

Биолог. журн. Армении, 3-4 (56), 2004

УДК 567.866.4

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ ВОД АРМЕНИИ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛИ *SPIRULINA PLATENSIS*

А.Х. ПАРОНЯН, Э.К. АФРИКЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян

Изучена возможность выращивания микроводоросли *Spirulina platensis* на средах, разработанных на основе минеральных вод Армении. Из испытанных источников более пригодными оказались минеральные воды Арарата (Ахгел), Малишки, Ванадзора и Апарана. Добавление к минеральным водам небольших количеств неорганических источников углерода и азота заметно стимулирует рост культуры. Установлено, что интенсивность роста и пигментообразования спироулины зависит от содержания в источниках ионов Ca^{2+} , $\text{K}^+ + \text{Na}^+$. Высокие концентрации ионов Ca^{2+} угнетают рост и образование пигментов, тогда как достаточно большое содержание катионов $\text{K}^+ + \text{Na}^+$ благоприятно влияет на жизнедеятельность культуры. Важное значение имеет также уровень насыщенности источников углекислотой.

Ուսումնասիրվել է *Spirulina platensis* միկրոջրիմուղի աճեցման հնարավորությունը Հայաստանի հանքային ջրերի հիման վրա մշակված միջավայրերում: Փորձարկված աղբյուրներից առավել պիտանի են համարվել Արարատի (Աղգյուլ), Մալիշկայի, Վանաձորի և Ապարանի հանքային ջրերը: Նշված ջրերին անօրգանական ածխածնի և ազոտի ոչ մեծ քանակների ավելացումը նկատելի խթանել է կուլտուրայի աճը: Հաստատվել է, որ սպիրուլինայի աճի և պիգմենտառաջացման ինտենսիվությունը կախված է Ca^{2+} , $\text{K}^+ + \text{Na}^+$ իոնների պարունակությունից: Ca^{2+} -ի իոնների մեծ քանակները ճնշում են կուլտուրայի աճն ու պիգմենտների առաջացումը, այն դեպքում, երբ $\text{K}^+ + \text{Na}^+$ բավականին մեծ քանակները բարենպաստ են ազդում կուլտուրայի կենսագործունեության վրա: Կարևոր նշանակություն ունի նաև աղբյուրների ջրի ածխաթթվով հագեցվածության աստիճանը:

The possibility of growth of *Spirulina platensis* microalgae on the nutrient media produced on the base of different hydrocarbonate mineral springs of Armenia has been investigated. Among the tested springs the mineral waters of Ararat (Aghgel), Malishka, Vanadzor and Aparan were more suitable. The growth of culture was visibly stimulated when small amounts of inorganic sources such as carbon and nitrogen were added to the mineral waters. The dependence of intensity of growth and carotenoid pigments formation on maintenance of ions Ca^{2+} , $\text{K}^+ + \text{Na}^+$ in the springs has been shown. The high concentration of Ca^{2+} ions suppresses the growth and pigments formation, instead sufficiently high amounts of $\text{K}^+ + \text{Na}^+$ ions influence on the growth of the culture favourably. The level of saturation of springs with the carbon dioxide is also important.

Спирулина - минеральные воды - биомасса — пигменты

Микроводоросли вызывают всеобщий интерес для получения белково-витаминных продуктов кормового и пищевого назначения. В ряде стран на их основе организовано крупнотоннажное производство этих продуктов и разнообразных ценных биологически активных веществ [6, 9].

Микроводоросли рода *Spirulina* характеризуются высоким выходом внутриклеточного белка (60-65%), содержанием фикобилинов, каротина и других биологически активных веществ. В отличие от других микроводорослей спиролина отличается высокой перевариваемостью - 85-90% [7].

Наряду с благоприятными климатическими условиями, Армения располагает большими ресурсами углекислых минеральных источников, часть которых нами ранее была испытана для выращивания спиролины. Полученные ранее [4] результаты показали, что некоторые из этих минеральных вод можно использовать в качестве основы дешевых питательных сред.

В настоящей работе были продолжены поиски дешевых питательных сред, разработанных на основе минеральных источников Армении, пригодных для выращивания и накопления биомассы спиролины.

Материал и методика. В качестве объекта исследования использовали аскологически чистую культуру микроводоросли *Spirulina platensis* из коллекции РЦДМ. Культуру поддерживали на минеральной среде Заррука [5]. Последняя служила также контрольной средой для изучения динамики роста, накопления биомассы и пигментов.

Культуру выращивали в 250 мл колбах Эрленмейера с ватными пробками в стационарных условиях в люминистате при круглосуточной освещенности 1000-1500 люкс (с помощью ламп накаливания) и температуре 30-32°. В качестве посевного материала использовали 8-суточную культуру спиролины, выращенную на среде Заррука в тех же условиях. В качестве основ питательных сред для выращивания спиролины впервые использовали минеральные воды источников Айоцзорской, Ширакской, Гаварской и Ванадзорской групп Армении. Воды использовали как в нативном виде, так и с добавлением неорганических источников углерода и азота. Количества вносимых добавок соответствовали таковым этих веществ в контрольной среде Заррука. Перед использованием воду фильтровали через ватный фильтр. Посевной материал вносили в количестве 3% от объема среды. За ростом следили в течение 12 сут, что соответствует экспоненциальной фазе роста. Контроль за культурами осуществляли с помощью фазово-контрастного микроскопа. Рост культур определяли взвешиванием осадка сухого вещества на мембранных фильтрах размером 0,17 миллипор, а также нефелометрически на ФЭК-54М по величине экстинкции при длине волны 540 нм. О содержании пигментов судили по спектрам поглощения целых клеток культуры, которые снимали на регистрирующем спектрофотометре "Specord UV-vis". В тексте приведены результаты трех повторностей опытов.

Результаты и обсуждение. Нами была предпринята попытка выявить оптимальные параметры роста спиролины на водах разных минеральных источников, а также установить, в какой мере углеродные и азотные добавки к минеральным водам могут влиять на рост и пигментообразование спиролины. Сравнительные результаты по выращиванию *S. platensis* на нативных минеральных водах и с разными добавками представлены в табл. 1. Данные таблицы в большинстве случаев согласуются с данными, полученными нами ранее при испытании ряда минеральных вод [4]. Они также свидетельствуют о недостаточности в минеральных водах источников углерода и азота. Внесение в изучаемые среды нитрата и бикарбоната натрия в различной степени стимулирует рост спиролины.

Наши наблюдения показали, что немаловажное влияние на рост спиролины оказывает также ионный состав минеральных вод. Из литературных данных известно, что кальций играет важную роль в метаболизме цианобактерий разной степени организации [2]. С другой стороны, особенность микроводоросли спиролина состоит в том, что

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

Место- рождение	Тип воды	Общая минера- лизация, г/л	Содержание CO_2 г/л	Начальный pH	pH после добавок	Температура источника, °C	Рост без добавок	Рост с дополнительными источниками			Цвет биомассы
								NaHCO_3	NaNO_3	NaHCO_3 + NaNO_3	
Ашоцк (Вазашен)	Гидрокарбонатно-хлоридные	0,52	0,95	6,6	8,8	12	0,05	0,31	0,30	0,38	Светло-зеленый
Ашоцк (Б. Сепсар)	Гидрокарбонатно-хлоридные	1,72	1,99	6,95	8,8	13,2	0,06	0,42	0,40	0,47	Светло-зеленый
Апаран	Гидрокарбонатно-хлоридные	0,09	1,36	6,7	8,9	8,6	0,12	0,48	0,54	0,71	Ярко сине-зеленый
Арабат (Ахгел)	Гидрокарбонатно-натриево-кальциево-магнєвые	5,1	2,35	7,95	9,2	18	0,10	0,44	0,41	0,82	Темно-зеленый
Ванадзор	Гидрокарбонатно-сульфатно-хлоридно-натриевые	5,5	0,7	6,7	8,77	10	0,095	0,37	0,33	0,69	Ярко сине-зеленый
Гавар	Гидрокарбонатно-хлоридно-натриево-кальциево-магнєзиевые	3,49	2,06	6,55	8,95	12	0,05	0,28	0,25	0,52	Зеленовато-желтый
Личк	Гидрокарбонатно-хлоридно-натриево-кальциево-магнєзиевые	2,2	0,99	6,8	8,85	11	0,06	0,39	0,39	0,55	Зеленовато-желтый
Малишка	Гидрокарбонатно-хлоридно-натриево-кальциево-магнєзиевые	6,8	1,62	7,75	9,25	17,2	0,15	0,40	0,40	0,81	Темно-зеленый
Контроль	Среда Заррука			9,0			0,83				Ярко сине-зеленый

общепринятая среда для ее выращивания содержит высокую концентрацию натрия и низкую - кальция [3]. В связи с изложенным представлялось важным для выращивания *S. platensis* испытать минеральные воды с разным содержанием ионов $K^+ + Na^+$ и Ca^{2+} . Анализ полученных результатов показал, что наличие в водах большого количества ионов Ca^{2+} лимитирует рост спирулины. Этим объясняется хороший рост спирулины на некоторых из испытанных минеральных водах, где содержание $K^+ + Na^+$ намного превышает содержание Ca^{2+} . Низкий выход биомассы наблюдается при выращивании на водах Сепасара, Азатека, Вазашена и Гавара, которые отличаются относительно высоким содержанием ионов Ca^{2+} и низким $K^+ + Na^+$ (табл. 2).

Таблица 2. Содержание некоторых ионов в минеральных водах Армении

Ионы	Содержание ионов в минеральных водах, мг/л							
	Азатек	Апаран	Ахгел	Ванадзор	Вазашен	Гавар	Малишка	Сепасар
$K^+ + Na^+$	608,4	5,1	1212,7	1393,2	4,5	502,5	1620,1	136,2
Ca^{2+}	577,0	16,0	43,9	149	65,0	349,0	16,7	121,6
HCO^-	3267,4	43,9	2110,6	1769,0	378,0	1610,4	4026,0	1212,6

Примечание: данные таблицы приведены по Мкртчяну и др. [1].

Известно, что HCO^- ион является главным составляющим минеральных вод Армении, однако не все источники, содержащие большие количества этого иона, являются благоприятными для роста спирулины. По-видимому, наличие больших концентраций Ca^{2+} снижает действие HCO^- на рост культуры. Подтверждением этому является очень низкий выход биомассы при выращивании на водах Азатека и Гавара с высоким содержанием аниона HCO^- . Следует отметить, что ионы Ca^{2+} влияют также на количественное содержание пигментов спирулины. Особенностью *S. platensis* является отсутствие в пигментном составе фикоэритрина [8]. При рассмотрении спектра поглощения суспензии живых клеток культуры видно чередование областей поглощения пигментов. Во всех случаях при росте у культуры обнаруживается хлорофилл а (максимум поглощения при 443 и 684 нм), фикоцианин (максимум поглощения при 623 нм) и каротиноид (максимум поглощения при 500 нм). Однако по мере увеличения концентрации Ca^{2+} заметно уменьшается содержание пигментов (рис. 1). Сравнительный анализ экспериментальных данных показывает, что среди испытанных источников по накоплению биомассы и пигментообразованию наибольший интерес представляют минеральные источники Ахгел, Малишка, Ванадзор и Апаран. Вода последнего источника имеет очень низкую степень минерализации, но будучи пресной, в то же время сильно насыщена углекислотой, что весьма благоприятно влияет на рост спирулины. К сожалению, прямого сравнения влияния концентрации Ca^{2+} на рост спирулины провести нельзя, т.к. изучены еще не все источники, содержащие высокие концентрации Ca^{2+} .

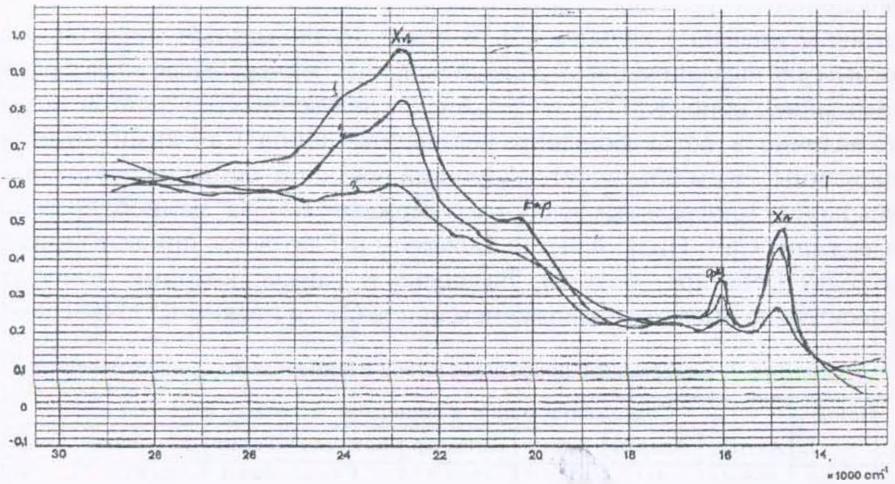


Рис. 1. Спектры поглощения целых клеток *S. platensis*, выращенных на минеральных водах, содержащих разные концентрации ионов Ca^{2+} : 1 - на мин. воде Малишка, 2 - на мин. воде Вакадзор, 3 - на мин. воде Гавар.

В заключение можно отметить, что предложенные нами минеральные источники, несомненно, пригодны для выращивания спироулины, однако описанные в этой работе условия выращивания далеко не оптимальны для роста культуры. Необходимо в дальнейших исследованиях применять более оптимальные условия выращивания, учитывая все характерные особенности роста изучаемой культуры.

ЛИТЕРАТУРА

1. Геология Армянской ССР, том IX. Минеральные воды. Ереван, 140-471, 1969.
2. Маркарова Е. Н., Кирикова Н.Н., Тамбиев А.Х. Биотехнология, 11-12, 42-47, 1997.
3. Маркарова Е. Н., Кирикова Н.Н., Тамбиев А.Х., Гусев М.В. Вестник МГУ, Сер. 16. Биология, 1, 3-7, 1997.
4. Паронян А.Х., Африкян Э.К. Биолог. журн. Армении, 52, 2, 117-124, 1999.
5. Пиневиц В.В., Верзилин Н.Н., Михайлов А.А. Физиология растений, 15, 3, 1037-1046, 1970.
6. Henrikson R. Earth food *Spirulina*. Kenwood, California: Ronore Enterprises, Inc., 180p, 1994.
7. Mitsui A. Biosaline research: The use of photosynthetic marine organisms in food and feed production. Plenum Press, New York, 192-194, 1979.
8. Mohanty P., Srivastava M., Krishna K.B. *Spirulina platensis* (Arthrospira). Ed. Vonshak A. London, Taylor and Francis, 17-42, 1997.
9. Philippis R., Margheri M.C., Materassi R., Vincenzini M. Appl. Environ. Microbiol., 64, 3, 1130-1132, 1980.

Поступила 3.XI.2004