

# ЗАСЕВНЫЕ ДРОЖЖИ RHODOTORULA SPP. ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В МАРИКУЛЬТУРЕ

**Резюме.** Объектами микробиологических исследований стала дрожжевая культура *Rhodotorula spp.*, выделенная из пробиотической кормовой добавки *Rhodotorula fujianensis*, и полученная на ее основе засевная биомасса. Для культивирования дрожжей использовали экспериментальную питательную среду оптимизированного состава. Установлено, что при температуре от  $-10$  до  $-12^{\circ}\text{C}$  в течение 30 суток возможно сохранить качество культуры. Разработана схема лабораторного получения засевных дрожжей *Rhodotorula spp.* После предварительной активации засевные дрожжи применяются в технологии производства кормового препарата.

**Ключевые слова:** пробиотики, кормовая добавка, красные дрожжи, хранение, марикультура.

# SEEDING YEAST RHODOTORULA SPP. FOR USE IN MARICULTURE

**Abstract.** The objects of microbiological research were the yeast culture *Rhodotorula spp.*, isolated from the probiotic feed additive «*Rhodotorula fujianensis*» and the seed biomass obtained on its basis. For the cultivation of yeast, an experimental nutrient medium of optimized composition. It has been established that at a temperature of  $-10 \dots -12^{\circ}\text{C}$  for 30 days it is possible to preserve the quality of the culture. A scheme for laboratory production of seed yeast *Rhodotorula spp* has been developed. The obtained seed yeast after preliminary activation is used in the technology of obtaining a feed preparation.

**Key words:** probiotics, feed additive, red yeast, storage, mariculture.

## ВВЕДЕНИЕ

Использование пробиотиков в марикультуре все еще находится на стадии развития [1, 2, 9]. Существует необходимость разработки новых пробиотических препаратов широкого спектра действия с учетом всех преимуществ и недостатков тех или иных видов микроорганизмов, способных воздействовать на рост, развитие и качество товарной продукции.

Процесс выращивания микроорганизмов в промышленных условиях включает две стадии: получение чистой куль-

туры посевного материала и выращивание микробных масс в биореакторах. Посевным материалом считается чистая культура микроорганизмов, которую получают путем последовательного асептического ее пересева с последующим увеличением объема в аппаратах непрерывного процесса культивирования. Длительность и частота пересевов при подготовке и накоплении посевного материала в лабораторных условиях отрицательно влияет на метаболизм микроорганизма продуцента и его возможную мутацию [6, 4, 11].

УДК: 663.131

**Научная статья**

DOI 10.25741/2413-287X-2024-02-4-214

**ИНГА ВЛАДИМИРОВНА МАТРОСОВА<sup>1</sup>**, ✉  
кандидат биологических наук, доцент,  
зав. кафедрой «Водные биоресурсы и аквакультура»

**ЕКАТЕРИНА МИРОНОВНА ПАНЧИШИНА<sup>1</sup>**,  
кандидат технических наук, доцент кафедры  
«Технология продуктов питания»

**НАДЕЖДА ЛЕОНИДОВНА КОРНИЕНКО<sup>1</sup>**,  
кандидат технических наук, доцент кафедры  
«Технология продуктов питания»

**АНАСТАСИЯ АНДРЕЕВНА ПОЛИТАЕВА<sup>1</sup>**,  
аспирант кафедры «Водные биоресурсы  
и аквакультура», руководитель Научно-  
производственного департамента марикультуры

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»,  
г. Владивосток, Приморский край

✉ [matrosova.iv@dgtru.ru](mailto:matrosova.iv@dgtru.ru)

Поступила в редакцию:  
12.12.2023

Одобрена после рецензирования:  
15.01.2024

Принята в публикацию:  
16.01.2024

Работа выполнена при финансовой поддержке НИР  
№ 822/2023 «Научное обоснование получения  
кормовых препаратов пробиотической направленности  
на основе биомассы дрожжей *Rhodotorula spp.*,  
предназначенных для выращивания объектов  
аквакультуры»

**Research article**

DOI 10.25741/2413-287X-2024-02-4-214

**INGA V. MATROSOVA<sup>1</sup>**, ✉

**EKATERINA M. PANCHISHINA<sup>1</sup>**,

**NADEZHDA L. KORNIENKO<sup>1</sup>**,

**ANASTASIA A. POLITAEVA<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>FSFEI HE «Dalrybvtuz»

✉ [matrosova.iv@dgtru.ru](mailto:matrosova.iv@dgtru.ru)

Received by editor office:  
12.12.2023

Accepted in revised:  
01.15.2024

Accepted for publication:  
01.16.2024

The work was carried out with the financial support  
of R&D No. 822/2023 «Scientific justification for the  
production of probiotic feed preparations based  
on the biomass of *Rhodotorula spp.* yeast intended  
for the cultivation of aquaculture objects»

В этой связи на практике в биотехнологии производства кормовых препаратов применяют лабораторные засевные дрожжи. После накопления их выделяют и хранят либо в прессованном виде, либо в виде дрожжевого молока, а также в высушенном состоянии при температуре 2–4°C. В последнее время способ хранения засевных дрожжей в виде засевного молока нашел широкое применение в промышленности, так как позволяет сохранить ценные для дрожжей свойства — генеративную активность и чистоту культуры. Консерванты также способствуют сохранению микробиологической чистоты культуры. Дрожжи, хранящиеся с добавлением сорбиновой кислоты, через 30 суток представляют собой чистую культуру без примесей посторонней микрофлоры [10]. Известно, что применение засевных дрожжей позволяет увеличить выработку и выход готового продукта.

Цель настоящей работы — получить засевные дрожжи *Rhodotorula* spp. и обосновать условия их хранения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами микробиологических исследований стала дрожжевая культура *Rhodotorula* spp., выделенная из пробиотической кормовой добавки *Rhodotorula fujianensis* (производитель Даляньский центр разработки водных кормов Цзяолун), и полученная на ее основе засевная биомасса. Для культивирования дрожжей использовали экспериментальную питательную среду оптимизированного состава (г/л): глюкоза — 20,0; пептон — 10,0; дрожжевой экстракт — 15,0; NaCl — 10,0; протеин конопли — 3,7; спинулина — 6,2; MgSO<sub>4</sub> — 0,15; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> — 0,25; твин — 1,0; ZnSO<sub>4</sub> — 0,11; ацетилсалициловая кислота — 0,11 [8].

Выделение и хранение, а также последующее исследование качественных микробиологических показателей засевных дрожжей проводили согласно схеме, показанной на рисунке 1. Применяли стандартные методы, получившие наибольшее распространение в микробиологической практике. Чистоту дрожжевой культуры определяли методом Дригальского. Методом истощающего посева

на среде YEPD выявляли жизнеспособные клетки дрожжей *Rhodotorula* spp., при этом визуально отмечали культуральные особенности роста на плотной питательной среде [5, 7]. Для изучения морфологии дрожжей готовили фиксированный препарат и окрашивали метиленовым синим, с последующим микропированием при увеличении ×100 раз с помощью микроскопа Микмед-5.

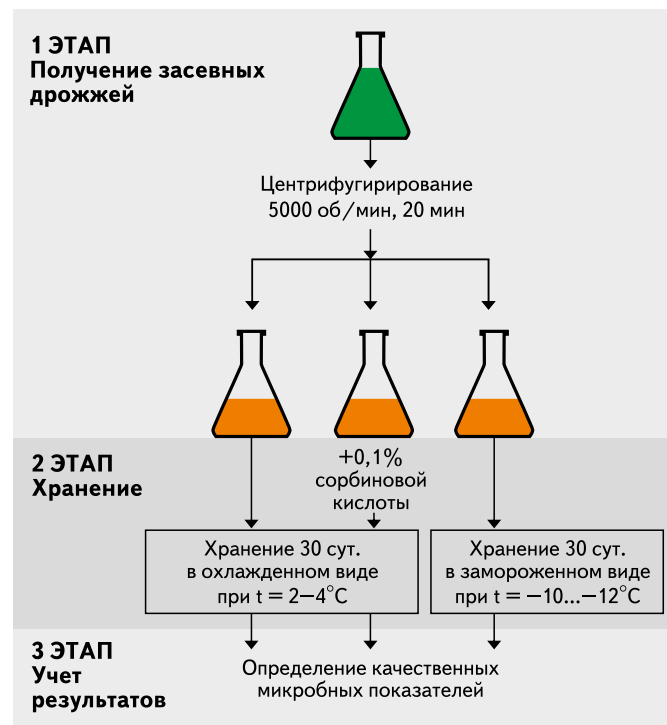


Рис. 1. Схема выделения и хранения засевных дрожжей

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В образцах засевных дрожжей, хранившихся в различных условиях, выявили присутствие посторонней микрофлоры, что свидетельствует о зараженности дрожжевой культуры (рис. 2).



### Литература

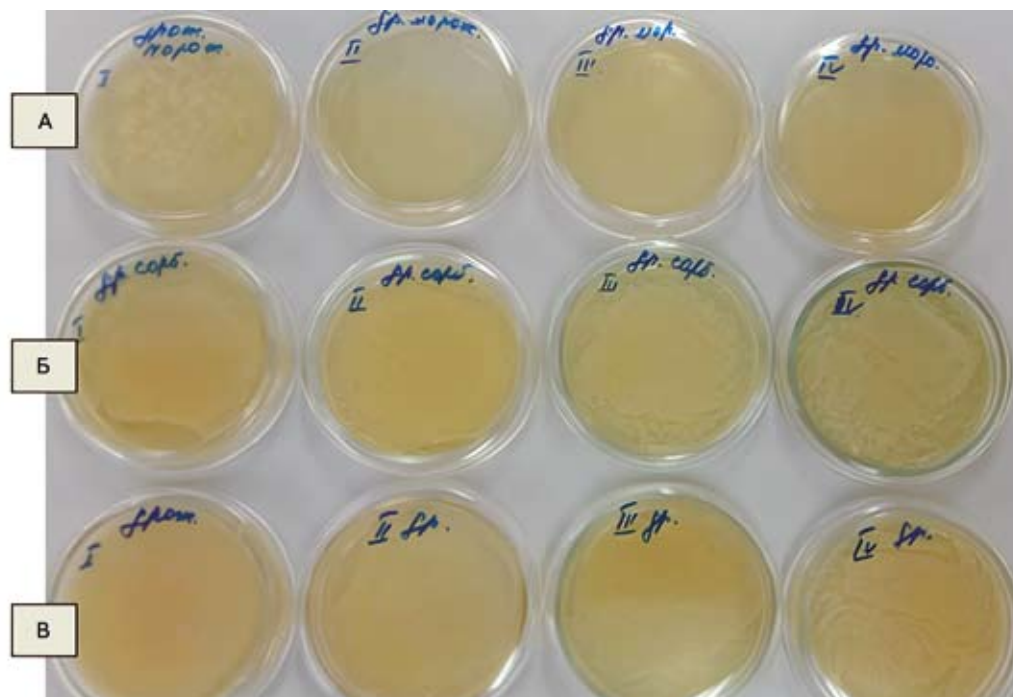
1. Barra, M. The Marine Fungi *Rhodotorula* sp. (Strain CNYC4007) as a Potential Feed Source for Fish Larvae Nutrition / M. Barra, A. Llanos-Rivera, F. Cruzat, N. Pino-Maureira, R. R. González-Saldia // *Marine Drugs*. — 2017. — Vol.15. — P. 369.
2. Ji-hui, Wang. Effect of potential probiotic *Rhodotorula benthica* D30 on the growth performance, digestive enzyme activity and immunity in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* / Ji-hui Wang, Liu-qun Zhao, Jin-feng Liu, Han Wang, Shan Xiao // *Fish & Shellfish Immunology*. — 2015. — Vol. 43. — P. 330.
3. Matrosova, I. V. Use the *Rhodotorula benthica* yeast to feeding of echinoderms / I. V. Matrosova, E. M. Panchishina, A. A. Politaeva, N. L. Kornienko // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Krasnoyarsk (Krasnoyarsk, 18–20 ноября 2020 г.). — Russian Federation: IOP Publishing Ltd. — 2021. — P. 42029.
4. Бейли, Дж., Оллис, Д. Основы биохимической инженерии. Ч.2. — М.: Мир. — 1989. — 592 с.
5. Егоров, Н. С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии: Практическое пособие / Под ред. Н. С. Егорова. 2-е изд. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1983. — 215 с.
6. Ефимова, М. В. Введение в прикладную биотехнологию. — Петропавловск-Камчатский: КамчатГТУ, 2004. — 95 с.
7. Панчишина, Е. М. Изучение культуральных особенностей дрожжей *Rhodotorula benthica*, выделенных из пробиотической кормовой добавки / Е. М. Панчишина, Н. Л. Корниенко, Е. В. Шадрин // *Научные труды Дальрыбвтуза*. — 2020. — Т. 52, № 2. — С. 5–11.
8. Панчишина, Е. М. Разработка оптимального состава питательной среды для культивирования дрожжей при выращивании беспозвоночных / Е. М. Панчишина, Н. Л. Корниенко, И. В. Матросова // *Рыбное хозяйство*. — 2022. — №2. — С. 76–80.
9. Политаева, А. А. Применение красных дрожжей *R. benthica* при культивировании личинок дальневосточного трепанга / А. А. Политаева // *Комплексные исследования в рыбохозяйственной отрасли. V Межд. науч.-техн. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых (Владивосток, 29 ноября 2019 г.): материалы докл., Владивосток*. — 2020. — С. 33–35.
10. Фараджева, Е. Д., Болотов, Н. А. Производство хлебопекарных дрожжей: практическое руководство. — СПб.: Изд-во «Профессия». — 2002. — 167 с.
11. Щелкунов, С. Н. Генетическая инженерия. — Новосибирск: Изд-во Новосибирского ун-та. — 1994. — 304 с.

**Рис. 2. Результаты определения чистоты культуры методом Дригальского:**

**А** — засевные дрожжи после хранения в замороженном виде;

**Б** — засевные дрожжи с сорбиновой кислотой после хранения в охлажденном виде;

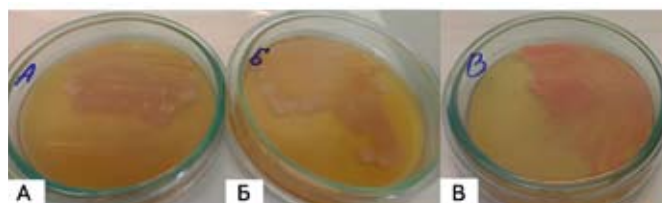
**В** — засевные дрожжи после хранения в охлажденном виде



При этом стоит отметить, что хранение дрожжей в замороженном виде способствовало снижению уровня обсемененности до единичных колоний.

Наличие жизнеспособных клеток *Rhodotorula* spp. коррелирует с показателями микробиологической чистоты. Так, при использовании метода истощающего посева на агаризованную среду YEPD в образцах, хранившихся в охлажденном состоянии, наблюдался культуральный рост, который нехарактерен для дрожжей *Rhodotorula* spp. (рис. 3 А, Б). Вероятно, посторонняя микрофлора проявила антагонистическое действие по отношению к дрожжевым клеткам. В то же время в образце, хранившемся в замороженном виде, выявлено присутствие живых клеток дрожжей *Rhodotorula* spp. с характерным культуральным ростом (рис. 3 В).

Для определения подлинности дрожжевых клеток приготовили препарат из изолированных колоний для изуче-



**Рис. 3. Результаты определения жизнеспособных клеток *Rhodotorula* spp. на агаризованной среде YEPD:**

**А** — засевные дрожжи после хранения в охлажденном виде;

**Б** — засевные дрожжи с сорбиновой кислотой после хранения в охлажденном виде;

**В** — засевные дрожжи после хранения в замороженном виде

*Literature*

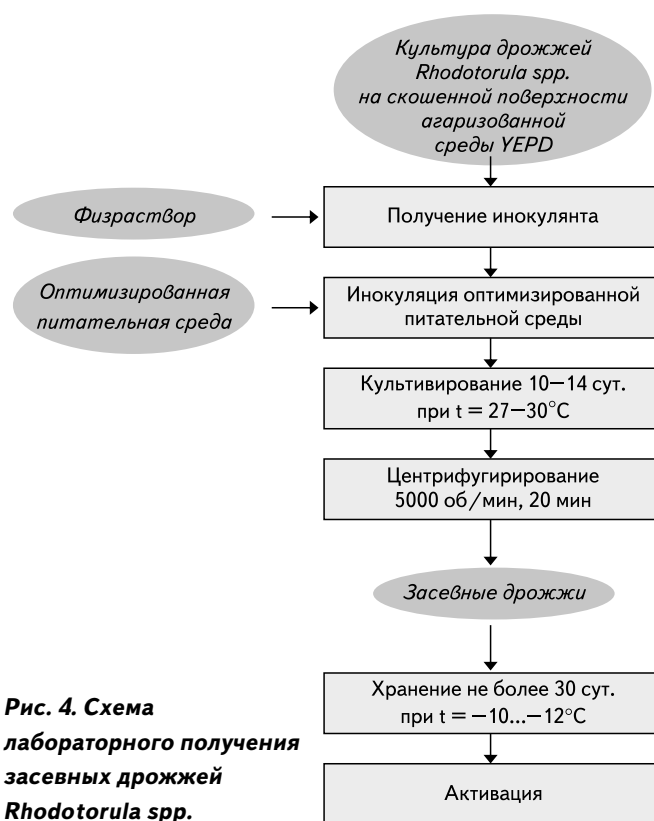
1. Barra, M. The Marine Fungi *Rhodotorula* sp. (Strain CNYC4007) as a Potential Feed Source for Fish Larvae Nutrition / M. Barra, A. Llanos-Rivera, F. Cruzat, N. Pino-Maureira, R. R. González-Saldía // *Marine Drugs*. — 2017. — Vol. 15. — P. 369.
2. Ji-hui, Wang. Effect of potential probiotic *Rhodotorula* benthica D30 on the growth performance, digestive enzyme activity and immunity in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* / Ji-hui Wang, Liu-qun Zhao, Jin-feng Liu, Han Wang, Shan Xiao // *Fish & Shellfish Immunology*. — 2015. — Vol. 43. — P. 330.
3. Matrosova, I. V. Use the *Rhodotorula* benthica yeast to feeding of echinoderms / I. V. Matrosova, E. M. Panchishina, A. A. Politaeva, N. L. Kornienko // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, Krasnoyarsk (Krasnoyarsk, 18–20 ноября 2020 г.). — Russian Federation: IOP Publishing Ltd. — 2021. — P. 42029.
4. Bailey, J., Ollis, D. Fundamentals of Biochemical Engineering. Part 2. — M.: Mir. — 1989. — 592 p.
5. Egorov, N. S. Guide to practical classes in microbiology: Practical guide / Ed. N.S. Egorova. 2nd ed. — M.: Publishing house Mosk. University, 1983. — 215 p.
6. Efimova, M. V. Introduction to applied biotechnology. — Petropavlovsk-Kamchatsky: Kamchat State Technical University, 2004. — 95 p.
7. Panchishina, E. M. Study of the cultural characteristics of the yeast *Rhodotorula* benthica isolated from a probiotic feed additive / E. M. Panchishina, N. L. Kornienko, E. V. Shadrina // *Scientific works of Dalrybvtuz*. — 2020. — T. 52, № 2. — P. 5–11.
8. Panchishina, E. M. Development of the optimal composition of a nutrient medium for the cultivation of yeast when growing invertebrates / E. M. Panchishina, N. L. Kornienko, I. V. Matrosova // *Fisheries*. — 2022. — № 2. — P. 76–80.
9. Politaeva, A. A. The use of red yeast *R. benthica* in the cultivation of Far Eastern sea cucumber larvae / A. A. Politaeva // *Comprehensive research in the fishing industry. V Int. scientific-technical conf. students, graduate students and young scientists (Vladivostok, November 29, 2019): materials of the report, Vladivostok*. — 2020. — pp. 33–35.
10. Faradzheva, E. D., Bolotov, N. A. Production of baker's yeast: a practical guide. — SP: Publishing house «Profession». — 2002. — 167 p.
11. Shchelkunov, S. N. Genetic engineering. — Novosibirsk: Novosibirsk University Publishing House. — 1994. — 304 p. ■

ния морфологических признаков. При микроскопировании мазка обнаружены крупные клетки овальной формы, свойственной дрожжам. Таким образом было установлено, что хранение засевных дрожжей при температуре от  $-10$  до  $-12^{\circ}\text{C}$  в течение 30 суток позволяет сохранить качество культуры. Создание и соблюдение асептических мер на этапе выделения засевных дрожжей, возможно, позволит сохранить их качество в охлажденном состоянии с добавлением консервантов или без них. Биотехнология кормового препарата на основе дрожжей *Rhodotorula* spp. предполагает лабораторный этап получения засевных дрожжей по схеме, приведенной на рисунке 4.

В лабораторных условиях для получения посевной суспензии со скошенной поверхности агаризованной питательной среды для роста дрожжей делают смыв культуры *Rhodotorula* spp. Затем инокулянт переносят в колбу с оптимизированным составом питательной среды (соотношение инокулянта и питательной среды 1:10). Культивирование проходит при температуре  $27-30^{\circ}\text{C}$  и естественном освещении в течение 10–14 суток [3]. После центрифугирования биомассу (засевные дрожжи) замораживают при температуре от  $-10$  до  $-12^{\circ}\text{C}$  и хранят не более 30 суток. Проведя предварительную активацию, засевные дрожжи используют в производстве кормового препарата.

## ВЫВОДЫ

Принимая во внимание, что производство кормового препарата предполагает использование лабораторных засевных дрожжей, были обоснованы условия хранения засевных дрожжей *Rhodotorula* spp. Установлено, что при воздействии температуры от  $-10$  до  $-12^{\circ}\text{C}$  в течение



**Рис. 4. Схема лабораторного получения засевных дрожжей *Rhodotorula* spp.**

30 суток возможно сохранить качество культуры. Применение засевных дрожжей позволит увеличить выработку и выход готового продукта, обеспечив дополнение или замещение (для некоторых объектов) традиционной кормовой основы (микроводорослей) эффективным видом питания гидробионтов при товарном выращивании на предприятиях марикультуры. ■