

Биолог. журн. Армении, 3-4 (58), 2006

УДК 567.866.4

ВЛИЯНИЕ ИСТОЧНИКОВ АЗОТА НА РОСТ И ПИГМЕНТООБРАЗОВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛИ *SPIRULINA PLATENSIS*

А.Х. ЦАРОНИАН*, Э.К. АФРИКЯН**

*Институт микробиологии НАН Армении, 2201, г. Абовян

**Республиканский Центр Депонирования Микробов НАН Армении, 2201, г. Абовян,
microbio@sci.am

Изучены рост и пигментообразование микроводоросли *Spirulina platensis* при выращивании на гидрокарбонатных минеральных водах с разными неорганическими источниками азота. Установлено благоприятное воздействие нитратов на рост и физиологическое состояние спирулины. Показано, что аммонийные соли, хотя используются культурой, но из-за подкисления среды лимитируют рост и биосинтез пигментов. Из испытанных минеральных источников для выращивания спирулины наиболее пригодной оказалась минеральная вода Малишка.

Անուճանասիրվել է *Spirulina platensis* միկրոօրգանիզմի աճն ու պիգմենտառաջացումը Հայաստանի հիդրոկարբոնատային հանքային ջրերի վրա՝ ազոտի ածրոգանական տարբեր աղբյուրների օգտագործմամբ: Դաստատվել է նիտրատների բարենպաստ ազդեցությունը միկրոօրգանիզմի աճի և ֆիզիոլոգիական վիճակի վրա: Ցույց է տրվել, որ բենամոնիումի աղերը յուրացվում են կուլտուրայի կողմից, սակայն թթվեցնելով միջավայրը՝ սահմանափակում են նրա աճն ու պիգմենտառաջացումը: Փորձարկված հանքային աղբյուրներից սսիրուլինայի աճեցման համար պիտանի է համարվել Սալիշկա հանքային ջուրը:

The growth and pigments formation of microalgae *Spirulina platensis* on the hydrocarbonate mineral springs of Armenia with different inorganic sources of nitrogen have been investigated. The favourable influence of nitrates on the growth and physiological state of *Spirulina* has been shown. Though the ammonium salts are used with culture they limit the growth and biosynthesis of pigments due to acidification of nutrient media. Among studied mineral springs, mineral water from Malishka village has more favorable action on for growth of *Spirulina*.

Спирулина - источники азота - минеральные воды - пигменты

Микроводоросли рода *Spirulina* привлекают внимание исследователей как источник получения кормовых и пищевых продуктов, разнообразных ценных биологически активных соединений [8]. В связи с этим, поиски путей получения полноценной биомассы спирулины являются актуальными.

Известно, что все цианобактерии растут в автотрофных условиях. В качестве источников азота используют аммоний, многие также нитраты и мочевину. Имеются также сведения о том, что рост некоторых цианобактерий, в частности *Spirulina elongatus*, в качестве источников азота могут продуцировать глутамат, аргинин, пролин и ряд других аминокислот [3].

В ранее опубликованных работах в качестве основы питательных сред для культивирования спирулины использовали различные природные минеральные воды Армении [4]. Однако накопление биомассы из-за недостатка азота было невысоким. Известно, что по газовому составу большинство минеральных источников Армении углекислые. Ограниченно представлены углекисло-сероводородные воды и воды с большим содержанием азота. Азотно-углекислые гидрокарбонатные воды отличаются небольшой общей минерализацией (1,1-1,4 г/л) и в них присутствует большое число микроэлементов. Из минеральных вод азотно-углекислые встречаются в Аташе, Арарате и Арагаце [2]. Целью настоящего исследования было изучение роста и пигментообразования *S. platensis* на минеральных источниках в зависимости от добавленных неорганических источников азота.

Материал и методика. Объектом исследований служила ацтологически чистая культура *S. platensis* из коллекции РЦДМ. Культуру поддерживали на среде Заррука [9]. В качестве основы питательных сред для культивирования спирулины использовали ранее отобранные нами минеральные воды. Воды были использованы как в нативном виде, так и после добавления разных источников азота. Количество азотных добавок соответствовало концентрации азота в среде Заррука. Выращивание культуры проводили в 250мл колбах Эрленмейера с ватными пробками (объем питательной среды 100мл) в стационарных условиях в люминистате при круглосуточном освещении лампами накаливания. Температура роста 30-32°, интенсивность освещения 1500 лк. В качестве посевного материала использовали 8-суточную культуру спирулины, выращенную на среде Заррука. Посевной материал вносили в количестве 3 % от объема среды. Продолжительность опытов равнялась 15 сут. Каждые 5 сут определяли биомассу и пигментный состав культуры. Контроль за культурой осуществляли на фазово-контрастном микроскопе. Рост культуры контролировали визуально и определением сухого веса. Биомассу собирали пропусканием культуральной жидкости через фильтр Зейтца с использованием мембранных фильтров размером пор 0,17миллион. О физиологическом состоянии культуры судили по цвету культуральной жидкости и по спектрам поглощения клеток культуры, которые снимали на регистрирующем спектрофотометре "Spectord UV-Vis". В работе представлены результаты из трех повторностей опытов.

Результаты и обсуждение. Из литературных данных известно, что продуктивность спирулины зависит от температуры роста, интенсивности освещения, а также от отдельных компонентов питательной среды [6]. Состав пигментов и их количество также могут резко изменяться в зависимости от веществ в среде, определяющих энергетические и конструктивные процессы цианобактерии [1].

Нами исследовано влияние ряда неорганических соединений азота на рост и пигментообразование спирулины при выращивании на средах, разработанных на основе минеральных вод. Сравнительные результаты по влиянию источников азота на прирост биомассы представлены в таблице.

Как следует из данных таблицы, добавление к минеральным водам нитратов приводило к увеличению прироста биомассы в среднем на 6-7% сухого вещества. Максимальная стимуляция роста наблюдается на 5-8 сут роста. Использование нитратов приводило к повышению pH среды, но подавления роста не наблюдалось, так как спирулина способна расти при значении pH до 10,0-11,0[8].

Таблица. Влияние неорганических источников азота на рост *S. platensis* на минеральных источниках Армении

Минеральные воды	Источники азота						
	NaNO_3	NH_4NO_3	NH_4Cl	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	без доп. N
Арабат (Ахгел)	0,88	0,86	0,40	0,42	0,20	0,80	0,1
Апаран	0,56	0,54	0,38	0,40	0,18	0,47	0,11
Ванадзор	0,87	0,85	0,36	0,38	0,15	0,69	0,09
Гавар	0,8	0,59	0,30	0,32	0,12	0,48	0,05
Малинка	0,89	0,87	0,45	0,40	0,15	0,81	0,15
Контроль(ср. Заррука)	0,83						

Цифры - биомасса, г сух. в-ва/л.

Использование аммонийных солей азота приводит к подкислению среды, что ухудшает рост культуры. Прирост биомассы наблюдается лишь в первые сутки роста, пока pH уменьшается незначительно. С падением pH снижается жизнеспособность культуры. Значение pH можно регулировать фосфатами или же бикарбонатом, однако высокие концентрации последних также подавляют рост культуры. Небольшое увеличение выхода биомассы наблюдается, когда в качестве азотного питания использовали мочевины. Прирост биомассы составляет около 2,3 %. Следует отметить, что источники азота не оказывают влияния на качественный состав пигментов. Во всех случаях при росте спирулины обнаруживается хлорофилл а (максимум поглощения при 443 и 684 нм), фикоцианин (максимум поглощения при 623 нм) и каротиноид (максимум поглощения при 500 нм). Некоторые расхождения наблюдаются лишь в содержании отдельных пигментов. Так, в культуре, выращенной на нитратах, содержание каротина и фикоцианина больше, чем в культуре, выращенной на аммонийных солях и мочевины (рис.).

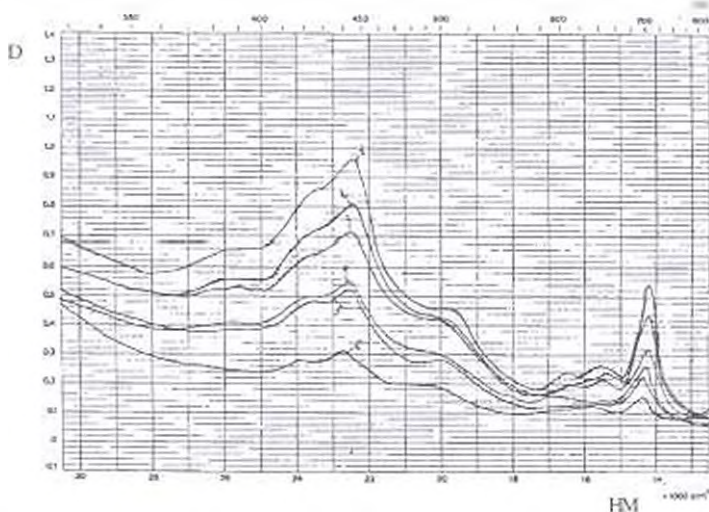


Рис. Спектры поглощения целых клеток *S. platensis*, выращенных на минеральной воде Малинка с разными источниками азота. 1- NaNO_3 , 2- $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, 3- NH_4Cl , 4- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 5- $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 6- без источника азота.

Наблюдения показали, что ярко-сине-зеленый цвет биомассы наблюдается на средах, где источником азота служат нитраты. Культура, выращенная на аммонийных солях и мочеvine, имеет желтоватый оттенок. Это свидетельствует о том, что компоненты питательной среды влияют на фотосинтетический аппарат спиролины [7]. Важное значение для роста и биосинтеза пигментов имеет состав минеральных вод. В этом отношении благоприятными оказались минеральные воды Малишка и Арарат, в ионном составе которых содержание Ca^+ , Na^+ намного превышает содержание Ca^{2+} [5].

В период выращивания постоянно велись морфологические наблюдения за культурой. Независимо от источника минеральной воды и источника азота культура была морфологически неоднородная. В поле зрения присутствовали как клетки, закрученные в спираль, так и прямые нити разной длины. Однако количество прямых трихомов намного больше при использовании аммонийных солей азота, что свидетельствует о неблагоприятном воздействии этих солей на развитие культуры. Разумеется, этому способствуют также освещенность, pH среды, ионный состав минеральных вод и др.

Другие закономерности роста и развития культуры на указанных источниках азота те же, что и при росте на контрольной среде Заррука.

Таким образом, обобщая полученные данные, можно предположить, что физиологически полноценную биомассу спиролины на минеральных источниках можно получить только после добавления к ним источников азота, в частности нитратов. Полученные результаты могут представлять определенный интерес при получении полноценной биомассы спиролины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреев Е.И., Коптева Ж.П., Запина В.В. Цианобактерии. Научова думка, Киев, 65-130, 1990.
2. Геология Армянской ССР, том IX. Минеральные воды. Ереван, 140-471, 1969.
3. Кондратьева Е.Н. Автотрофные прокариоты. Моск. университет, 104-128, 1996.
4. Паронян А.Х., Африкян Э.К. Биолог. журн. Армении, 52, 2, 117-124, 1999.
5. Паронян А.Х., Африкян Э.К. Биолог. журн. Армении, 56, 3-4, 138-142, 2004.
6. Пиневиц В.В., Верзилин Н.Н., Михайлов А.А. Физиология растений, 15, 3, 1037-1064, 1970.
7. Jin M.X., Mi H. Photosynthetica, 40,2, 161-164. 2000.
8. Mohanty P., Srivastava M., Krishna K.B. *Spirulina platensis* (Arthrospira). Ed. Vonshak A. London: Taylor and Francis, 1997. P.17-42. Schubert H.
9. Soeder C.J. Hydrobiologia, 72, 1, 197-209, 1980.

Поступила 17.X.2006