Ключевые слова: дрожжи, численность, таксономический состав, акватория, остров Змеиный.



V.O. Ivanytsia, S.O. Biloivanenko

Odesa National Mechnykov University, 2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine,
tel.: +38(0482)687964, e-mail: beloiv@onu.edu.ua

ABUNDANCE AND TAXONOMIC COMPOSITION OF THE COASTAL AREA OF YEASTS OF ZMIINIY ISLAND

Summary

Coastal waters for the first time Snake Island studied the number and taxonomic composition of yeast microbiota. It is shown that the number of yeast varied in a narrow range from 220×10^3 to 760×10^3 cfu/l. Research has identified 11 species of yeasts belonging to 6 genera (*Cryptococcus albidus*, *C. neoformans*, *Aureobasidium pullulans*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *Rhodotorula rubra*, *R. glutinis*, *R. minuta*, *Saccharomyces cerevisiae*). Identified only four members of the genus (*Cryptococcus*, *Candida*, *Pichia*, *Rhodotorulla*). Representatives of all 11 identified species are typical cosmopolitan and fairly common in other habitats of the Earth. The most common in the coastal waters of the waters of the island were the representatives of unidentified species of *Rhodotorula spp.*, *Candida spp.* and the type of *Rhodotorula rubra*. The greatest number and taxonomic diversity of yeast found in the port area and the economic activities of inhabitants.

Key words: yeast, abundance, taxonomic composition, water area, Zmiiniy Island.

