

**А.Б. Таширев, В.А. Романовская, П.В. Рокитко, Н.А. Матвеева,
С.О. Шилин, А.А. Таширева**

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины

СИНТЕЗ МЕЛАНИНОВЫХ ПИГМЕНТОВ АНТАРКТИЧЕСКИМИ ЧЁРНЫМИ ДРОЖЖАМИ

Изучено пять штаммов чёрных дрожжей, подобных *Exophiala nigra* (*Nadsoniella nigra*), изолированных нами ранее из биотопов Антарктики. При культивировании в периодическом режиме максимальный уровень абсолютно сухой биомассы (АСМ) у пяти тестированных штаммов составлял 3.2-7.8 г/л культуральной жидкости, выход меланинового пигмента – 6-9% от АСМ клеток. Отобрано два высокопродуктивных штамма. Пигменты изученных чёрных дрожжей нерастворимы в воде, однако растворяются в щёлочи и концентрированных кислотах. Максимальное поглощение этих пигментов находилось в области 220 нм УФ-спектра. Указанные свойства пигментов исследованных дрожжей соответствуют описанию меланиновых фракций *Nadsoniella nigra* и некоторых микромицетов. Водорастворимый меланиновый пигмент из исследованных чёрных дрожжей был получен после диализа щелочного раствора пигмента. УФ-спектры и видимые спектры поглощения водного раствора меланиновых пигментов практически идентичны исходным щелочным растворам. Показано, что исследованные дрожжи устойчивы к высоким концентрациям токсичных металлов (Hg^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , $Cr(VI)$ и Ni^{2+}), а внесение Co^{2+} в среду культивирования приводит к усилению синтеза пигментов.

Ключевые слова: Западная Антарктика, чёрные дрожжи, выход меланина, токсичные металлы.

Впервые черные дрожжи *Nadsoniella nigra* были обнаружены академиком Б.Л. Исаченко 100 лет назад в воде Арктики [3, 4] и впоследствии реклассифицированы как *Exophiala nigra* (Issatsch.) Naase et de Hoog 1999 [16]. Нами ранее из биотопов Антарктики (биоплёнки и лишайники на вертикальных скалах, орнитогенная почва) также выделены угольно-чёрные дрожжи, подобные *Exophiala nigra* [12, 13]. Показано, что среди мезофильных антарктических дрожжей почти 50 % штаммов способны расти при крайне низких температурах, характерных для зоны внутреннего островного шельфа Западной Антарктики (1°C или 5°C) [8]. Антарктические угольно-чёрные дрожжи устойчивы к УФ радиации, летальная доза УФ составляла 700-800 Дж/м² [7]. Мы предположили, что при высоком уровне УФ радиации в Антарктике селекционировались микроорганизмы, синтезирующие пигменты (меланины), защищающие клетки от УФ. Цель данной работы – сравнить интенсивность синтеза меланиновых пигментов различными штаммами антарктических черных дрожжей и селекционировать высокопродуктивные штаммы. Кроме того, представляло интерес определить устойчивость дрожжей к токсичным металлам, а также изучить их влияние на синтез меланиновых пигментов. Поставленные задачи определяются тем, что меланин перспективен для использования его в различных отраслях промышленности (фармацевтической, косметической и др.), а также в качестве лечебного препарата в медицине.

Материалы и методы. Объектами исследования служили чёрные дрожжи, изолированные нами ранее из биотопов Антарктики (табл. 1).

Культивирование. Для выращивания дрожжей использовали агаризованное солодовое сусло (СА) или жидкое солодовое сусло (рН 5.0-5.5), или глюкозо-картофельный агар (ГКА), или питательный агар (ПА) фирмы Himadia. Температура культивирования – 20-25 °С. Для экстракции пигментов дрожжи выращивали на жидком солодовом сусле (рН 5.0-5.5, температура – 20-25°C) в течение четырех суток в 0.5 л колбах (содержащих 100 мл среды) на качалках (220 оборотов/мин). Интенсивность роста определяли по оптической плотности микробной суспензии на фотоэлектрокалориметре КФК-2ПМ (λ 540 нм) и по абсолютно сухой массе (АСМ) дрожжей. Величину рН контролировали на лабораторном рН-метре.

Список исследованных антарктических чёрных дрожжей

*№№ штаммов	Происхождение (источник изоляции)	
	Регион	Биотоп
3082	**мыс Rassmussen	Глинистая почва
3084	о. Galindez	Биоплёнка на скале
3135	о. Irizar	Почва на скале
3210	о. Galindez	Почва
3211	о. Galindez	Почва

*№№ штаммов – приведена нумерация, согласно с каталогом Коллекции экстремофильных микроорганизмов, которая хранится в отделе биологии экстремофильных микроорганизмов ИМВ НАН Украины.

**Западное побережье Антарктического полуострова

Устойчивость к токсичным металлам. Влияние токсичных металлов на рост дрожжей и синтез меланинового пигмента определяли на агаризованных средах (СА, ПА и ГКА). Пять стандартных растворов металлов получали растворением в дистиллированной воде солей K_2CrO_4 , $CoCl_2 \times 6H_2O$, $NiNO_3 \times 6H_2O$, $CuSO_4$, $Hg(NO_3)_2$ в концентрации 10 г/л в пересчете на катион металла (исходный раствор). Растворы металлов стерилизовали фильтрованием (фильтр с диаметром пор 0,22 мкм), либо кипячением на водяной бане (30 мин) с последующим охлаждением. В каждом варианте эксперимента в среду вносили только один металл. Изучали концентрационный диапазон металлов: 0.1 – 10.0 г/л Cr(VI), 0.1 – 1.5 г/л Co^{2+} , 0.1 – 1.0 г/л Ni^{2+} , 0.1 – 1.5 г/л Cu^{2+} , 0.01 – 0.5 г/л Hg^{2+} .

Выделение пигментов из клеточной биомассы проводили путем щелочной экстракции, как описано нами ранее [12].

Переосаждение меланина. Исходные образцы меланинового пигмента (в виде темно-бурого порошка) растворяли в 0.5N NaOH (раствор приобретал темно-бурюю, почти черную окраску). Затем в раствор добавляли концентрированную соляную кислоту до pH 2. Переосажденный меланин выпадал в осадок в виде темно-бурых хлопьев (в течение двух часов). В результате получали практически прозрачную надосадочную жидкость и темно-бурый осадок, который далее центрифугировали (8000 g, 20 мин). Супернатант удаляли, а осадок смывали этиловым спиртом и повторно центрифугировали в тех же условиях. Полученный после центрифугирования осадок промывали дистиллированной водой, снова центрифугировали и далее осадок смывали небольшим количеством дистиллированной воды и переносили в предварительно взвешенные бюксы. Бюксы помещали в сушильный шкаф (105 °С) и высушивали меланиновый пигмент до АСМ (3 сут.).

Спектрофотометрический анализ. Спектры поглощения меланинового пигмента определяли на спектрофотометре Specord UV VIS в ультрафиолетовом спектральном диапазоне. Переосажденный и высушенный меланиновый пигмент (1 мг) растворяли в 0.5N NaOH (5 мл). В кювету спектрофотометра вносили щелочной раствор меланина, разбавленный в 5 раз, чтобы измеряемый показатель находился в рабочем диапазоне светочувствительности.

Растворимость меланиновых пигментов определяли, используя навеску пигмента (1-2 мг), которую помещали в чистый сухой бюкс, заливали соответствующим растворителем (1 мл) и тщательно перемешивали круговыми движениями. При растворении пигмента раствор практически сразу окрашивался в темный цвет.

Результаты и их обсуждение. *Характеристика показателей роста антарктических чёрных дрожжей.* Изучено пять штаммов антарктических дрожжей, подобных *Exophiala nigra* (Issatsch.) Naase et de Hoog 1999 [12, 13] по ряду признаков. Так, все исследованные дрожжи – круглые или овальные почкующиеся клетки, 6-8 мкм. Образуют чёрные, круглые, выпуклые, с маслянистым блеском колонии, размер колоний – 3-5 мм (иногда до 10 мм), пигмент в среду не выделяется, истинный мицелий не обнаружен. При старении (20 сут.) колонии становятся матовыми, шероховатыми, образуют псевдомицелий. Хемоорганотрофы, аэробы или факультативные анаэробы, способны расти в широком температурном диапазоне (5°С-30°С) при pH 5.0-7.0.

В периодических условиях культивирования в колбах на качалках (pH среды – 5.0, температура – 25-28°С, длительность выращивания – 4 сут.) максимальный уровень биомассы у

различных штаммов составлял от 3.2 до 7.8 г/л культуральной жидкости, выход меланинового пигмента – от 6.83 до 9.11 % от АСМ клеток (табл. 2). Полученные результаты аналогичны данным, указанным в патенте по получению противоопухолевого меланинодержащего препарата при использовании чёрных дрожжей *Nadsoniella nigra* в качестве продуцента меланина [5], впоследствии этот вид был реклассифицирован как *Exophiala nigra* (Issatsch.) Haase et de Hoog 1999 [16].

Таблица 2

**Показатели уровня биомассы и синтеза пигмента (после переосаждения)
у исследованных антарктических дрожжей.**

№ штамма	Биомасса, г/л культуральной жидкости		Выход меланинового пигмента	
	Влажная биомасса	АСМ клеток	мг АСМ пигмента/ г АСМ клеток	% от АСМ клеток
3135	34	5.9	91.1	9.11
3082	15	3.2	69.6	6.96
3084	38	7.8	76.2	7.62
3210	20	3.2	68.3	6.83
3211	25	3.6	70.3	7.03

Примечание: АСМ – абсолютно сухая масса.

Продолжительность лаг-фазы у исследованных дрожжей составляла 2 суток. Культуральная жидкость – чёрно-коричневая, гомогенная; иногда с черными хлопьями. После центрифугирования культуральной жидкости (5000 г, 10 мин) темноокрашенные клетки образовали осадок, а супернатант был бесцветным, что свидетельствует о внутриклеточной локализации пигмента. В процессе роста показатель рН среды изменялся незначительно (от 5.0 до 5.6).

Параллельно был проведен посев антарктических чёрных дрожжей на ту же среду с добавлением тирозина (200 мг/л), как предшественника меланина. Однако внесение тирозина не повлияло на выход меланинового пигмента, но показатель рН среды у различных штаммов смещался как в сторону подкисления (от 5.0 до 4.5), так и ближе к нейтральной области (от 5.0 до 5.6). Известно, что не все меланины образуются из тирозина «классическим» путём, иногда они синтезируются через гомогентизиновую кислоту, а меланогеном могут быть не только тирозин, но и другие соединения, содержащие фенольное кольцо. Поэтому в процессе роста дрожжей синтез пигмента может осуществляться различными путями, в результате чего могут образовываться различные побочные продукты, от которых зависят указанные изменения величины рН.

В результате показано, что интенсивность синтеза меланиновых пигментов наиболее высокая у двух штаммов антарктических чёрных дрожжей № 3135 и № 3084.

Изучали влияние высоких концентраций токсичных металлов на рост и пигментацию антарктических чёрных дрожжей. Все исследованные штаммы были резистентными к кобальту (до 1.0 г/л включительно) (табл. 3), причем внесение кобальта в среду (0.25-1.0 г/л) приводило к усилению пигментации колоний (от коричнево-чёрной до угольно-чёрной) штаммов №№ 3135, 3210, 3211 (особенно при культивировании на средах ГКА и ПА).

Таблица 3

Устойчивость к токсичным металлам чёрных антарктических дрожжей.

Токсичные металлы	Концентрация металлов в среде, г/л	№ штамма			
		3210	3211	3135	3084
Co ²⁺	от 0.25 до 1.0	+	+	+	+
	1.5	-	-	-	-
Cr(VI)	от 0.1 до 7.5	+	+	-	-
	9.0	+	-	-	-
Ni ²⁺	от 0.1 до 0.25	+	+	+	+
	0.5	-	-	-	-

Примечание. «+» – наличие роста, «-» – отсутствие роста при указанных концентрациях металлов в среде.

Хром в концентрационном диапазоне 0.1-7.5 г/л не влиял на рост штаммов № 3210 и № 3211, однако полностью угнетал рост штаммов № 3135 и № 3084 (табл. 3). В присутствии Cr(VI) ни у одного из исследованных дрожжей не наблюдалось изменения пигментации. Никель оказался более токсичным, дрожжи росли только при его концентрации 0.1-0.25 г/л. Для

одного из штаммов (№ 3210) изучено влияние на рост более широкого спектра токсичных металлов. Показано, что этот штамм устойчив к 1.0 г Cu^{2+} /л, а также к 0.1 г Hg^{2+} /л.

Т.о., наличие в среде некоторых токсичных металлов (например, Co^{2+}) усиливает пигментацию антарктических чёрных дрожжей, а, следовательно, может использоваться для интенсификации синтеза меланиновых пигментов.

Характеристика пигментов антарктических чёрных дрожжей. После выращивания дрожжей в жидком солодовом сусле в колбах на качалках (рН 5.5-6.0, 5 сут.) из биомассы методом щелочной экстракции [9, 15] были получены сухие препараты пигментов. Затем пигменты переосаждали, чтобы очистить их от примесей и изучали растворимость. Установлено, что пигменты чёрных антарктических дрожжей нерастворимы в воде, однако растворяются в щёлочи и концентрированных кислотах (табл. 4).

Таблица 4

Растворимость в различных химических соединениях меланиновых пигментов, выделенных из антарктических дрожжей.

Реактив	№№ исследованных антарктических штаммов				<i>Cladosporium</i> sp. 396 [2, 14]		<i>Nadsoniela nigra</i> [9]
	3084	3211	3135	3082	3а	3б	
NaOH 0.5%	р	р	р	р	р	р	р
HCl, конц.	р	р	р	р	р	р	р
H_2SO_4 , конц.	р	р	р	р	р	р	р
HNO_3 , конц.	р	р	р	р	р	р	р
HCl 0.5%	нр	нр	нр	нр	нр	нр	нр
Дихлорэтан	нр	нр	нр	нр	нр	нр	-
Диметилформамид	ср	ср	ср	ср	ср	ср	ср
Метанол	ср	нр	ср	ср	р	нр	-
Этанол	ср	нр	ср	ср	р	нр	ср
Бутанол норм.	нр	нр	нр	нр	р	нр	нр
Диэтиловый эфир	нр	нр	нр	нр	нр	нр	нр
Ацетон	нр	нр	нр	нр	р	нр	нр
Хлороформ	нр	нр	нр	нр	нр	нр	нр

Примечание: р – пигмент растворяется; нр – не растворяется; ср – слабо растворяется; «-» – нет данных.

Для сравнения в таблице приведена растворимость меланинов известных микробных продуцентов. Как следует из представленных данных, растворимость меланиновых пигментов исследованных нами антарктических дрожжей идентична таковой для меланиновых фракций *Nadsoniela nigra* и *Cladosporium* sp., описанных в работах [2, 9, 14].

УФ-спектры меланиновых пигментов, экстрагированные из различных штаммов антарктических чёрных дрожжей, практически не отличались (рис. 1). УФ-спектр поглощения щелочного раствора пигмента имел вид кривой без видимых пиков, оптическая плотность уменьшалась с увеличением длины волны (рис. 1), что характерно для большинства меланинов, выделенных из микроскопических грибов [1, 11]. Максимальное поглощение пигментов изученных чёрных дрожжей находилось в области 220 нм (рис. 1).

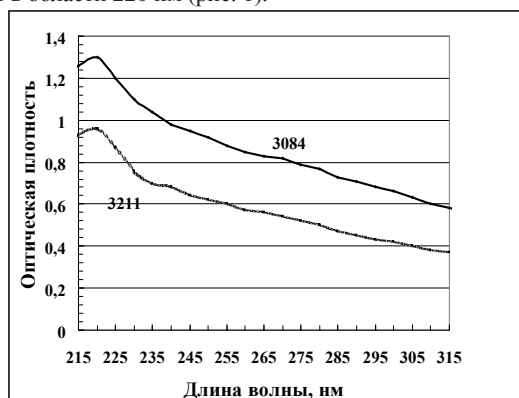


Рис. 1. УФ-спектры поглощения щелочного раствора меланиновых пигментов.

На основании полученных результатов мы полагаем, что исследованные нами антарктические чёрные дрожжи синтезируют меланиновые пигменты.

Как уже указывалось выше, меланиновые пигменты изученных дрожжей нерастворимы в воде. Но в таком виде они непригодны для экспериментов на живых организмах, когда изучаются различные аспекты физиологической активности пигмента. Поэтому задачей нашей дальнейшей работы было получение водорастворимых пигментов антарктических черных дрожжей. В литературе имеется мало сведений о получении водорастворимого меланина из микроорганизмов. Известно, что водорастворимый меланин *Nadsoniella nigra* получали путем растворения его в аммиачной воде с последующим мягким выпариванием аммиака и воды [5]. Однако при использовании этого метода нами не был получен положительный результат.

Некоторые авторы отмечают, что меланины микроскопических грибов в воде нерастворимы (исключение: аспергиллин), но при диализе щелочного раствора могут быть получены водные растворы меланинов [10]. Мы использовали этот способ для получения водорастворимого меланинового пигмента черных дрожжей. Для этого полученные из антарктических дрожжей пигменты (по 0.1 г) растворяли в 0.1N NaOH (3 мл). Щелочной раствор переносили в диализные мешки ("Serva", диаметр 16 мм), которые предварительно были обработаны детергентом Тритон X-100. Диализные мешки помещали в колбу с дистиллированной водой. Диализ проводили при комнатной температуре при перемешивании на магнитной мешалке в течение трёх суток. Воду в колбе меняли дважды в сутки. Для предотвращения попадания прямого дневного света колбу помещали в тёмную камеру. После диализа цвет раствора меланинового пигмента не изменился (темно-коричневый), величина pH снизилась до 6.8-7.0, что свидетельствовало об отсутствии щелочи в растворе. Спектры поглощения водных растворов меланина (после диализа) в УФ- и в видимой области имели вид кривой с постепенным уменьшением оптической плотности по мере возрастания длины волны (рис. 2, 3).

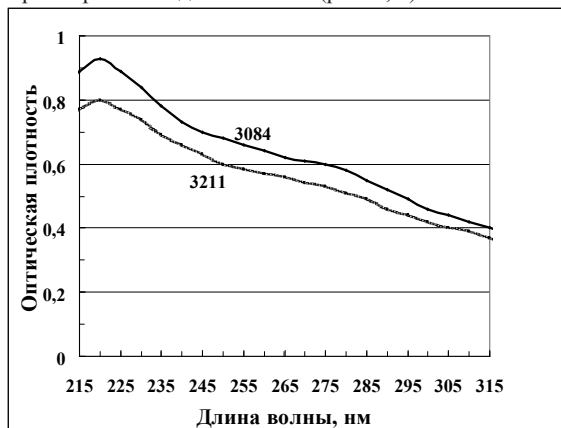


Рис. 2. УФ-спектры поглощения водного раствора меланиновых пигментов (после диализа).

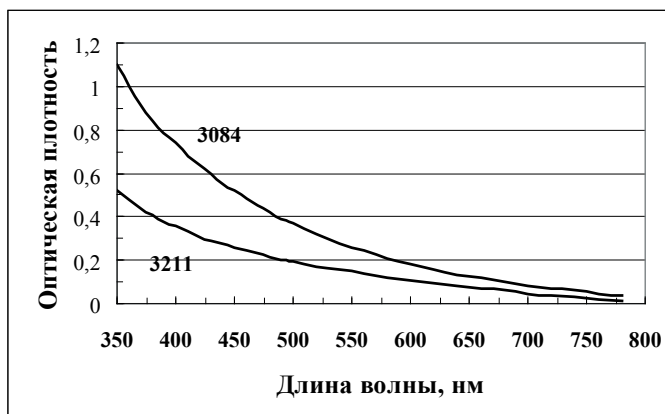


Рис. 3. Видимый спектр поглощения водного раствора меланиновых пигментов (после диализа).

Полученные нами спектры водных растворов меланиновых пигментов (рис 2, 3) подобны таковым, приведенным для меланинов, синтезируемых *Pseudomonas aeruginosa* и *Nadsoniella nigra* [6, 9], а также практически идентичны исходным щелочным растворам до диализа (рис. 1).

На основании полученных результатов мы полагаем, что исследованные нами антарктические чёрные дрожжи синтезируют меланиновые пигменты. Показано, что эти дрожжи устойчивы к высоким концентрациям токсичных металлов, а внесение Co^{2+} в среду культивирования приводит к усилению синтеза пигментов. Выход меланинового пигмента составлял 6-9 % от АСМ клеток антарктических чёрных дрожжей. Получены водорастворимые препараты меланиновых пигментов, которые могут использоваться для аккумуляции металлов (природоохранные биотехнологии), а также в фармацевтической и косметической промышленности.

**О.Б. Таширеву, В.О. Романовська, П.В. Рокитко, Н.А. Матвеева,
С.О. Шилин, Г.О. Таширева**

Институт мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

СИНТЕЗ МЕЛАНІНОВИХ ПІГМЕНТІВ АНТАРКТИЧНИМИ ЧОРНИМИ ДРІЖДЖАМИ

Резюме

Вивчено п'ять штамів чорних дріжджів, подібних *Exophiala nigra* (*Nadsoniella nigra*), ізолюваних нами раніше із біотопів Антарктики. При культивуванні в періодичному режимі максимальний рівень абсолютно сухої біомаси (АСМ) у п'яти протестованих штамів складав 3.2-7.8 г/л культуральної рідини, вихід меланінового пігменту – 6-9% від АСМ клітин. Відібрано два високопродуктивні штами. Пігменти вивчених чорних дріжджів нерозчинні у воді, проте розчиняються у лузі та концентрованих кислотах. Максимальне поглинання пігментів цих дріжджів знаходилося в області 220 нм УФ-спектру. Вказані властивості пігментів досліджених дріжджів відповідають опису меланінових фракцій *Nadsoniella nigra* і деяких мікроміцетів. Водорозчинний меланіновий пігмент було отримано після діалізу лужного розчину пігменту. УФ-спектри і видимі спектри поглинання водного розчину меланінових пігментів практично ідентичні вихідним лужним розчинам. Показано, що чорні дріжджі стійкі до високих концентрацій токсичних металів (Hg^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Cr(VI) та Ni^{2+}), а внесення Co^{2+} в середовище культивування приводить до посилення синтезу пігментів.

Ключові слова. Західна Антарктика, чорні дріжджі, вихід меланіну, токсичні метали.

**A.B. Tashyrev, V.A. Romanovskaya, P.V. Rokitko, N.A. Matveeva,
S.O. Shilin, A.A. Tashyreva**

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

SYNTHESIS OF MELANIN PIGMENTS BY ANTARCTIC BLACK YEAST

S u m m a r y

Five strains of the black yeast similar to *Exophiala nigra* (*Nadsoniella nigra*), which we have isolated from the Antarctic biotopes, are studied. At cultivation in a periodic operation the maximum level of absolutely dry biomass in five tested strains constituted 3.2-7.8 g/l of medium, melanin pigment yield being 6-9 % of absolutely dry mass of cells. Two highly productive strains have been selected. Pigments of the studied black yeast are water-insoluble, however dissolve in alkali and concentrated acids. The maximum absorption of the yeast pigments was in the range of 220 nm. The above-stated properties of pigments of the investigated yeast correspond to the description of melanin fractions of *Nadsoniella nigra* and some microscopic mushrooms. The water-soluble melanin-pigments have been obtained after the dialysis of alkaline solution of the pigment. UV-spectra and visible absorption spectra of water solution of melanin-pigments are almost identical to those of initial alkaline solutions. It is shown that the studied yeast are resistant to high concentrations of toxic metals (Hg^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Cr(VI) and Ni^{2+}), and introduction of Co^{2+} into the cultivation medium leads to the increase of pigments synthesis.

The paper is presented in Russian.

Key words: the western Antarctic, black yeast, melanin yield, toxic metals.

1. *Барабой В.А.* Меланин: структура, биосинтез, биологические функции // Укр. биохим. журн. – 1999. – 71, № 4. – С. 5–14.
2. *Жданова Н.Н., Свищук А.А., Шмыгун М.П., Бондарь А.И.* О защитном действии пигмента выделенного из гриба *Cladosporium* sp. // Микробиология. – 1970. – 39, №4. – С. 603–607.
3. *Исаченко Б.Л.* Исследования над бактериями Северного Ледовитого Океана. – Петроград: Типография В.О. Киршбаума, 1914. – 297 с.
4. *Исаченко Б.Л.* Избранные труды. Москва–Ленинград: Изд. Академии наук СССР, 1951. – Т. 1. – 408 с.
5. *Лях С.П., Булгак М.Л., Исаев А.Г.* Патент Российской Федерации RU (11) 2069696 (13) С1. Пролуцент противоопухолевого меланинодержашего препарата «Астромеланин». – Оубл. 27.11.1996.
6. *Рожавин М.А.* Исследование меланина *Pseudomonas aeruginosa* // Антибиотики. – 1979. – 24, №7. – С. 134–148.
7. *Романовская В.А., Таширев А.Б., Шилин С.О., Черная Н.А.* Устойчивость к УФ излучению микроорганизмов, изолированных из наскальных биотопов Антарктики // Микробиол. журн. – 2010. – 72, № 3. – С. 8–14.
8. *Романовская В.А., Таширев А.Б., Шилин С.О., Гладка Г.В.* Распространение психрофильных микроорганизмов в наземных биотопах Антарктики // Микробиол. журн. – 2012. – 74, № 1. – С. 3–8.
9. *Рубан Е.Л., Лях С.П., Хрулева И.М., Тутова И.А.* Меланиновые пигменты *Nadsoniella nigra* // Известия АН СССР. Сер. Биол. – 1969. – № 1-3. – С. 134–148.
10. *Скорбина Е.А.* Разработка технологии получения и исследование биологической активности меланинодержаших препаратов // Дисс. ... канд. биол. наук. На правах рукописи. – Ставрополь, 2005. – С. 14–15.
11. *Сушинская Н.В., Кукулянская Т.А., Курченко В.П., Сенчук В.В.* Характеристика меланина, полученного из *Inonotus obliquus* (Pers. ifr.) Pit. f. sterilis (Vanin) Nicol // Вестник Белорусского государственного университета. Сер. 2. Химия. Биология. География. – 2004. – №3. – С. 33–36
12. *Таширев А.Б., Романовская В.А., Шилин С.О., Черная Н.А.* Скрининг дрожжей-продуцентов меланина в наземных антарктических биотопах. Микробиол. журнал. – 2010. – 72, № 1. – С. 3–10.
13. *Таширев А.Б., Романовская В.А., Рокитко П.В., Шилин С.О., Черная Н.А., Таширева А.А.* Микробиологический анализ наземных биотопов Антарктики // Микробиол. журн. – 2010. – 72, № 2. – С. 4–11.
14. *Шмыгун М.П., Жданова Н.М., Свищук А.А.* Про належність темного пігменту *Oidiodendron cerealis* до меланіну // Микробиол. журн. – 1975. – 37, № 6. – С. 700–702.
15. *Bainbridge B.W., Bull A.T., Pirt S.J., Rowley B.I. Trinci A.P.J.* Biochemical and structural changes in non-growing maintained and autolizing cultures of *Aspergillus nidulans* // Trans. Brit. Soc. – 1971. – 56, N 3. – P. 371–385.
16. *Haase G., Sonntag L., van de Peer Y., Uijthof J.M., Podbielski A., Melzer-Krick B.* Phylogenetic analysis of ten black yeast species using nuclear small subunit rRNA gene sequences // Antonie Van Leeuwenhoek. – 1995. – 68, N 1. – P. 19–33.

Отримано 05. 10. 2011