

6. Петросян Р.А., Газарян Е.А., Неделин Н.П. Гигиена и санитария, 4, 73-74, 1989.
7. Пивазян Л.А., Давтян С.А., Хачатурян Н.С., Арутюнян А.Е., Петросян С.М., Африкян Э.К. Биолог. журн. Армении, 51, 1-2, 48-55, 1998.
8. Строганов В.Ф., Михальчук В.М., Зайцев Ю.С., Бичурина Н.А., Бобров О.Г. Пласт. массы, 10, 19-20, 1987.

Поступила 20.VII.1998

Биолог. журн. Армении, 2 (52), 1999

УДК 567.866.4

ВЫРАЩИВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ РОДА *SPIRULINA* НА МИНЕРАЛЬНЫХ И ГРУНТОВЫХ ВОДАХ АРМЕНИИ

А.Х. ПАРОНЯН, Э.К. АФРИКЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г.Абовян

Для выращивания микроводорослей рода *Spirulina* в качестве основы питательных сред впервые были использованы различные углекислые минеральные воды Армении, а также грунтовые воды содовых солончаков Араратской равнины. Показано, что после добавления небольших количеств неорганических источников углерода и азота многие из этих вод пригодны для выращивания микроводорослей *Spirulina platensis* и *Spirulina maxima*. Установлено, что полученная биомасса морфологически и по физическому состоянию соответствует биомассе, выращенной на богатой по минеральному составу общепринятой среде Заррука.

Առաջին անգամ *Spirulina* ցեղի միկրոօրգանիզմների աճեցման համար որպես հիմք օգտագործվել են Հայաստանի տարբեր ածխաթթվային հանքային, ինչպես նաև Արարատյան հարթավայրի սոդային աղուտների ստորգետնյա ջրերը: Ցույց է տրվել, որ նշված ջրերից շատերը պիտանի են *Spirulina platensis* և *Spirulina maxima* միկրոօրգանիզմների աճեցման համար ածխածնի և ազոտի անօրգանական աղբյուրների ոչ մեծ քանակներ ավելացնելուց հետո: Հաստատվել է, որ ստացված կենսազանգվածը իր մորֆոլոգիական և ֆիզիոլոգիական վիճակով լրիվ համապատասխանում է հանքային կազմով հարուստ, սովորաբար օգտագործվող Ջարրուկայի միջավայրի վրա աճեցված կենսազանգվածին:

For the first time the different carbonate mineral springs of Armenia, as well as the underground waters of the Ararat plain sode-saline soils have been used as a base for nutrient media and cultivation of *Spirulina* genus microalgae. Many of all mentioned waters are suitable for growth of microalgae after addition of carbon and nitrogen sources. The obtained biomass by its morphological and physiological state corresponds to biomass obtained on Zarruka's medium with high mineral composition.

Спирулина - биомасса - минеральные и грунтовые воды - стоки солончаков

Проблемы пищевых и кормовых ресурсов всегда были и остаются весьма актуальными для человечества. Известно, что основным первоисточником пищи является процесс фотосинтеза фотоавтотрофных организмов. Среди них немаловажное место занимают микроводоросли [8,9,14]. Однако многие из одноклеточных микроводорослей обладают некоторыми недостатками,

наиболее существенным из которых является наличие у них прочной клеточной оболочки, ухудшающей переваривание биомассы. В то же время микроводоросли рода *Spirulina*, богатые белком (60-65%), жиром, пигментами, легко перевариваются [5,11].

Биомасса спирулины может быть использована не только в качестве корма для с/х животных, но и как пища для человека [14]. В фотобиотехнологии биомасса спирулины может быть использована также в качестве дешевого источника для получения различных ценных биологически активных соединений [6,10,12].

Развитие работ в области изучения и применения фотосинтезирующих микроорганизмов имеет важное значение для Армении, отличающейся большим количеством солнечных дней в году и богатством углекислых минеральных источников, разных грунтовых вод, которые могут быть использованы в качестве дешевой основы питательной среды для выращивания этих организмов [1,2]. Цель данной работы - изучение возможности выращивания микроводорослей рода *Spirulina* на стоках солончаков и углекислых минеральных водах Армении.

Материал и методика. Объектом исследования служили альгологически чистые культуры микроводорослей *Sp.platensis* и *Sp.maxima* из коллекции РЦДМ.

Культуры поддерживали на минеральной среде Заррука следующего состава (г/л): Na_2CO_3 - 4,03; NaHCO_3 - 16,8; K_2HPO_4 - 0,5; NaNO_3 - 2,5; K_2SO_4 - 1,0; NaCl - 1,0; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,2; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ - 0,04; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,01; ЭДТА - 0,08; pH - 9,0-9,2. Среда содержала 1 мл/л раствора микроэлементов (г/л): H_3BO_3 - 2,85; $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ - 1,81; $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,22; $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,08; MoO_3 - 0,015; MnVO_3 - 0,023; $\text{F}_2\text{Cn}_3(\text{SO}_4)_4 \times 24\text{H}_2\text{O}$ - 0,096; $\text{NiSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,048; $\text{Na}_2\text{WO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ - 0,018; $\text{Ti}_2(\text{SO}_4)_3$ - 0,04; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ - 0,044.

Так как некоторые микроводоросли обладают способностью использовать атмосферный азот и углекислый газ [7, 13], для объективной оценки влияния источников углерода и азота на рост изучаемых культур на минеральных водах и стоках солончаков в наших опытах выращивание проводили не при постоянной аэрации, а в стационарных условиях. В качестве контроля прежде всего была изучена динамика роста и накопления биомассы спирулины на среде Заррука в тех же условиях.

В качестве основы питательных сред для культивирования спирулины использовали различные природные минеральные воды Армении и Карабаха, а также промывные и грунтовые воды содовых солончаков Араратской долины. Указанные воды использовали как в нативном виде, так и с добавлением источников углерода и азота. Перед употреблением воды отфильтровывали через ватный фильтр.

Количества вносимых добавок соответствовали таковым этих веществ в контрольной среде Заррука. Выращивание проводили в 250 мл колбах Эрленмейера с ватными пробками (объем питательной среды - 100 мл) в стационарных условиях в люминесценте при круглосуточном освещении лампами накаливания. Температура роста 22-25°, интенсивность освещения 1500-2000 люкс.

В качестве посевного материала использовали 8-суточные культуры спирулины, выращенные на среде Заррука. Посевной материал вносили в количестве 2% от объема среды. За ростом следили в течение 15 сут. Контроль за культурами осуществляли на фазово-контрастном микроскопе. Рост культур контролировали визуально и определением сухого веса. Биомассу собирали пропусканием культуральной жидкости через фильтр Зейтца с использованием мембранных фильтров (размер пор 0,17 микрон). Впоследствии клетки промывали дистиллированной водой и высушивали до постоянного веса [11]. О физиологическом состоянии культур судили по цвету культуральной жидкости и по спектрам поглощения клеток, которые снимались на регистрирующем спектрофотометре "Specord UV-Vis".

Результаты и обсуждение. Минеральные воды Армении образуют мощную гидроминеральную базу, и по газовому составу большинство из них относится к углекислым водам. Ограниченно представлены углекисло-сероводородные воды и воды с большим содержанием азота [1, 2]. Состав и большой дебит этих вод дает возможность, кроме лечебных целей, использовать их также в качестве основы питательных сред для выращивания фотосинтезирующих микроорганизмов, в том числе микроводорослей.

Изучение динамики роста культур в условиях автотрофного выращивания показывает, что рост и накопление биомассы у *Sp.platensis* и *Sp.maxima* идут почти на одном уровне. Незаметное различие наблюдается в начальной фазе роста культур. У *Sp.maxima* лаг-фаза более продолжительна, выход биомассы немного превышает у *Sp.platensis* (рис.1).

Цвет биомассы ярко-сине-зеленый и в течение длительного периода роста обесцвечивания культур не происходит. Об этом свидетельствует спектр поглощения суспензии клеток двухнедельной культуры, выращенных при освещении 2000 люкс (рис.2), где максимумы поглощения при 443 и 684 нм свидетельствуют о наличии хлорофилла *a*, а при 623 нм - о наличии фикоцианина. Плечо около 500 нм обусловлено поглощением каротиноидов [3, 4, 12]. Следует отметить, что при низкой интенсивности освещения (500 люкс) в спектре поглощения качественных изменений не обнаружено. Здесь отмечается резкий спад биосинтеза пигментов, что сопровождается снижением выхода биомассы почти вдвое (рис.2).

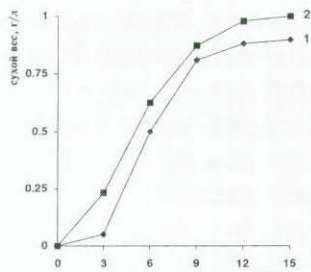


Рис. 1. Динамика роста и накопления биомассы *Sp. maxima* (1) и *Sp. platensis* (2), выращенных на среде Заррука в стационарных условиях.

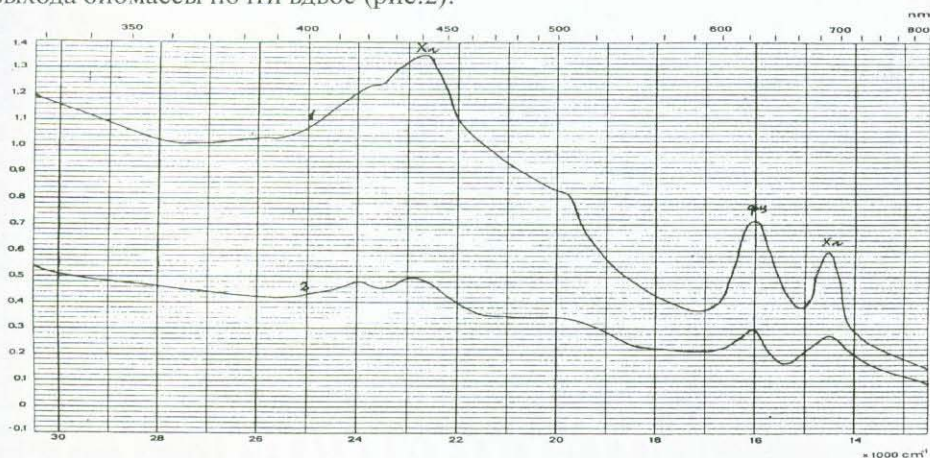


Рис. 2. Спектры поглощения клеток *Sp.platensis*, выращенных на срезе Заррука, при разной интенсивности освещения: 1 - освещение 2000 люкс; 2 - освещение 500 люкс.

Для культивирования спирулины в одной серии опытов изучались рост и накопление биомассы на средах, разработанных на основе различных

Таблица 1. Рост *Spirulina* на минеральных водах Армении (биомасса, сухой вес, г/л)

Место-рождение	Тип воды	Общая минерализация, г/л	Содержание CO ₂	Начальный pH	Температура источника, °C	pH после добавок	Рост без добавок	Рост с дополнительными источниками			Цвет биомассы
								NaHCO ₃	NaNO ₃	NaHCO ₃ +NaNO ₃	
Арзни	Углекислая натриевая-хлоридно-гидрокарбонатная	5,8	1,8	6,6	23	8,75	-	0,32	0,30	0,39	зеленовато-желтый
Арабат	Углекислая гидрокарбонатная-кальциевая-магнезиумовая	1,5	1,2	6,8	22	8,9	-	0,37	0,33	0,41	зеленовато-желтый
Арзакан	Углекислая гидрокарбонатная-хлоридно-натриевая	4,6	2,5	7,0	40	8,95	0,065	0,39	0,34	0,61	ярко-синие-зеленый
Анкаван	Углекислая гидрокарбонатная-хлоридно-натриевая-кальциевая-магнезиумовая	4,8	2,5	6,8	28	8,85	0,06	0,35	0,32	0,47	светло-зеленый
Бжни	Углекислая гидрокарбонатная-хлоридно-натриевая-кальциевая	4,6	2,5	6,9	25	8,9	0,078	0,36	0,35	0,63	ярко-синие-зеленый
Джермук	Углекислая гидрокарбонатная-сульфатно-хлоридная-натриевая-кальциевая-магнезиумовая	5,0	2,7	7,1	32	8,85	0,05	0,33	0,30	0,48	светло-зеленый
Лисагор (Шуши)		нет данных	нет данных	6,3	нет данных	8,8	0,05	0,35	0,32	0,46	светло-зеленый
Контроль	Среда Заррука			9,0			0,81				ярко-синие-зеленый

Примечание: приведены результаты от трех до пяти повторностей опытов.

минеральных вод. Обобщенные результаты проведенных экспериментов представлены в табл. 1.

В тех случаях, когда в среде отсутствовал дополнительный источник углерода (бикарбонат), рН до нужного значения доводили 0,1 N раствором NaOH.

Результаты наших исследований показали, что на всех испытанных водах без каких-либо добавок рост культуры незначительный или вовсе отсутствует.

Внесение в изучаемые среды источника углерода или азота ощутимо стимулирует рост *Sp. platensis*. К значительному усилению образования биомассы приводило одновременное добавление бикарбоната и нитрата натрия.

Следует отметить, что заметный рост наблюдается на средах, разработанных на основе минеральных вод в районах Бжни и Арзакана. При этом физиологическое состояние культуры вполне соответствовало норме. Об этом свидетельствует ярко-сине-зеленый цвет биомассы и спектр поглощения суспензии клеток культуры, выращенной на основе минеральной воды Бжни (рис.3). Одновременно биомасса, выращенная на среде с минеральной водой Арзни, имела бледно-зеленый цвет с желтоватым оттенком, что говорит о неполноценном биосинтезе всех необходимых пигментов, особенно фикобилинов (рис.3). Другие закономерности роста и развития культуры на указанных средах те же, что и при росте на контрольной среде Заррука. Почти идентичные данные были зафиксированы при выращивании *Sp. maxima*.

В другой серии опытов изучались рост и накопление биомассы спирулины на средах, разработанных на основе грунтовых и промывных вод

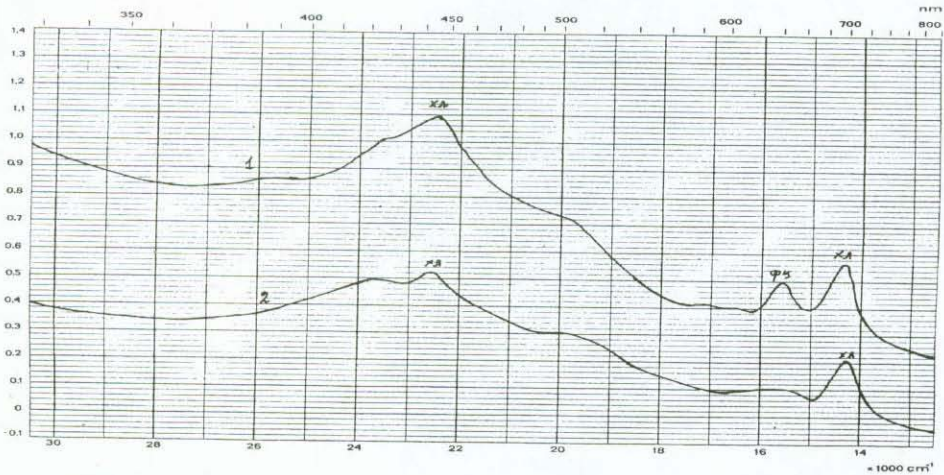


Рис. 3. Спектры поглощения клеток *Sp. platensis*, выращенных на основе минеральных вод: 1 - минеральная вода Бжни; 2 - минеральная вода Арзни.

содовых солончаков Араратской равнины.

Несмотря на то, что первоначальные значения рН этих вод были сравнительно выше, чем у минеральных вод, однако эти воды также без дополнительных добавок источников углерода и азота оказались непригодными

Таблица 2. Рост спирулины на грунтовых и промывных водах содовых солончаков Араратской равнины (биомасса, сухой вес, г/л)

Месторождение	Начальный pH	pH после добавок	<i>Sp. maxima</i>				<i>Sp. plantensis</i>					
			Без добавок	NaHCO ₃	NaNO ₃	NaHCO ₃ +NaNO ₃	Цвет биомассы	Без добавок	NaHCO ₃	NaNO ₃	NaHCO ₃ +NaNO ₃	Цвет биомассы
Арарат (грунтовая вода)	7,9	8,9	-	0,33	0,18	0,41	зеленовато-желтый	-	0,36	0,25	0,47	зеленовато-желтый
Егегнут (грунтовая вода)	6,8	8,75	0,065	0,45	0,31	0,56	ярко-синие-зеленый	0,06	0,45	0,36	0,58	ярко-синие-зеленый
Ерасхаун (грунтовая вода)	7,1	9,05	0,05	0,35	0,18	0,52	ярко-синие-зеленый	0,05	0,38	0,21	0,55	ярко-синие-зеленый
Воскетал (грунтовая вода)	7,15	9,0	0,06	0,36	0,3	0,57	ярко-синие-зеленый	0,055	0,43	0,36	0,61	ярко-синие-зеленый
Воскетал (водосборный канал)	8,1	9,05	0,055	0,38	0,32	0,58	ярко-синие-зеленый	0,061	0,4	0,37	0,6	ярко-синие-зеленый
Суренаван (водосборный канал)	7,7	9,0	0,05	0,2	0,18	0,34	светло-зеленый	0,035	0,25	0,14	0,34	светло-зеленый
Суренаван (артезианская вода)	6,6	8,6	-	0,19	0,12	0,27	зеленовато-желтый	-	0,25	0,16	0,29	зеленовато-желтый
Контроль (ср. Заррука)	9,0		0,84				ярко-синие-зеленый	0,81				ярко-синие-зеленый

Примечание: приведены результаты от трех до пяти повторностей опытов.

для роста изучаемых организмов. На росте культур больше сказывалось добавление источника углерода, чем азота. В этом случае одновременное добавление источников углерода и азота значительно стимулировало рост обеих культур.

Существенных различий в росте и содержании пигментов при выращивании на исследованных водах не было обнаружено. Из испытанных наиболее пригодными оказались среды, разработанные на основе грунтовых и промывных вод из местностей Воскетап и Егегнут (табл. 2).

Интересно отметить, что в процессе интенсивного роста культур во всех вариантах опытов отмечалось увеличение значения рН до 10,0-11,0.

В период выращивания постоянно велись морфологические наблюдения на фазово-контрастном микроскопе. Исследования показали, что независимо от среды выращивания культура была морфологически неоднородная. В поле зрения всегда были почти в равных количествах прямые и более или менее закрученные в спираль клетки. Однако это обстоятельство не влияет на состояние клеток и соответственно на биологическую ценность биомассы. Сухая биомасса в течение нескольких месяцев даже на свету не теряет зеленый цвет. Приведенные выше результаты показывают, что в стационарных условиях выращивания выход биомассы невысокий. По-видимому, это результат воздействия нескольких факторов, наиболее важными из которых являются отсутствие аэрации и прерывность культивирования. Кроме того, при транспортировке вод происходит значительная потеря углекислого газа.

Таким образом, полученные результаты подтверждают, что некоторые из испытанных минеральных вод и стоков солончаков можно использовать в качестве основы дешевых питательных сред при массовом культивировании микроводорослей рода *Spirulina*. В периодической культуре при аэрации обогащенным CO_2 воздухом можно намного увеличить выход биомассы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Г.И., Топчян Ж.С. Курортная зона Арзакан-Агверан. Ереван, 9-13, 1973.
2. Геология Армянской ССР, том IX. Минеральные воды. Ереван, 140-471, 1969.
3. Гусев М.В. Цианобактерии (физиология и метаболизм). 228, М., 1979.
4. Определитель бактерий Берджи, 9-ое издание, 1, 375-392, М., 1997.
5. Criferri O. Microbiol. Rev., 47, 4, 551-578, 1983.
6. Filali M.R., Cornet J.F., Fontane T., Fournete B., Dubertret G. Biotechnol. Lett., 15, 3, 1993.
7. Lehtimaki J., Moisander P., Sivonen K., Kononen K. Appl. Environ. Microbiol., 63, 5, 1647-1656, 1997.
8. Mitsui A. Biosaline research: The Use of Photosynthetic Marine Organisms in Food and Feed Production. Plenum Press, New York, 192-194, 1979.
9. Mitsui A., Murray R., Entenmann B., Miyazawa K., Polk E. Environ. Science Research, 23, 1, 215-225, 1981.
10. Philippis R., Margheri M.C., Materassi R., Vincenzini M. Appl. Environ.

- Microbiol., 64, 3, 1130-1132, 1998.
11. Soeder C.J. Hydrobiologia, 72, 1, 197-209, 1980.
 12. Tel - OR E. Beussiba S., Richmond A.E. Algae Biomass Elsevier. North-Holland Biomedical Press, 611-618, 1980.
 13. Van Rijn J., Shilo M. Appl. Environ. Microbiol., 52, 2, 340-344. 1986.
 14. Venkataraman L.V. Blue-green Algae Spirulina. CFTRY Press. Mysore, India, 1983.

Поступила 10.11.1999

Биолог. журн. Армении, 2 (52), 1999

УДК 579.253.4:579.842.11

МЕХАНИЗМ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ОБЛУЧЕННОГО УФ-СВЕТОМ *lon* МУТАНТА NM9 *ESCHERICHIA COLI K-12* ПАНТОИЛЛАКТОНОМ

Г.Г. ОГАНЕСЯН, Л.С. ХАЧАТРЯН, С.С. ОГАНЕСЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян

Добавление пантоиллактона (ПЛ) в ростовую среду до или после облучения УФ-светом приводит к резкому (до 500 раз) увеличению выживаемости *lon* мутантов *Escherichia coli K-12*. С повышением концентрации ПЛ увеличивается время генерации, удлиняется лаг-фаза, снижается уровень накопления биомассы, уменьшаются размеры колоний и филаментов. Обнаружена прямая корреляция между скоростью роста культуры и ее чувствительностью к УФ облучению.

ՈւՄ ճառագայթումից առաջ կամ հետո պանտոիլլակտոնի (ՊԼ) ավելացումը ածի միջավայրին բերում է *Escherichia coli K-12*-ի *lon* մուտանտի կենսունակության (մինչև 500 անգամ) կտրուկ բարձրացման: ՊԼ-ի քանակության ավելացումից կախված, մեծանում է կուլտուրայի կրկնապատկման ժամանակը, երկարում է լագ-ֆազը, ընկնում է կենսազանգվածի կուտակման մակարդակը, նվազում են զաղութների և ֆիլամենտների չափերը: Հայտնաբերված է կուլտուրայի ածի արագության և ՈւՄ ճառագայթման հանդեպ նրա զգայունության ուղիղ կախվածությունը:

The addition of pantooyllactone to growth medium before or after UV-irradiation causes the sharp increase (about 500-fold) of survivability in *lon* mutants of *Escherichia coli K-12*. Rise of pantooyllactone concentration brings to elongation of generation time and lag-phase, to decrease of biomass accumulation and to reduction of colonies and filaments sizes. Direct correlation between culture growth rate and sensitivity to UV-irradiation has been revealed.

Lon мутанты *Escherichia coli* - УФ-облучение - пантоиллактон - репарация

Одним из проявлений SOS-ответа на УФ-облучение является индукция *sulA* гена, контролирующего биосинтез ингибитора клеточного деления (ИКД) [6, 7, 9, 10]. У диких штаммов *Escherichia coli* после завершения репарации ДНК ИКД разрушается генопродуктом *lon* гена АТФ-зависимой протеазой (АТФЗП), и деление клеток возобновляется. Но у *lon* мутантов из-за резкого снижения АТФЗП активности ингибирование клеточного деления становится