

Биолог. журн. Армении, 3-4 (59), 2007

УДК 567.866.4

ЗНАЧЕНИЕ СУЛЬФАТ-ИОНА ДЛЯ РОСТА И ОБРАЗОВАНИЯ ПИГМЕНТОВ ЦИАНОБАКТЕРИИ *SPIRULINA PLATENSIS*

А.Х. ПАРОНЯН, Э.К. АФРИКЯН

Центр микробиологии и депонирования микробов НАН Армении, 2201, г. Абовян

Изучена возможность выращивания цианобактерии *Spirulina platensis* на средах, разработанных на основе минеральных источников Армении. Показано, что рост и пигментообразование спироулины зависят от содержания в минеральных источниках сульфат-аниона. Установлено, что минеральные источники, содержащие концентрации SO_4^{2-} выше 1,0 г/л и ниже 0,2 г/л не пригодны для накопления биомассы спироулины, независимо от других компонентов минерального питания. Из испытанных минеральных источников для выращивания спироулины наиболее пригодными оказались воды Арагат (Ахлагел), Малишка и Апаран, содержащие около 0,6 г/л сульфат-иона.

Ուսումնասիրվել է *Spirulina platensis* կապտականաչ ջրիմուռի աճեցման հանրաժողովրդուն Հայաստանի հանքային ջրերի հիման վրա մշակված միջավայրերում: Տեսչ է տրվել, որ սպիրուլինայի աճն ու պիգմենտառաջացումը կախված են հանքային ջրերում սուլֆատ-անիոնի պարունակությունից: Հաստատվել է, որ այն հանքային աղբյուրները, որոնցում SO_4^{2-} իոնի պարունակությունը 1,0 գ/լ աճել կամ 0,2 գ/լ պակաս է, պիտանի չեն սպիրուլինայի կենսազանգված ստանալու համար՝ անկախ հանքային սնուցման այլ ռադիոլիզների առկայությունից: Փորձարկված հանքային աղբյուրներից սպիրուլինայի աճեցման համար առավել պիտանի են մոտ 0,6 գ/լ սուլֆատ-իոն պարունակող Արաթի (Աղազյուլ), Մալիշկայի և Ապարանի հանքային ջրերը:

The growth of *Spirulina platensis* on the nutrient media prepared on the basis of different hydrocarbonated mineral springs of Armenia has been investigated. The dependence of growth and pigment formation on content of SO_4^{2-} anions in the mineral springs has been shown. The concentrations of SO_4^{2-} ions in mineral springs more 1,0 mg/l and low than 0,2 g/l are not favorable for growth and biomass production of *Spirulina* independent by from other components of mineral nutrition. Among studied mineral springs, mineral waters of Ararat (Aghagel), Malishka and Aparan regions has more favorable action for growth of *Spirulina*.

Спирulina - минеральные источники - сульфат-ион - биомасса - пигменты

В процессе жизнедеятельности спироулина синтезирует и выделяет в окружающую среду органические вещества различной химической природы и биологической активности. Среди этих метаболитов наиболее ценными являются такие аминокислоты как аланин, лейцин, аспарагиновая, глутаминовая кислоты, а также витамины группы В, фикобилины, полисахариды, оргкислоты и другие ценные вещества [8]. Из клеток спироулины выделен активный сульфатсодержащий полисахарид, который обладает антивирусным свойством [6]. Цианобактерии *S. platensis* также

используются для биоаккумуляции золота [3].

Подобно водорослям и высшим растениям, цианобактерии, в том числе спирулина, образуют хлорофилл α и β -каротин. Однако для спирулины характерно наличие особого, окрашенного в голубой цвет соединения, называемого фикоцианином. Фикобилиновые пигменты составляют цепь переноса энергии в фикобилисомах, где они расположены. Содержание фикоцианина может существенно меняться в зависимости от компонентов питательной среды, а также от интенсивности освещения. Обладая таким набором пигментов, микроводоросли способны наиболее полно использовать видимую часть спектра солнечного света [7].

Цель настоящего исследования - изучение влияния ионов сульфата на рост и пигментобразование *S. platensis*, выращенных на минеральных водах Армении.

Материал и методика. Работа была проведена с аутотрофически чистой культурой микроводоросли *S. platensis* из коллекции RCEM. Культуру поддерживали на минеральной среде Заррука [9]. Последняя служила также контрольной средой для сравнения накопления биомассы и пигментов на минеральных источниках. В качестве основы питательных сред для культивирования спирулины использовали минеральные воды Армении, содержащие разное количество сульфат-иона. Минеральные источники использовали после добавления незначительных количеств неорганических источников азота и углерода. Количество добавок соответствовало концентрации азота в среде Заррука. Выращивание культуры проводили в 250 мл колбах Эрленмейера с патными пробками (объем питательной среды 100 мл) в стационарных условиях в люминесценте при круглосуточном освещении. Опыты проводили при температуре роста 30-32° и pH = 9,0-9,5. В качестве источников освещения использовали лампы накаливания. Как посевной материал использовали 8-суточную культуру спирулины, выращенную на среде Заррука. Посевной материал вносили в количестве 3% от объема среды. Через 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 0,12 мкм. О физиологическом состоянии культуры судили по цвету культуральной жидкости и по спектрам поглощения клеток культуры, которые снимали на регистрирующем спектрофотометре "Specord UV-Vis". В работе представлены результаты трех повторностей опытов. Длительность опытов равнялась 15 сут.

Результаты и обсуждение. Ранее нами было показано, что минеральные воды Армении можно использовать в качестве основы дешевых питательных сред при массовом культивировании микроводорослей рода *Spirulina*. Было также установлено, что интенсивность роста спирулины в значительной степени зависит от ионного состава минеральных источников, особенно от содержания $K^+ + Na^+$, Ca^{2+} и ионов железа [4,5]. В настоящей работе показано, что не менее важное значение для роста и пигментобразования спирулины имеет содержание сульфат-аниона в минеральных водах.

Для биосинтетических процессов цианобактерии нуждаются в источниках серы. У спирулины потребность в сере в основном обеспечивают сульфаты. Сульфатные ионы являются важнейшими ионами минеральных вод. Процесс окисления сульфидов играет главную роль в появлении сульфат-иона в природных водах. В зависимости от интенсивности процессов обогащения источников сульфатами, минеральные воды Армении делятся на сульфатные и гидрокарбонатно-сульфатные [2]. В сульфатных источниках

SO_4^{2-} может достигать 58,6-80,6%. Интересно отметить, что воды с большим содержанием сульфатов не имеют общей минерализации, превышающей 5-8 г/л. Содержание сульфатов в общепринятой для выращивания спироулины среде Заррука составляет 1,2 г/л. На SO_4^{2-} - дефицитной среде Заррука рост спироулины замедляется, начиная с первых суток выращивания, и в дальнейшем полностью прекращается.

Интересные результаты были получены при выращивании спироулины на минеральных водах с разным содержанием сульфат-иона (табл.). Эти результаты позволяют предположить, что минеральные источники, содержащие сульфат-ион 0,2 г/л и меньше, не пригодны для выращивания спироулины. Таковыми являются источники Арапат, Арзни, Ашошк и др. Однако следует обратить внимание на некоторые несоответствия полученных данных. Так, на минеральных водах Гавар, Личк, содержащих 0,06-0,08 г/л SO_4^{2-} анниона, выход биомассы в среднем составляет 0,45-0,5 г/л, что намного больше, чем на вышеуказанных минеральных источниках.

Таблица. Влияние SO_4^{2-} анниона на рост *S. platensis*, выращенной на минеральных источниках Армении

Минеральные источники	Общая минерализация, г/л	Содержание SO_4^{2-} , г/л	Биомасса, г/л сухого веса
Арапат	1,5	0,065	0,37
Апарат	0,9	0,48	0,71
Арзни	5,8	0,225	0,31
Арапат (Ахател)	5,1	0,59	0,82
Арзакан	4,6	0,269	0,61
Ашошк (Сенасар)	1,72	0,02	0,36
Анкаван	4,8	0,177	0,47
Бжни	4,6	0,218	0,63
Ванадзор	5,5	1,344	0,29
Гавар	3,49	0,08	0,5
Джермук	5,0	1,08	0,40
Кечут	1,75	0,16	0,39
Личк	2,2	0,06	0,45
Матинка	6,8	0,58	0,81
Советашен	2,8	1,448	0,21
Среда Заррука (контроль)			0,83

По-видимому, в этих случаях кроме сульфат-иона играют роль такие параметры, как общая минерализация, содержание других важных компонентов минерального питания. Сравнение способности спироулины к росту при высоких концентрациях SO_4^{2-} иона показало, что источники, содержащие сульфат-ион более 1,0 г/л, также не пригодны для накопления биомассы спироулины независимо от других компонентов минерального питания. Таковыми оказались источники Советашен, Джермук, Ванадзор. На этих средах средний выход биомассы составляет 0,55 г/л сухого вещества. Можно предположить, что высокие концентрации сульфат-иона подкисляют

питательную среду, а для спирулины оптимальными являются щелочные условия. Сравнительно высокий выход биомассы обеспечивают минеральные источники Ахагел, Малишка и Апаран. Последние отличаются не только оптимальным содержанием сульфат-иона, но и составом таких компонентов минерального питания, как $K^+ - Na^+$, Ca^{2+} и HCO_3^- . Эти данные согласуются с результатами, полученными нами ранее. Сульфат-ион одновременно влияет на биосинтез каротиноидов, тем самым и на спектральную характеристику целых клеток культуры. При постоянном качественном составе происходят некоторые количественные изменения пигментного состава организма (рис.).

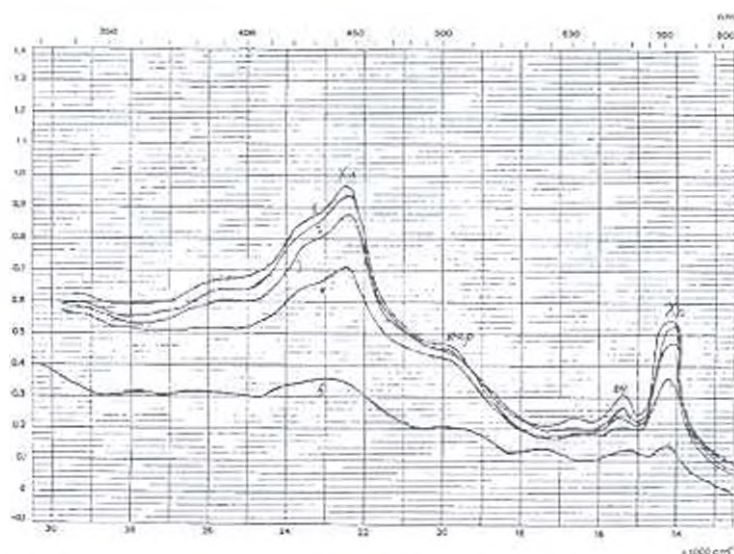


Рис. Спектры поглощения целых клеток *S. platensis*, выращенных на минеральных водах, содержащих разные концентрации ионов сульфата: 1 - Апарат (Ахагел), 2 - Малишка, 3 - Апаран, 4 - Кефут, 5 - Советашен.

Во всех случаях выращивания на спектрах поглощения целых клеток культуры обнаруживается хлорофилл а с максимумами поглощения при 443 и 684 нм, фикоцианин - с максимумом поглощения при 623 нм и каротиноид с максимумом поглощения при 500 нм. Низкие концентрации сульфат-иона приводят к уменьшению фикоцианина и каротиноиды (кр. 4). В то же время содержание сульфат-иона незначительно влияет на биосинтез хлорофилла. Оптимальная концентрация его для роста и биосинтеза пигментов составляет 0,5-0,6 мг/л, концентрация 1,0 г/л и более высокие приводят к морфологическим изменениям культуры, а в дальнейшем к ингибированию роста микроводоросли. Постепенно происходит также изменение окраски культуры от ярко-зеленого к желтоватому.

Следует отметить, что рост и пигментообразование спирулины зависят также от световых и температурных условий выращивания. Все указанные факторы на рост спирулины действуют одновременно. *S. platensis* является светоустойчивой культурой и может расти при освещенности 6000 лк [1], что представляет определенный интерес для промышленного производства

биомассы в районах Армении, отличающихся богатыми минеральными источниками и высокой инсоляцией.

Таким образом, судя по полученным данным, микроводоросль *S. platensis*, обитающая в щелочных условиях, для роста не испытывает высокой потребности в сульфат-ионах. Вместе с тем, кроме минерального питания, рост и пигментообразование спироулины зависят от условий выращивания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Билычевцева Ю.В., Мажорова Л.Е., Терехова И.В. и др. Прикл. биохимия и микробиология, 39, 5, 571-576, 2003.
2. Геология Армянской ССР, том IX. Минеральные воды. Ереван, 140-471, 1969.
3. Каримушка В.П., Грузина Т.Г., Ульберг Э.Р. Микробиология, 64, 2, 192-196, 1995.
4. Кольчугина И.Б., Маркарова Е.Н. Микробиология, 74, 6, 745-749, 2005.
5. Паронян А.Х., Африкян Э.К. Биол. журн. Армении, 58, 1-2, 38-42, 2006.
6. Hajashi T., Hajashi K., Maeda M., Kojima J. Natural Products, 59, 1, 83-87, 1996.
7. Henrikson R. Earth food Spirulina. Kenwood, California: Ronore Enterprises, Inc., 180p, 1994.
8. Mohanty P., Srivastava M., Krishna K.B. *Spirulina platensis* (Arthrospira). Ed. Vonshak A. London: Taylor and Francis, 1997. P.17-42.
9. Soeder C.J. Hydrobiologia, 72, 1, 197-209, 1980.

Получена 11.VII.2007