

## ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ЖЕЛЕЗА НА РОСТ И ПИГМЕНТООБРАЗОВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛИ *SPIRULINA* *PLATENSIS*

Ա.Մ. ԲԱՐՍԵՂՅԱՆ, Զ.Կ. ԱՖՐԻԿՅԱՆ\*

\*Институт микробиологии ИАН Армении, 2201, г. Абовян

\*\*Республиканский Центр Депонирования Микробов ИАН Армении, 2201, г. Абовян

Изучена возможность выращивания сине-зеленой водоросли *Spirulina platensis* на средах, разработанных на основе гидрокарбонатных минеральных источников Армении. Показано, что рост и пигментообразование спирулины зависят от количества ионов  $Fe^{2+}$ , содержащихся в минеральных водах. Установлено, что минеральные источники, содержащие всего 2мг/л ионов железа, вполне пригодны для выращивания микроводоросли.

Ստուգված սիդրվել է *Spirulina platensis* կապտա-կանաչ ջրիմուռի աճեցման հնարավորությունը Հայաստանի հիդրոկարբոնատային հանքային աղբյուրների հիման վրա մշակված միջավայրերի վրա: Զույգ է տրվել, որ սպիրուլինայի աճն ու պիգմենտառաջացումը կախված են հանքային ջրերում առկա երկաթի իոնների քանակից: Հաստատվել է, որ ընդամենը 2մգ/լ երկաթի իոններ պարունակող հանքային աղբյուրները լիովին պիտանի են միկրոօրգանիզմի աճեցման համար:

The possibility of growth of *Spirulina platensis* on the nutrient media with different hydrocarbonate mineral springs of Armenia has been investigated. The dependence of intensity of growth and pigments formation on maintenance of ions  $Fe^{2+}$  in the springs has been shown. The level of  $Fe^{2+}$  ions 2mg/l in mineral springs are quite suitable for growth of this microalgae.

Микроводоросли - спирулина - минеральные источники - ионы железа

Сине-зеленая водоросль *Spirulina platensis* является объектом биотехнологии как продуцент белково-витаминных кормовых и пищевых продуктов, разных биологически активных веществ [1]. Из клеток спирулины выделен активный сульфатсодержащий полисахарид, который обладает антивирусным свойством [8]. Использование доступных и дешевых питательных сред для выращивания *S. platensis* даст возможность получать ценную биомассу без больших расходов. Ранее нами были разработаны дешевые питательные среды на основе минеральных вод Армении [6]. Было установлено, что интенсивность роста и пигментообразования спирулины зависят от содержания в источниках ионов  $Ca^{2+}$  и  $K^{+}Na^{+}$ . Обычно повышение концентрации металлов в среде выращивания подавляет жизнедеятельность микроводорослей [4]. В связи с тем что минеральные источники Армении резко отличаются содержанием ионов железа представляло интерес изучение роста и спектральной характеристики *S.*

*platensis* на минеральных водах с разным содержанием железа, что и явилось целью настоящей работы.

**Материал и методика.** В качестве объекта исследования использовали ацетолгически чистую культуру микроводоросли *S. platensis* из коллекции РЦИМ. Культуру поддерживали на минеральной среде Заррука [11]. Среда Заррука служила также контрольной средой для изучения накопления биомассы и пигментов. Культуру выращивали в стационарных условиях в 250 мл колбах Эрленмейера с ватными пробками в люминестате при круглосуточной освещенности 1500 лк и температуре 30-32°. В качестве посевного материала использовали 8-суточную культуру спирулины, выращенной на среде Заррука и тех же условиях. В качестве основ питательных сред использовали гидрокарбонатные минеральные воды Айцшорской, Ширакской и Личк-Мартушинской групп Армении. Источники использовали после добавления незначительных количеств неорганических источников азота и углерода. Перед употреблением воды отфильтровывали через ватный фильтр. Посевной материал вносили в количестве 3% от объема среды. За ростом следили в течение 12 сут, что соответствует экспоненциальной фазе роста. О физиологическом состоянии культуры судили по цвету культуральной жидкости и по форме клеток. Контроль за культурой осуществляли с помощью фазово-контрастного микроскопа. Рост культуры контролировали визуально и определением сухого веса биомассы. Биомассу собирали пропусканием культуральной жидкости через фильтр Зейтца с использованием мембранных фильтров (размер пор 0,17 мкм). О содержании пигментов судили по спектрам поглощения интактных клеток культуры, которые снимались на регистрирующем спектрофотометре "Specord" UV-vis.

**Результаты и обсуждение.** Изучение выращивания спирулины на минеральных средах позволило выявить некоторые характерные особенности роста и пигментообразования культуры. Микроводоросль *S. platensis* является облигатно-фототрофным и экстремофильным организмом, но очень чувствительна к свету и ионам разных металлов [5, 10]. Минеральные источники Армении в основном не содержат тяжелые металлы. Из содержащихся в минеральных источниках металлов интерес представляет железо. Спирулина для своего роста требует небольшое количество ионов  $Fe^{2+}$ . Так, общепринятая для выращивания микроводоросли среда Заррука содержит всего 10 мг/л железа [7]. Минеральные воды Армении резко отличаются содержанием ионов  $Fe^{2+}$  (0,1-1120 мг/л). В качестве нормы для отнесения минеральных вод к железистым принято содержание железа больше 20 мг/л [2]. В исследованных нами источниках содержание  $Fe^{2+}$  колеблется в пределах 2,0-30 мг/л. Основываясь на ранее полученные данные, при выборе источника одновременно учитывали содержание в них ионов  $Ca^{2+}$  и  $K^{+}Na^{+}$ . Результаты опытов показали, что количество ионов железа выше 30 мг/л заметно влияет на рост спирулины. Обобщенные результаты проведенных экспериментов представлены в таблице.

Как видно из данных таблицы, наиболее хороший рост наблюдается на контрольной среде Заррука. А из минеральных источников хороший рост обеспечили не те воды, которые содержат одинаковые с контролем концентрации железа, а те, которые содержали всего 1,5-2,0 мг/л (Ахгел, Малишка). Такое различие, по-видимому, связано с видовой особенностью изучаемой микроводоросли, ибо условия выращивания во всех случаях были одинаковые. Торможение роста спирулины наблюдается при содержании металла 30 мг/л, а полное его подавление - при концентрации

Таблица. Рост *S. platensis* на минеральных водах Армении с разным содержанием ионов железа (биомасса, сухой вес, г/л)

Место-рождение	Тип воды	Общая минерализация, г/л	Содержание CO <sub>2</sub> , г/л	Содержание Fe <sup>2+</sup> , мг/л	Начальный pH	pH после добавок	Температура, С°	Рост с дополнительными источниками		
								NaHCO <sub>3</sub>	NaNO <sub>3</sub>	NaHCO <sub>3</sub> + NaNO <sub>3</sub>
Арагат (Ахгел)	Гидрокарбонатно-натриево-кальциево-магниевые	5,1	2,3	1,5	7,9	9,2	18	0,44	0,41	0,82
Арзни	Гидрокарбонатная кальциевая-магниевая	5,8	1,8	28,8	6,6	8,7	23	0,32	0,30	0,41
Бжни	Гидрокарбонатная хлоридно-натриевая-кальциевая	4,6	2,5	10,0	6,9	8,9	25	0,36	0,35	0,63
Кечут		2,9	1,6	10,0	6,0	8,6	13	0,41	0,40	0,61
Малшика	Гидрокарбонатная хлоридно-натриево-кальциево-магниевые	6,8	1,6	2,0	7,7	9,2	17	0,40	0,40	0,82
Ашошк (Сепасар)	Гидрокарбонатно-хлоридные	1,7	2,0	20,0	6,9	8,8	13	0,42	0,40	0,47
Личк (Севан)	Гидрокарбонатная хлоридно-натриево-кальциево-магниевые	2,2	1,0	30,8	6,8	8,9	11	0,39	0,39	0,40
Контроль	ср.Зарружа			10,0	9,0			0,83		

ниже 0,5 и выше 40 мг/л.

Увеличение концентрации железа в источниках одновременно влияет и на спектральную характеристику целых клеток культуры. Анализ спектров поглощения не показал никаких различий в качественном составе пигментов. Отмечается изменение их количественного состава, наиболее выраженное при концентрации железа выше 30 мг/л.

Известно, что, кроме хлорофилла, светособирающими компонентами спирулины являются фикоцианин и каротиноиды. Полосы поглощения при 443 и 684 нм принадлежат хлорофиллу а, 623 нм – фикоцианину. Плечо около 500 нм обусловлено поглощением каротиноидов [9]. С увеличением концентрации ионов железа происходит общее понижение биосинтеза пигментов, однако их излишнее количество особенно подавляет биосинтез фикоцианина (рис.). При этом цвет культуры принимает желтоватый оттенок.

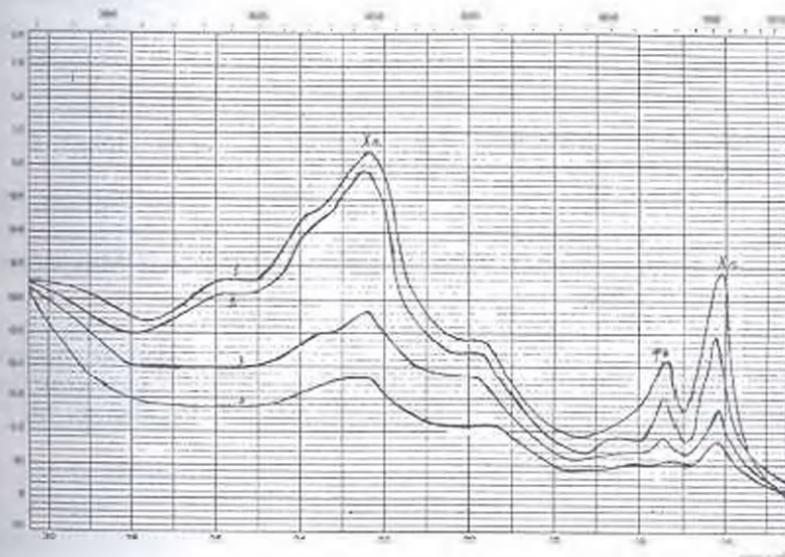


Рис. Спектры поглощения целых клеток *S. platensis*, выращенных на минеральных источниках с разным содержанием ионов железа: 1 – ср. Заррука; 2 – мин. вода Малишка; 3 – мин. вода Бэни; 4 – мин. вода Личк.

Из испытанных источников по уровню пигментообразования наилучшим оказалась минеральная вода Малишка (кривая 2), содержащая всего 2 мг/л ионов железа. Низкий уровень пигментообразования наблюдается на среде, разработанной на основе минеральной воды Личк (кривая 4), в которой содержание ионов железа составляет 30,8 мг/л.

В течение роста нами велись морфологические наблюдения организма на фазово-контрастном микроскопе. Независимо от использованного минерального источника культура оказалась морфологически неоднородной. Следует отметить, что природная популяция *S. platensis* также отличается гетерогенностью по морфологическому составу и представляет смесь спиральных и прямых клеток [3]. Исследования показали, что большие

концентрации ионов железа влияют и на морфологическую организацию клеток культуры. Чем выше концентрация ионов  $Fe^{2+}$ , тем меньше закрученные в спираль клетки и больше прямые. Кроме этого, наблюдаются отдельные легенеративные клетки, не имеющие ярко-зеленый цвет. Часто видны разорванные короткие кусочки таллома.

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что минеральные источники, содержащие невысокие концентрации ионов железа (Малишка и Ахгел), обеспечивают нормальный рост и развитие микроводоросли и могут быть использованы в качестве питательных сред для выращивания *S. platensis*. Исходя из полученных данных, следует отметить, что при выборе среды выращивания на основе минеральных источников, следует учесть состав суммарного количества ионов, содержащихся в них. С другой стороны, изучение воздействия различных ионов, содержащихся в минеральных источниках, на рост и пигментообразование спиролины может стать предметом дальнейших исследований.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Большевцева Ю.В., Мажорова Л.Е., Терехова И.В. и др. Прикл. биохимия и микробиология, 39, 5, 571-576, 2003.
2. Геология Армянской ССР, Т.IX. Минеральные воды. Ереван, 140-471, 1969.
3. Иенатъевская М.А., Тхукрал А.К., Бурдин К.С., Носов В.Н. Микробиология, 65, 5, 613-620, 1996.
4. Костяев В.Я. Микробиология, 49, 5, 821-824, 1980.
5. Левич А.П., Ревкова Н.В., Булгаков П.Г. Процесс "потребление-рост" в культурах микроводорослей и потребности клеток в компонентах минерального питания. Экологический прогноз. М: Изд-во МГУ. 132-139, 1986.
6. Паронян А.Х., Африкян Э.К. Биол. журн. Армении, 56, 3-4, 138-142, 2004.
7. Пиневич В.В., Верзилин П.П., Михайлов А.А. Физиология растений, 15, 3, 1037-1046, 1970.
8. Hajashi T., Hajashi K., Maeda M., Kojima J. Natural Products, 59, 1, 83-87, 1996.
9. Mohanty P., Srivastava M., Krishna K.B. *Spirulina platensis* (Arthrospira). Ed. Vonshak A. London: Taylor and Francis. 1997. P.17-42.
10. Rakhimberdieva M.G., Biochenko V.A., Karapetyan N.V., Stadnicukh I.N. Biochemistry, 40, 15780-15788, 2001.
11. Soeder C.J. Hydrobiologia, 72, 1, 197-209, 1980.

Поступила 25.X 2005