

Влияние различных значений температуры на морфологические свойства дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Исламмагомедова Эльвира Ахмедовна

Лаборатория биохимии и биотехнологии Прикаспийского института биологических ресурсов ДФИЦ РАН
Адрес: 367000, город Махачкала, ул. М. Гаджиева, дом 45
E-mail: islammagomedova@mail.ru

Халилова Эсланда Абдурахмановна

Лаборатория биохимии и биотехнологии Прикаспийского института биологических ресурсов ДФИЦ РАН
Адрес: 367000, город Махачкала, ул. М. Гаджиева, дом 45
E-mail: eslanda61@mail.ru

Котенко Светлана Цалистиновна

Лаборатория биохимии и биотехнологии Прикаспийского института биологических ресурсов ДФИЦ РАН
Адрес: 367000, город Махачкала, ул. М. Гаджиева, дом 45
E-mail: eslanda61@mail.ru

Гасанов Расул Закирович

Лаборатория биохимии и биотехнологии Прикаспийского института биологических ресурсов ДФИЦ РАН
Адрес: 367000, город Махачкала, ул. М. Гаджиева, дом 45
E-mail: gasanov@bk.ru

Абакарова Аида Алевдиновна

Лаборатория биохимии и биотехнологии Прикаспийского института биологических ресурсов ДФИЦ РАН
Адрес: 367000, город Махачкала, ул. М. Гаджиева, дом 45
E-mail: aida.abacarva@rambler.ru

Аливердиева Динара Алиевна

Лаборатория биохимии и биотехнологии Прикаспийского института биологических ресурсов ДФИЦ РАН
Адрес: 367000, город Махачкала, ул. М. Гаджиева, дом 45
E-mail: aliverdieva_d@mail.ru

Изучены морфологические свойства дрожжей *Saccharomyces* в условиях температурного стресса. В результате исследования влияния широкого диапазона температуры выявлены морфологические особенности клеток и гигантских колоний дрожжей, связанные с функциональным состоянием и плоидностью штаммов. Процесс адаптации сопровождался изменением формы клеток тетраплоидного штамма *S. cerevisiae* Y-503, для клеток гаплоида *S. cerevisiae* DAW-3а характерно сохранение сферической формы. В клетках обоих штаммов обнаружено накопление запасных питательных веществ, показана их способность к восстановлению жизненной активности после низкотемпературного стресса. В условиях экстремальной температуры обнаружено изменение формы и размеров колоний. Сравнительный анализ морфофизиологических параметров гигантских колоний показал, что в оптимальных условиях колонии *S. cerevisiae* Y-503 отличались более крупными размерами, при повышенной и низкой температуре штаммы одинаково реагировали на стресс. Дальнейшее изучение механизмов адаптации близкородственных штаммов дрожжей, отличающихся плоидностью, к различным видам стресса представляет интерес для фундаментальных исследований и биотехнологического применения.

Ключевые слова: адаптация, плоидность штаммов, температурный стресс, клетки, гигантские колонии

Введение

Изучение влияния стрессовых воздействий на микроорганизмы, механизмы адаптации дрожжей и их регуляция в настоящее время вызывают большой интерес исследователей, что объясняется поиском экстремофильных штаммов – перспективных объектов различных биотехнологий. Независимо от вида воздействия, происходящие в условиях стресса биохимические процессы являются фундаментальными по своей природе и отражают адаптацию к конкретным ситуациям. Биохимические преобразования дрожжей в экстремальных условиях оказывают влияние и на их морфологические свойства. Характеристика клеток и гигантских колоний является параметром, по которому можно оценивать действие стресса, в том числе температурного, на морфологию *Saccharomyces*. Известно, что генетические различия штаммов *S. cerevisiae* определяют их жизнеспособность в экстремальных условиях, при этом одним из механизмов адаптации дрожжей является полиплоидия. Изучение морфологических свойств штаммов различной плоидности в условиях температурного стресса представляет интерес как для научных исследований адаптивных способностей *Saccharomyces*, так и для разработки пищевых биотехнологий с использованием дрожжей, толерантных к экстремальным условиям.

Литературный обзор

Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* обладают высокой адаптивной способностью, обеспечивающей их существование в экстремальных условиях среды, в том числе, уникальных природных экосистемах (Бирюкова, 2011, с. 344-348; Brown, Cowen, Pietro, Quinn, 2017, p. 1011-1021; Калюжин, 2011, с. 140-150). Исследование влияния различных видов стресса на метаболизм дрожжей, изучение механизмов их адаптации обусловлено поиском и селекцией экстремофильных штаммов, представляющих интерес для использования в биотехнологических процессах (Borrull, Lopez-Martínez, Miro-Abella, Salvado, Poblet, Cordero-Otero, Rozes, 2016, p. 20-29; Caspeta, Nielsen, 2015, p. 431-446). В настоящее время особое внимание уделяется действию температуры, критические значения которой могут нарушить естественную конформацию белка в клетке. В процессе адаптации к повышенной температуре увеличивается уровень трегалозы среди угле-

водов цитозоля, активность антиоксидантных ферментов, происходят изменения в микровязкости липидного бислоя, модуляции в изомерном составе жирных кислот и длине их цепей (Brown, Cowen, Pietro, Quinn, 2017, p. 1011; Аринбасарова, Бирюкова, Меденцев, 2015, p. 122-131; Бирюкова, Меденцев, Аринбасарова, Акименко, 2007, с. 184-190; Терёшина, Меморская, Котлова, Феофилова, 2010, с. 45-51; Феофилова, Кузнецова, 2008, с. 676-672). Универсальным биохимическим механизмом адаптации к стрессовым воздействиям, в частности, к низкой температуре, является торможение жизненной активности, связанное со снижением уровня метаболических процессов (Феофилова, 2003, с. 1-24). Низкотемпературный стресс оказывает влияние, в первую очередь, на состав липидов мембран; изменяется содержание липидов, особенно полиненасыщенных жирных кислот; витаминов; активность оксидоредуктаз; основные белки вегетативной клеточной стенки заменяются на маннопротеины (Paget, Schwartz, Delneri, 2014, p. 5241-5257; Redón, Guillamón, Mas, Rozès, 2011, p. 517-527); происходит изменение содержания в клетке субстратов энергетического обмена (Аливердиева, Мамаев, Лагутина, Шольц, 2006, с. 50-58).

Происходящие в условиях температурного стресса изменения биохимических процессов, обуславливающих жизнеспособность клеток, оказывают влияние и на морфологические свойства *Saccharomyces* (Reis, Antonangelo, Bassi, Colombi, Ceccato-Antonini, 2017, p. 268-274; Zemančíkova, Kodedova, Papoušková, Sychrova, 2018, p. 217-227). Характеристика гигантских колоний является одним из показателей, по которому можно оценивать действие температуры на морфологию дрожжей. Закономерности образования колоний с определенными адаптивными свойствами отражают изменения в клеточном метаболизме и среде культивирования (Viana, Portugal, Cruz, 2017, p. 1422-1430; Ruusuvaori, Lin, Scott, Tan, Sorsa, Kallio, Nykter, Yli-Harja, Shmulevich, Dudley, 2014, p. 18-27).

Известно, что генетические различия штаммов *S. cerevisiae* определяют их жизнеспособность и специфическую адаптацию в экстремальных условиях. Одним из механизмов адаптации дрожжей является полиплоидия, обеспечивающая в условиях стресса преимущество определенного фенотипа (Zhu, Sherlock, Petrov, 2016, p. 1-13; Storchova, 2014, p. 421-430; Anderson, Roberts, Zhang, Kelly, Kendall, Lee, Gerstenberger, Koenig, Kabeche, Gladfelter, 2015, p. 1129-1140; Zadragec, Kwolek-Mirek, Alabrudzińska, Skoneczna, 2018,

р. 1-17). В настоящее время используются традиционные генетические методы для получения полиплоидных штаммов дрожжей *S. cerevisiae*, проявляющих физиологическую активность при экстремальных температурах и обладающих важными свойствами промышленных микроорганизмов (Gysler, Niederberger, 2002, p. 210-216).

Проведенными ранее исследованиями показано, что на основе геотермальной воды в составе среды культивирования полиплоидного штамма *S. cerevisiae* Y-503 разработаны ресурсосберегающие технологии: в процессе аэробного культивирования были получены прессованные и сушеные хлебопекарные дрожжи длительного хранения, которые отличались большим выходом и улучшенными биотехнологическими показателями; в анаэробных условиях установлена интенсификация процесса спиртового брожения (Абрамов, 1987; Халилова, 2013). Нами ранее были изучены морфологические особенности тетраплоида *S. cerevisiae* Y-503 и гаплоида *S. cerevisiae* DAW-3a в результате влияния pH – и осмо – стресса. Установлено, что морфологические свойства штаммов связаны не только с их функциональным состоянием, но и плоидностью (Исламмагомедова, Халилова, Котенко, Гасанов, Аливердиева, 2018; с. 219-225). Результаты изучения морфофизиологических особенностей дрожжей в условиях экстремальной температуры могут быть использованы как в научных исследованиях (Kuroda, Ueda, 2017, p. 599-605; Sanfelice, Temussi, 2016, p. 4-8; López-Malo, Querol, Guillamon, 2013, p. 601-635; Novo, Beltran, Torija, Poblet, Rozès, Guillamón, Mas, 2003, p. 153-161; Pucci, Rooman, 2017, p. 117-128); так и для дальнейшего применения в различных биотехнологиях (Бежуашвили, Джигаури, Сихуралидзе, 2009, с. 87-89; Tezaki, Iwama, Kobayashi, Shiwa, Yoshikawa, Ohta, Horiuchi, Fukuda, 2017, p. 165-170; Cordova, Alper, 2018, p. 8809-8816; Ballester-Tomás, Randez-Gil, Pérez-Torrado, Prieto, 2015, p. 100-107; Muñoz-Bernal, Deery, Rodríguez, Cantoral, Howard, Feret, Natera, Lilley, Fernández-Acero, 2016; p. 576-592; Ortiz-Tovar, Pérez-Torrado, Adam, Barrio, Quero, 2018; p. 12-19).

Теоретическое обоснование

В настоящее время актуальны научные исследования и разработки пищевых биотехнологий с использованием биохимически активных штаммов, устойчивых к тепловому воздействию, этанолу, экстремальным значениям pH, высоким концентрациям солей и окислительному стрессу. Известно, что большинство используемых в промышленности дрожжей являются полипло-

идами. Ранее установлено, что тетраплоидный штамм *S. cerevisiae* Y-503, полученный в результате лазерного воздействия, и его дочерний гаплоид *S. cerevisiae* DAW-3a характеризуются устойчивостью к критическим значениям солей и pH; обнаружена зависимость толерантности штаммов от их плоидности. Планируется дальнейшее изучение влияния различных стресс – факторов, в том числе, экстремальной температуры, на особенности метаболизма дрожжей *Saccharomyces*, представляющих интерес для применения в биотехнологических процессах.

Цель исследования

Сравнительное изучение морфологических особенностей клеток и гигантских колоний штаммов – тетраплоида *S. cerevisiae* Y-503 и гаплоида *S. cerevisiae* DAW-3a в условиях влияния широкого диапазона температуры.

Задачи исследования

- Исследование влияния низкой температуры на морфологические параметры клеток и гигантских колоний *S. cerevisiae* Y-503 и *S. cerevisiae* DAW-3a;
- сравнительное изучение морфологических особенностей клеток и гигантских колоний штаммов различной плоидности в условиях оптимальной температуры после холодовой адаптации;
- исследование влияния оптимальной и повышенной температуры на морфологические параметры клеток и гигантских колоний *S. cerevisiae* Y-503 и DAW-3a

Объекты и методы исследования

Объектами исследований являлись штаммы *S. cerevisiae* Y-503 и *S. cerevisiae* DAW-3a, хранящиеся в коллекции лаборатории биохимии и биотехнологии ПИБР ДФИЦ РАН. Штамм Y-503 получен в результате лазерного воздействия на промышленный штамм 73 в Прикаспийском институте биологических ресурсов ДФИЦ РАН (Абрамов, 1987), DAW-3a является потомком линии штамма Y-503. Принадлежность штаммов Y-503 (гетерозиготный тетраплоид) и DAW-3a (гетероталличный гаплоид) к таксону *S. cerevisiae* была подтверждена с помощью молекулярно-генетических методов (Аливердиева, Мамаев, Лагутина, 2009, с. 578).

Исходным материалом служили 3-х суточные культуры дрожжей, выращенные в пробирках на

среде YPD. Гигантские колонии дрожжей выращивались на твердой среде YPD, содержащей глюкозу (D-глюкоза) – 2,0% (Merk, Германия), пептон – 0,5% (BD, США), дрожжевой экстракт – 0,5% (BD, США) и агар-агар – 2,5% (Difco, Нидерланды), для коррекции кислотности среды использовали 1N HCl (Россия). Культивирование проводилось при температуре +4°, +30° и +37 °C, pH 4,5 на чашках Петри в течение трех и двадцати суток. Морфология клеток колоний (способ вегетативного размножения, форма, величина клеток) изучалась с использованием светового микроскопа. Для определения морфологического типа колоний основным критерием служила совокупность стандартных признаков: структуры, поверхности, профиля, края, формы, размеров, цвета. В работе использовались приборы: инкубатор микробиологический BINDER BF 115 (Германия), бокс ламинарный ВЛ-12 1000 (Россия), микроскоп CX21 (Olympus, Япония), автоклав Tuttnauer 2540 (Израиль), весы аналитические DV215CD (Ohaus Discovery, Швейцария), шкаф сушильный SNOL 67/350 (Utenos, Литва), pH - метр Анион 4100 (Анион, Россия).

Статистическую обработку результатов проводили методом малой выборки, с вычислением средних арифметических значений и среднестатистических ошибок.

Результаты и их обсуждение

В результате исследования процесса адаптации дрожжей к различным значениям температуры – пониженной +4 °C и повышенной +37 °C (оптимальной для роста клеток дрожжей считается температура +28 – +30 °C) обнаружены морфологические изменения гигантских колоний и образующих их клеток. 3-х суточные культуры дрожжей, выращенные в пробирках на среде YPD, служили в качестве исходного материала. Клетки тетраплоида Y-503 в основном имели овальную (до 60%), овально-округлую (25%) и удлинённую форму (до 15%). Округлая форма являлась доминирующей для гаплоида DAW-3a (85%), клетки округло-овальной, овальной и яйцеобразной формы составляли 15%. Наши результаты исследований подтверждаются литературными данными, так как известно, что форма дрожжей зависит от пloidности; благодаря строению цитоскелета полиплоидные клетки являются более эллиптическими (Zadrag-Tecza, Kwolek-Mirek, Alabrudzińska, Skoneczna, 2018, p. 4). Средний размер клеток Y-503 – $9 \times 11 \pm 0,4$ мкм, DAW-3a – $6 \times 6 \pm 0,3$ мкм.

В обоих вариантах обнаружены почкующиеся клетки, крупные вакуоли, зернистая цитоплазма, подтверждающая присутствие запасных питательных веществ.

Ранее было установлено, что оптимальным для роста клеток и колоний являлось значение pH 4,5 среды при 30 °C (Исламмагомедова, Халилова, Котенко, Гасанов, Аливердиева, 2018, с. 221). Отмечается, что в данных условиях клетки имели характерные для исследуемых штаммов формы: Y-503 – овальную (70%), овально-округлую (20%), удлинённую (до 10%); DAW-3a – в основном округлую (до 90%). Средний размер клеток Y-503 составлял $9 \times 11 \pm 0,4$ мкм, DAW-3a – $6 \times 6 \pm 0,3$ мкм.

В условиях пониженной температуры процессы жизнедеятельности дрожжей резко замедляются, что отразилось на параметрах клетки. Для DAW-3a характерно сохранение сферической формы (до 90%), для Y-503 адаптация к низкой температуре сопровождалась изменением формы – клетки становились более округлыми: овально-округлые (50%), овальные (40%), округлые (до 10%), удлинённые (единицы). Размер клеток также несколько уменьшался: в среднем $8 \times 9 \pm 0,4$ мкм (Y-503), $5 \times 5 \pm 0,3$ мкм (DAW-3a) (Рисунок 1).

Обнаружено, что выращенные при температуре 30 °C колонии обоих штаммов имели округлую, в виде цветка форму; радиально исчерченную поверхность; плоский, со слегка выпуклым центром профиль; пастообразную структуру и светло-бежевый цвет (Рисунок 2). При этом наблюдалось различие в размерах – колонии тетраплоида Y-503 были больше в 1,27 раза по сравнению с гаплоидом DAW-3a.

Колонии Y-503 и DAW-3a, выращенные при температуре 4 °C, не отличались и имели неправильную форму, пастообразную структуру, светло-бежевый цвет и размеры $0,016 \text{ см}^2$. Известно, что наибольшее ингибирующее влияние низкой температуры характерно для начальной стадии культивирования дрожжей. При данной температуре дрожжевые клетки впадают в состояние анабиоза (Косив, Березовская, Паляница, Панькив, Харандюк, 2014, с. 79-83). Несмотря на специфические реакции исследуемых штаммов, результаты показали, что при 4 °C не наблюдалось преимущества тетраплоида Y-503.

В хлебопекарной промышленности температурный интервал от 0 до +4 °C является оптимальным для хранения свежих прессованных дрожжей. В винодельческих процессах холодный

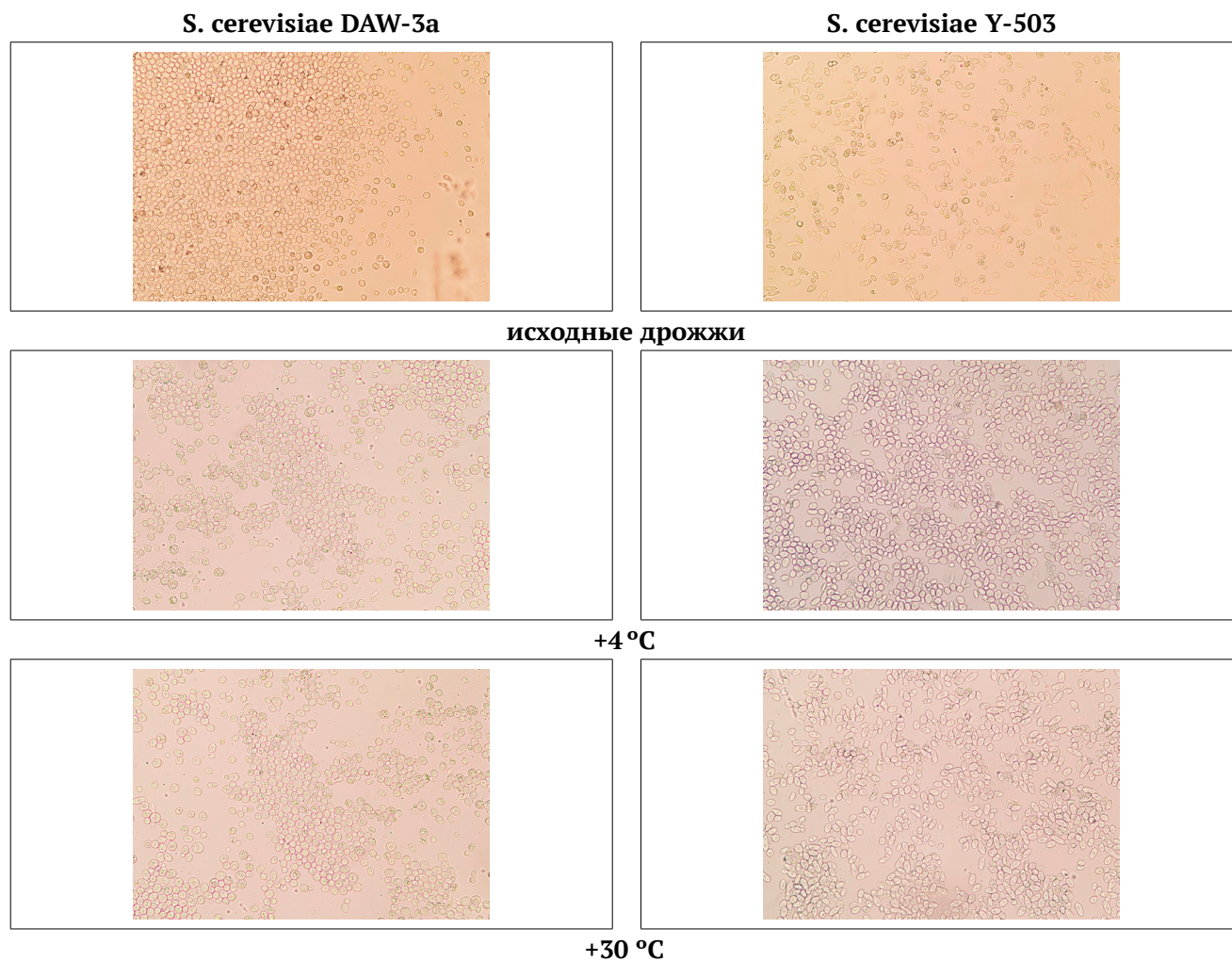


Рисунок 1. Влияние температуры +4° и +30 °C на морфологические параметры клеток *S. cerevisiae* DAW-3a и *S. cerevisiae* Y-503 (3 суток).

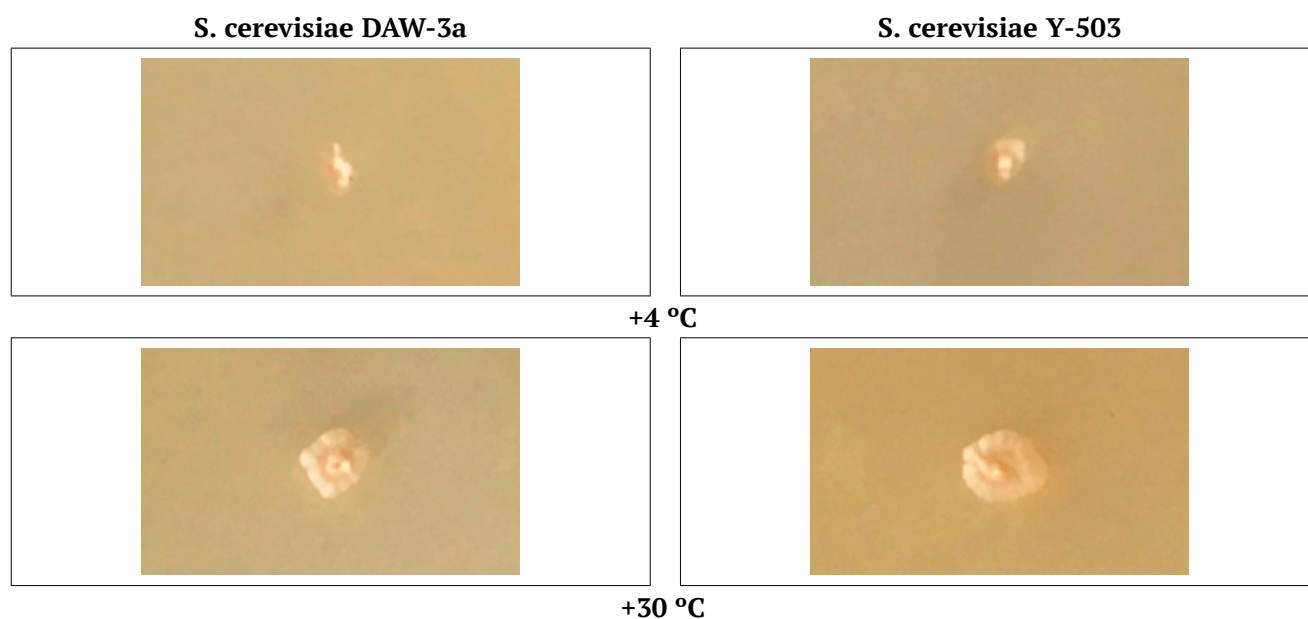


Рисунок 2. Влияние температуры +4 °C и +30 °C на морфологические параметры гигантских колоний *S. cerevisiae* DAW-3a и *S. cerevisiae* Y-503 (3 суток).

шок может вызвать быстрый и высокодинамичный стресс-ответ, а длительное воздействие приводит к установлению физиологического состояния клетки, в котором регуляторные механизмы, такие как экспрессия генов, полностью адаптируются к условиям среды (López-Malo, Querol, Guillamon, 2013, p. 601-635).

Способность клетки к восстановлению жизненной активности после низкотемпературного стресса находит применение в пищевых биотехнологиях. При смене температуры от +4 °C к +30 °C проявляется свойство терморезистентности штаммов, позволяющее в переходных условиях в течение нескольких периодов удвоения численности клеток сохранять повышенную скорость генерации, что обусловлено адаптивной активностью хемиосмотической системы дрожжей, приобретенной в процессе эволюции (Калюжин, 2011, с. 141). В условиях нашего эксперимента штаммы Y-503 и DAW-3a, неактивные при температуре +4 °C, восстанавливают свою жизнеспособность при +30 °C. Установлено, что после холодовой адаптации и культивирования в течение двадцати суток при +30 °C клетки DAW-3a имели характерную для них округлую форму, Y-503 – в основном овальную (60%) и овально-округлую (30%), округлые и удлинённые клетки составляли 10%. Средний размер клеток Y-503 – $8 \times 10 \pm 0,4$ мкм, DAW-3a – $6 \times 6 \pm 0,3$ мкм. Гигантские колонии Y-503 и DAW-3a имели округлую, в виде цветка форму; радиально исчерченную поверхность; плоский, с выпуклым центром профиль; пастообразную структуру, бежевый цвет с легкой розовинкой в центре, одинаковые размеры – $1,45 \text{ см}^2$ (Рисунок 3).

Установлено, что при температуре 37 °C (культивирование в течение двадцати суток) штаммы Y-503 и DAW-3a проявили достаточную устойчивость к гипертермии. В условиях повышенной температуры для DAW-3a характерна округлая форма клеток. Y-503 отличался разнообразием:

большинство клеток имело овально-округлую форму, 25% – округлую, до 15% – удлинённую, характерную только для данного штамма. Установлено варьирование размеров клеток дрожжей, при этом средний размер клеток Y-503 составлял $8 \times 10 \pm 0,4$ мкм, DAW-3a – $7 \times 7 \pm 0,3$ мкм. По сравнению с вариантом при 30 °C обнаружено, что клетки DAW-3a несколько увеличены, что находит отражение в литературе (Жук, Степченкова, Павлов, Инге-Вечтомов, 2016, с. 936-946). Выявлено наличие зернистой цитоплазмы, липидных включений. С увеличением температуры колонии обоих штаммов приобретали округло-овальную форму в виде цветка; сохранялись достаточно плоский профиль, радиально исчерченная поверхность и структура. Цвет колоний Y-503 не менялся; колонии DAW-3a приобретали розоватый оттенок. Размеры колоний были практически одинаковыми – $2,27 \text{ см}^2$, преимущества тетраплоида Y-503 в условиях повышенной температуры не наблюдалось (Рисунок 4).

Колонии исследуемых дрожжей, выращенные в течение двадцати суток, при температуре +4 °C не отличались и имели размеры $0,016 \text{ см}^2$, при +30 °C колонии штамма Y-503 были больше в 1,3 раза по сравнению с DAW-3a.

Результаты сравнительного анализа морфологических параметров Y-503 и DAW-3a в зависимости от температуры и пloidности показали, что преимущество тетраплоида Y-503 наблюдалось в оптимальных условиях. В условиях повышенной и низкой температуры штаммы одинаково реагировали на стресс (Рисунок 5).

Выводы

В результате исследования влияния температурного стресса выявлено изменение морфологических свойств дрожжей *Saccharomyces*,

S. cerevisiae DAW-3a



S. cerevisiae Y-503



Рисунок 3. Влияние температуры 30 °C после холодовой адаптации (3-е суток при 4 °C) на морфологические параметры гигантских колоний *S. cerevisiae* DAW-3a и *S. cerevisiae* Y-503 (20 суток).

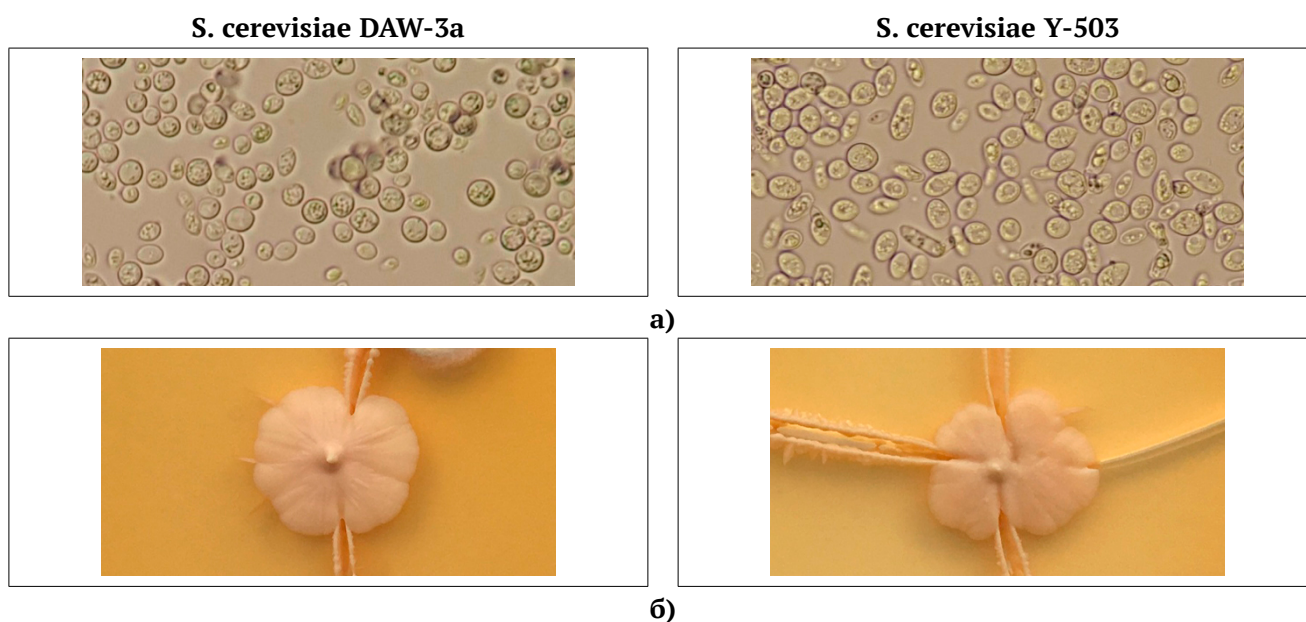


Рисунок 4. Влияние температуры 37 °C на морфологические параметры клеток (а) и гигантских колоний (б) *S. cerevisiae* DAW-3a и *S. cerevisiae* Y-503 (20 суток).

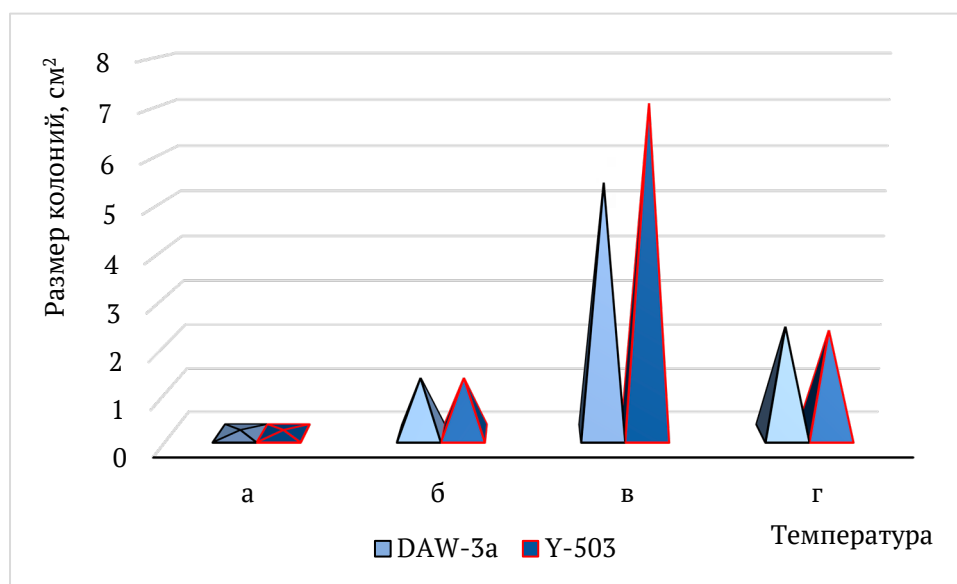


Рисунок 5. Изменение размеров гигантских колоний *S. cerevisiae* DAW-3a и *S. cerevisiae* Y-503 (20 суток) в зависимости от температуры: 4 °C (а), 30 °C после 3-х суточной холодовой адаптации при 4 °C (б), 30 °C (в), 37 °C (г).

связанных с функциональным состоянием и плоидностью штаммов.

Процесс адаптации к широкому диапазону температуры для тетраплоида *S. cerevisiae* Y-503 сопровождался изменением формы клеток, для клеток гаплоидного штамма *S. cerevisiae* DAW-3a было характерно сохранение сферической формы.

В клетках обоих штаммов обнаружено накопление запасных питательных веществ, показана их способность к восстановлению жизненной активности после низкотемпературного стресса.

В условиях экстремальной температуры обнаружено изменение формы и размеров колоний обоих штаммов.

Сравнительный анализ морфофизиологических параметров гигантских колоний показал, что в оптимальных условиях колонии *S. cerevisiae* Y-503 отличались более крупными размерами, при повышенной и низкой температуре штаммы одинаково реагировали на стресс.

Дальнейшее изучение механизмов адаптации близкородственных штаммов дрожжей, отличающихся плоидностью, к различным видам стресса представляет интерес для фундаментальных исследований и биотехнологического применения.

Литература

- Бирюкова Е.Н., Меденцев А.Г., Аринбасарова А.Ю., Акименко В.К. Адаптация дрожжей *Yarrowia lipolytica* к тепловому воздействию // Микробиология. 2007. Т. 76. № 2. С. 184-190. doi: 10.1134/S0026261707020051
- Аливердиева Д.А., Мамаев Д.В., Лагутина Л.С. Транспорт сукцината в клетки *Saccharomyces cerevisiae* после продолжительной холодовой преинкубации // Прикладная биохимия и микробиология. 2009. № 45(5). С. 577-585. doi: 10.1134/S0003683809050111
- Аринбасарова А.Ю., Бирюкова Е.Н., Меденцев А.Г. Антистрессовые системы дрожжей *Yarrowia lipolytica* (Обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2015. № 51(2). С. 122-131. doi: 10.7868/S0555109915020026
- Бежуашвили М., Джигаури Г., Сихуралидзе Т. Накопление высших спиртов в естественно-розовых виноматериалах, приготовленных из сорта винограда Асуретули шави // Виноградарство и виноделие. 2009. Т. 39. С. 87-89.
- 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. Общая биология. 2018. Т. 20. № 5(2). С. 219-225.
- Аринбасарова А.Ю., Бирюкова Е.Н., Меденцев А.Г., Сорокин В.В., Сузина Н.Е. Изменение ультраструктуры клеток *Yarrowia lipolytica* в стрессовых условиях // Микробиология. 2011. Т. 80. № 3. С. 344-348. doi: 10.1134/S0026261711030040
- Калужин В.А. Терморезистентность у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Журнал общей биологии. 2011. Т. 72. № 2. С. 140-150.
- Аливердиева Д.А., Мамаев Д.В., Лагутина Л.С., Шольц К.Ф. Особенности изменения содержания субстратов эндогенного дыхания в клетках *Saccharomyces cerevisiae* при низкой температуре // Биохимия. 2006. № 71(1). С. 50-58. doi: 10.1134/S0006297906010056
- Жук А.С., Степченкова Е.И., Павлов Ю.И., Инге-Вечтомов С.Г. Оценка эффективности методов синхронизации клеточных делений у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Цитология. 2016. Т. 58. № 12. С. 936-946.
- Терёшина В.М., Меморская А.С., Котлова Е.Р., Феофилова Е.П. Состав мембранных липидов и углеводов цитозоля в условиях теплового шока у *Aspergillus niger* // Микробиология. 2010. Т. 79. № 1. С. 45-51.
- Способ получения этанола: пат. 2495936 Российская Федерация, МПК C12P 7/06. № 2012117001/10 / Халилова Э.А., Котенко С.Ц., Исламмагомедова Э.А., Аливердиева Д.А.; заявитель и патентообладатель Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанского федерального исследовательского центра РАН; заявл. 26.04.2012; опубл. 20.10.2013, Бюл. № 29. 7 с.
- Косив Р.Б., Березовская Н.И., Паляница Л.Я., Панькив Н.И., Харандюк Т.В. Удельная скорость размножения спиртовых дрожжей // Научный вестник Львовского национального университета ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого. 2014. Т. 1. № 2-4(59). С. 79-83.
- Феофилова Е.П. Торможение жизненной активности как универсальный биохимический механизм адаптации микроорганизмов к стрессовым воздействиям (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2003. Т. 39. № 1. С. 1-24.
- Феофилова Е.П., Кузнецова Л.С. Участие ацильных цепей липидов в биохимической адаптации мукорового гриба *Cunninghamella japonica* к температуре // Прикладная биохимия и микробиология. 2008. Т. 44. № 6. С. 676-682.
- Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* Y-503, используемый в производстве хлебобулочных изделий: а. с. 1284998 СССР, МПК C12N 1/018. № 3881042/28-13 / Абрамов Ш.А., Котенко С.Ц., Далгатова Б.И., Маммаев А.Т., Пейсахова Д.С.; заявитель и патентообладатель Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанского федерального исследовательского центра РАН; заявл. 09.04.85; опубл. 23.01.87, Бюл. № 3. 5 с.
- Ortiz-Tovar G., Pérez-Torrado R., Adam A.C., Barrio E., Quero A. A comparison of the performance of natural hybrids *Saccharomyces cerevisiae* ×

- Saccharomyces kudriavzevii* at low temperatures reveals the crucial role of their *S. kudriavzevii* genomic contribution // Int. J. Food Microbiol. 2018. No. 274. Pp. 12-19. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro
- Muñoz-Bernal E., Deery M.J., Rodríguez M.E., Cantoral J.M., Howard J., Feret R., Natera R., Lilley K.S., Fernández-Acero F.J. Analysis of temperature-mediated changes in the wine yeast *Saccharomyces bayanus* var *uvarum*. An oenological study of how the protein content influences wine quality // Proteomics. 2016. No. 16(4). Pp. 576-92. doi: 10.1002/pmic.201500137
- Reis V.R., Antonangelo A.T.B.F., Bassi A.P.G., Colombi D., Ceccato-Antonini S. Bioethanol strains of *Saccharomyces cerevisiae* characterized by microsatellite and stress resistance // Braz. J. Microbiol. 2017. No. 48(2). Pp. 268-274. doi.org/10.1016/j.bjm.2016.09.017
- Caspeta L., Nielsen J. Thermotolerant yeast strains adapted by Laboratory evolution show trade-off at ancestral temperatures and preadaptation to other stresses // MBio. 2015. No. 6(4). Pp. 431-446. doi: 10.1128/mBio.00431-15
- 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. Pp. 1-17. https://doi.org/10.1155/2018/1898421
- Novo M.T., Beltran G., Torija M.J., Poblet M., Rozès N., Guillamón J.M., Mas A. Changes in wine yeast storage carbohydrate levels during preadaptation, rehydration and low temperature fermentations // International Journal of Food Microbiology. 2003. No. 86(1-2). Pp. 153-161. doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00253-8
- Cordova L.T., Alper H.S. Production of α -linolenic acid in *Yarrowia lipolytica* using low-temperature fermentation // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2018. No. 102(20). Pp. 8809-8816. doi: 10.1007/s00253-018-9349-y
- Redón M., Guillamón J.M., Mas A., Rozès N. Effect of growth temperature on yeast lipid composition // European Food Research and Technology. 2011. No. 232(3). Pp. 517-527. doi 10.1007/s00217-010-1415-3
- Tezaki S., Iwama R., Kobayashi S., Shiwa Y., Yoshikawa H., Ohta A., Horiuchi H., Fukuda R. $\Delta 12$ -fatty acid desaturase is involved in growth at low temperature in yeast *Yarrowia lipolytica* // Biochem Biophys Res Commun. 2017. No. 488(1). Pp. 165-170. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.05.028
- Zemančíková J., Kodedova M., Papoušková K., Sychrova H. Four *Saccharomyces* species differ in their tolerance to various stresses though they have similar basic physiological parameters // Folia Microbiol. 2018. No. 63. Pp. 217-227. doi: org/10.1007/s12223-017-0559-y
- Gysler C., Niederberger P. The development of low temperature inactive (Lti) baker's yeast // Applied Microbiology and Biotechnology. 2002. No. 58(2). Pp. 210-216.
- Kuroda K., Ueda M. Engineering of global regulators and cell surface properties toward enhancing stress tolerance in *Saccharomyces cerevisiae* // J. Biosci. Bioeng. 2017. No. 124(6). Pp. 599-605. doi: 10.1016/j.jbiosc.2017.06.010
- López-Malo M., Querol A., Guillaumon J.M. Metabolomic Comparison of *Saccharomyces cerevisiae* and the Cryotolerant Species *S. bayanus* var. *uvarum* and *S. kudriavzevii* during Wine Fermentation at Low Temperature // PLOS ONE. 2013. No. 8(3). Pp. 601-635. doi.org/10.1371/journal.pone.0060135
- Borrull A., Lopez-Martínez G., Miro-Abella E., Salvado Z., Poblet M., Cordero-Otero R., Rozes N. New insights into the physiological state of *Saccharomyces cerevisiae* during ethanol acclimation for producing sparkling wines // Food Microbiology. 2016. No. 54. Pp. 20 - 29.
- Paget C.M., Schwartz J.M., Delneri D. Environmental systems biology of cold-tolerant phenotype in *Saccharomyces* species adapted to grow at different temperatures // Mol Ecol. 2014. No. 23(21). Pp. 5241-57. doi: 10.1111/mec.12930
- Anderson C.A., Roberts S., Zhang H., Kelly C.M., Kendall A., Lee C., Gerstenberger J., Koenig A.B., Kabeche R., Gladfelter A.S. Ploidy variation in multinucleate cells changes under stress // Mol. Biol. Cell. 2015. No. 26(6). Pp. 1129-1140. doi: 10.1091/mbc.E14-09-1375
- Pucci F., Rooman M. Physical and molecular bases of protein thermal stability and cold adaptation // Curr. Opin. Struct. Biol. 2017. No. 42. Pp. 117-128. doi: 10.1016/j.sbi
- Ruusuvuori P., Lin J., Scott A., Tan Z., Sorsa S., Kallio A., Nykter M., Yli-Harja O., Shmulevich I., Dudley A. Quantitative analysis of colony morphology in yeast // Biotechniques. 2014. No. 56(1). Pp. 18-27. doi:10.2144/000114123
- Ballester-Tomás L., Rande-Gil F., Pérez-Torrado R., Prieto J.A. Redox engineering by ectopic expression of glutamate dehydrogenase genes links NADPH availability and NADH oxidation with cold growth in *Saccharomyces cerevisiae* // Microbial Cell Factories. 2015. No. 14(1). Pp. 100. doi: 10.1186/s12934-015-0289-2
- Sanfelice D., Temussi P.A. Cold denaturation as a tool to measure protein stability // Biophys Chem. 2016. No. 208. Pp. 4-8. doi: 10.1016/j.bpc.2015.05.007

- Storchova Z. Ploidy changes and genome stability in yeast // *Yeast*. 2014. No. 31. Pp. 421-430. doi: 10.1002/yea.3037
- Brown A.J.P., Cowen L.E., Pietro A.D., Quinn J. Stress adaptation // *Microbiol. Spectr.* 2017. No. 5(4). Pp. 1-10. doi: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0048-2016
- Viana N.C., Portugal C., Cruz S.H. Morphophysiological and molecular characterization of wild yeast isolates from industrial ethanol process // *African Journal of Microbiology Research*. 2017. No. 11(37). Pp. 1422-1430. doi: 10.5897/AJMR2017.8691
- Zhu Y.O., Sherlock G., Petrov D.A. Whole Genome Analysis of 132 Clinical *Saccharomyces cerevisiae* Strains Reveals Extensive Ploidy Variation // *G3: Genes|Genomes|Genetics*. 2016. No. X. Pp. 1-13. doi:10.1534/g3.116.029397

Influence of Different Temperature Values on the Morphological Properties of *Saccharomyces cerevisiae* Yeast

Elvira A. Islammagomedova

*Laboratory Biochemistry and Biotechnology of Caspian Institute of Biological Resources of DFIC RAS
45, M. Gadzhieva str., Makhachkala, 367000, Russian Federation
E-mail: islammagomedova@mail.ru*

Eslanda A. Khalilova

*Laboratory Biochemistry and Biotechnology of Caspian Institute of Biological Resources of DFIC RAS
45, M. Gadzhieva str., Makhachkala, 367000, Russian Federation
E-mail: eslanda61@mail.ru*

Svetlana T. Kotenko

*Laboratory Biochemistry and Biotechnology of Caspian Institute of Biological Resources of DFIC RAS
45, M. Gadzhieva str., Makhachkala, 367000, Russian Federation
E-mail: eslanda61@mail.ru*

Rasul Z. Gasanov

*Laboratory Biochemistry and Biotechnology of Caspian Institute of Biological Resources of DFIC RAS
45, M. Gadzhieva str., Makhachkala, 367000, Russian Federation
E-mail: gasanov@bk.ru*

Aida A. Abakarova

*Laboratory Biochemistry and Biotechnology of Caspian Institute of Biological Resources of DFIC RAS
45, M. Gadzhieva str., Makhachkala, 367000, Russian Federation
E-mail: aida.abacarva@rambler.ru*

Dinara A. Aliverdieva

*Laboratory Biochemistry and Biotechnology of Caspian Institute of Biological Resources of DFIC RAS
45, M. Gadzhieva str., Makhachkala, 367000, Russian Federation
E-mail: aliverdieva_d@mail.ru*

The morphological properties of *Saccharomyces* yeast in the conditions of temperature stress were studied. As a result of studying the influence of a wide temperature range, the morphological features of cells and giant colonies of yeast associated with the functional state and ploidy of strains were revealed. The adaptation process was accompanied by a change in the shape of the cells of the tetraploid strain *S. cerevisiae* Y-503, for the cells of the haploid *S. cerevisiae* DAW-3a characterized by the preservation of a spherical shape. The accumulation of reserve nutrients was found in the cells of both strains; their ability to restore vital activity after low temperature stress was shown. A comparative analysis of the morphophysiological parameters of giant colonies showed, that in optimal conditions colonies of *S. cerevisiae* Y-503 differed in larger sizes, at elevated and low temperatures the strains responded equally to stress. Further study of the mechanisms of adaptation of closely related yeast strains, that differing in ploidy, to various types of stress is of interest for basic research and biotechnological applications.

Keywords: adaptation, ploidy of strains, temperature stress, cells, giant colonies

References

- Biryukova E.N., Medencev A.G., Arinbasarova A.Yu., Akimenko V.K. Adaptatsiya drozhzhej *Yarrowia lipolytica* k teplovomu vozdeystviyu [Adaptation of *Yarrowia lipolytica* yeast to thermal effects]. *Mikrobiologiya* [Microbiology], 2007, vol. 76, no. 2, pp. 184-190. doi: 10.1134/S0026261707020051
- Aliverdieva D.A., Mamaev D.V., Lagutina L.S. Transport sukcinata v kletki *Saccharomyces cerevisiae* posle prodolzhitel'noj holodovoj preinkubatsii [Succinate transport into *Saccharomyces cerevisiae* cells after prolonged cold preincubation]. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* [Applied Biochemistry and Microbiology], 2009, no. 45(5), pp. 577-585. doi: 10.1134/S0003683809050111
- Arinbasarova A.Yu., Biryukova E.N., Medencev A.G. Antistressovye sistemy drozhzhej *Yarrowia lipolytica* (Obzor) [Yarrowia lipolytica yeast anti-stress systems (review)]. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* [Applied Biochemistry and Microbiology], 2015, no. 51(2), pp. 122-131. doi: 10.7868/S0555109915020026
- Bezhuashvili M., Dzhigauri G., Sihuralidze T. Nakoplenie vysshih spirtov v estestvenno-rozovyh vinomaterialah, prigotovlennyh iz sorta vinograda Asuretili shavi [Accumulation of higher alcohols in naturally pink wine materials prepared from Asuretili shavi grape variety]. *Vinogradarstvo i vinodelie* [Viticulture and winemaking], 2009, no. 39, pp. 87-89.
- Islammagomedova E.A., Halilova E.A., Kotenko S.C., Gasanov R.Z., Aliverdieva D.A. Vliyanie ekstremal'nyh znachenij pN na morfologicheskie osobennosti drozhzhej *Saccharomyces cerevisiae* [Influence of extreme pH values on morphological features of yeast *Saccharomyces cerevisiae*]. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk. Obshchaya biologiya* [Proceedings of the Samara scientific center of the Russian Academy of Sciences. General biology], 2018, vol. 20, no. 5(2), pp. 219-225.
- Biryukova E.N., Arinbasarova A.Yu., Suzina N.E., Sorokin V.V., Medencev A.G. Izmenenie ultrastruktury kletok *Yarrowia lipolytica* v stressovyh usloviyah [Changing the ultrastructure of *Yarrowia lipolytica* cells under stressful conditions]. *Mikrobiologiya* [Microbiology], 2011, vol. 80, no. 3, pp. 344-348. doi: 10.1134/S0026261711030040
- Kalyuzhin V.A. Termorezistentnost u drozhzhej *Saccharomyces cerevisiae* [Thermal resistance in *Saccharomyces cerevisiae* yeast]. *Zhurnal obshchej biologii* [Journal of General Biology], 2011, vol. 72, no. 2, pp. 140-150.
- Aliverdieva D.A., Mamaev D.V., Lagutina L.S., Sholc K.F. Ocobennosti izmeneniya soderzhaniya substratov endogennoho dyhaniya v kletkah *Saccharomyces cerevisiae* pri nizkoj temperature [Features of changes in the content of endogenous respiration substrates in *Saccharomyces cerevisiae* cells at low temperature]. *Biokhimiya* [Biochemistry], 2006, no. 71(1), pp. 50-58. doi: 10.1134/S0006297906010056
- Zhuk A.S., Stepchenkova E.I., Pavlov Yu.I., Inge-Vechtomov S.G. Ocenka effektivnosti metodov sinhronizatsii kletochnyh delenij u drozhzhej *Saccharomyces cerevisiae* [Evaluation of the effectiveness of cell division synchronization methods in *Saccharomyces cerevisiae* yeast]. *Citologiya* [Cytology], 2016, vol. 58, no. 12, pp. 936-946.
- Teryoshina V.M., Memorskaya A.S., Kotlova E.R., Feofilova E.P. Sostav membrannyh lipidov i uglevodov citozolya v usloviyah teplovogo shoka u *Aspergillus niger* [Composition of membrane lipids and cytosol carbohydrates under conditions of heat shock in *Aspergillus niger*]. *Mikrobiologiya* [Microbiology], 2010, vol. 79, no. 1, pp. 45-51.
- Sposob polucheniya etanola [A method of producing ethanol]: pat. 2495936 Russian Federation, IPC C12P 7/06. No. 2012117001/10/ Halilova E.A., Kotenko S.C., Islammagomedova E.A., Aliverdieva D.A.; applicant and patent holder Caspian Institute of biological resources Dagestan Federal research centre of RAS; declared 26.04.2012; publ. 20.10.2013, bulletin no. 29. 7 p.
- Kosiv R.B., Berezovskaya N.I., Palyanica L.Ya., Pankiv N.I., Harandyuk T.V. Udelnaya skorost razmnozheniya spirtovyh drozhzhej [The specific rate of reproduction of alcoholic yeast]. *Nauchnyj vestnik Lvovskogo nacionalnogo universiteta veterinarnoj mediciny i biotekhnologii imeni S.Z. Gzhickogo* [Scientific Bulletin of the Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology named after S.Z. Gzhitsky], 2014, vol. 1, no. 2-4(59), pp. 79-83.
- Feofilova E.P. Tormozhenie zhiznennoj aktivnosti kak universalnyj biokhimicheskij mekhanizm adaptatsii mikroorganizmov k stressovym vozdeystviyam (obzor) [Inhibition of vital activity as a universal biochemical mechanism for the adaptation of microorganisms to stressful effects (review)]. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* [Applied Biochemistry and Microbiology], 2003, vol. 39, no. 1, pp. 1-24.
- Feofilova E.P., Kuznecova L.S. Uchastie acilnyh cepej lipidov v biokhimicheskoy adaptatsii mukorovogo griba *Cunninghamella japonica* k temperature [The participation of acyl lipid chains in the

- biochemical adaptation of the mucoric fungus *Cunninghamella japonica* to temperature]. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* [Applied Biochemistry and Microbiology], 2008, vol. 44, no. 6, pp. 676-682.
- Shtamm drozhzhej *Saccharomyces cerevisiae* Y-503, ispolzuemyj v proizvodstve hlebobulochnyh izdelij [The yeast strain *Saccharomyces cerevisiae* Y-503, used in the production of bakery products]: a. s. 1284998 SSSR, IPC C12N 1/018. No. 3881042/28-13/ Abramov Sh.A., Kotenko S.C., Dalgatova B.I., Mammaev A.T., Pejsahova D.S.; applicant and patent holder Caspian Institute of biological resources Dagestan Federal research centre of RAS; declared 09.04.85; publ. 23.01.87, bulletin no. 3. 5 p.
- Anderson C.A., Roberts S., Zhang H., Kelly C.M., Kendall A., Lee C., Gerstenberger J., Koenig A.B., Kabeche R., Gladfelter A.S. Ploidy variation in multinucleate cells changes under stress. *Mol. Biol. Cell*, 2015, no. 26(6), pp. 1129-1140. doi: 10.1091/mbc.E14-09-1375
- Ballester-Tomás L., Rande-Gil F., Pérez-Torrado R., Prieto J.A. Redox engineering by ectopic expression of glutamate dehydrogenase genes links NADPH availability and NADH oxidation with cold growth in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbial Cell Factories*, 2015, no. 14(1), pp. 100-110. doi: 10.1186/s12934-015-0289-2
- Borrull A., Lopez-Martínez G., Miro-Abella E., Salvado Z., Poblet M., Cordero-Otero R., Rozes N. New insights into the physiological state of *Saccharomyces cerevisiae* during ethanol acclimation for producing sparkling wines. *Food Microbiology*, 2016, no. 54, pp. 20 - 29.
- Brown A.J.P., Cowen L.E., Pietro A.D., Quinn J. Stress adaptation. *Microbiol. Spectr.*, 2017, no. 5(4), pp. 1-10. doi: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0048-2016
- Caspeta L., Nielsen J. Thermotolerant yeast strains adapted by Laboratory evolution show trade-off at ancestral temperatures and preadaptation to other stresses. *MBio*, 2015, no. 6(4), pp. 431-446. doi: 10.1128/mBio.00431-15
- Cordova L.T., Alper H.S. Production of α -linolenic acid in *Yarrowia lipolytica* using low-temperature fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, no. 102(20), pp. 8809-8816. doi: 10.1007/s00253-018-9349-y
- Gysler C., Niederberger P. The development of low temperature inactive (Lti) baker's yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2002, no. 58(2), pp. 210-216.
- Kuroda K., Ueda M. Engineering of global regulators and cell surface properties toward enhancing stress tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biosci. Bioeng.*, 2017, no. 124(6), pp. 599-605. doi: 10.1016/j.jbiosc.2017.06.010
- López-Malo M., Querol A., Guillamon J.M. Metabolomic Comparison of *Saccharomyces cerevisiae* and the Cryotolerant Species *S. bayanus* var. *uvarum* and *S. kudriavzevii* during Wine Fermentation at Low Temperature. *PLOS ONE*, 2013, no. 8(3), pp. 601-635. doi.org/10.1371/journal.pone.0060135
- Muñoz-Bernal E., Deery M.J., Rodríguez M.E., Cantoral J.M., Howard J., Feret R., Natera R., Lilley K.S., Fernández-Acero F.J. Analysis of temperature-mediated changes in the wine yeast *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*. An oenological study of how the protein content influences wine quality. *Proteomics*, 2016, no. 16(4), pp. 576-92. doi: 10.1002/pmic.201500137
- Novo M.T., Beltran G., Torija M.J., Poblet M., Rozès N., Guillamón J.M., Mas A. Changes in wine yeast storage carbohydrate levels during preadaptation, rehydration and low temperature fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 2003, no. 86(1-2), pp. 153-161. doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00253-8
- Ortiz-Tovar G., Pérez-Torrado R., Adam A.C., Barrio E., Quero A. A comparison of the performance of natural hybrids *Saccharomyces cerevisiae* × *Saccharomyces kudriavzevii* at low temperatures reveals the crucial role of their *S. kudriavzevii* genomic contribution. *International Journal of Food Microbiology*, 2018, no. 274, pp. 12-19. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro
- Paget C.M., Schwartz J.M., Delneri D. Environmental systems biology of cold-tolerant phenotype in *Saccharomyces* species adapted to grow at different temperatures. *Mol. Ecol.*, 2014, no. 23(21), pp. 5241-57. doi: 10.1111/mec.12930
- Pucci F., Rooman M. Physical and molecular bases of protein thermal stability and cold adaptation. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2017, no. 42, pp. 117-128. doi: 10.1016/j.sbi
- Redón M., Guillamón J.M., Mas A., Rozès N. Effect of growth temperature on yeast lipid composition. *European Food Research and Technology*, 2011, no. 232(3), pp. 517-527. doi 10.1007/s00217-010-1415-3
- Reis V.R., Antonangelo A.T.B.F., Bassi A.P.G., Colombi D., Ceccato-Antonini S. Bioethanol strains of *Saccharomyces cerevisiae* characterized by microsatellite and stress resistance. *Braz. J. Microbiol.*, 2017, no. 48(2), pp. 268-274. doi.org/10.1016/j.bjm.2016.09.017
- Ruusuvuori P., Lin J., Scott A., Tan Z., Sorsa S., Kallio A., Nykter M., Yli-Harja O., Shmulevich I., Dudley A. Quantitative analysis of colony morphology in yeast. *Biotechniques*, 2014, no. 56(1), pp. 18-27. doi:10.2144/000114123

- Sanfelice D., Temussi P.A. Cold denaturation as a tool to measure protein stability. *Biophys Chem.*, 2016, no. 208, pp. 4-8. doi: 10.1016/j.bpc.2015.05.007
- Storchova Z. Ploidy changes and genome stability in yeast. *Yeast*, 2014, no. 31, pp. 421-430. doi: 10.1002/yea.3037
- Tezaki S., Iwama R., Kobayashi S., Shiwa Y., Yoshikawa H., Ohta A., Horiuchi H., Fukuda R. $\Delta 12$ -fatty acid desaturase is involved in growth at low temperature in yeast *Yarrowia lipolytica*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, no. 488(1), pp. 165-170. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.05.028
- Viana N.C., Portugal C., Cruz S.H. Morphophysiological and molecular characterization of wild yeast isolates from industrial ethanol process. *African Journal of Microbiology Research*, 2017, no. 11(37), pp. 1422-1430. doi: 10.5897/AJMR2017.8691
- 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, pp. 1-17. <https://doi.org/10.1155/2018/1898421>
- Zemančikova J., Kodedova M., Papoušková K., Sychrova H. Four *Saccharomyces* species differ in their tolerance to various stresses though they have similar basic physiological parameters. *Folia Microbiol*, 2018, no. 63, pp. 217-227. doi: org/10.1007/s12223-017-0559-y
- Zhu Y.O., Sherlock G., Petrov D.A. Whole Genome Analysis of 132 Clinical *Saccharomyces cerevisiae* Strains Reveals Extensive Ploidy Variation. *G3: Genes|Genomes|Genetics*, 2016, no. X, pp. 1-13. doi:10.1534/g3.116.029397