Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 16 (55). 2003 г. №1. С. 128-132.

УДК 551.464.09:582.232

А. В. Бородина

РОСТОВЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ SPIRULINA PLATENSIS (NORDST.) GEITER В УСЛОВИЯХ ЗАМЕНЫ ГИДРОКАРБОНАТОВ НА КАРБОНАТЫ В СРЕДЕ ЗАРРУКА

В последнее время, с развитием биотехнологии микроводорослей, особое внимание уделяется изучению рода Spirulina, наиболее часто встречаемому виду Spirulina platensis. Для культивирования данной микроводоросли обычно используют среду Заррука, а также ее модификации [8-12]. Одним из важнейших биогенов в питательных средах является углерод, от ионной формы которого (органической или неорганической), зависит не только механизм накопления углерода в клетке [7,2,9], но и биохимический состав, ростовые характеристики и форма трихом спирулины [6,1,10,11]. Основной вклад в состав солей среды Заррука вносит бикарбонат натрия (76%). Ранее нами был проведен сравнительный анализ ионных форм CO_2, pH и ростовых характеристик при выращивании Spirulina platensis в накопительной культуре на стандартной среде Заррука (контрольная среда) и среде Заррука с заменой бикарбоната на карбонат натрия (карбонатная среда), с учетом высокой ионной силы раствора [1]. Однако, в карбонатной среде был допущен дополнительный источник неорганического углерода образующегося из CO_2; при пропускании воздуха через суспензию микроводорослей. Для объективного сравнения ростовых характеристик Spirulina p. двух различных сред и механизмов активного транспорта неорганического углерода в клетку были проведены дополнительные исследования целью которых являлось: 1) оценить влияние полной замены гидрокарбонатов на карбонаты в среде Заррука на ростовые характеристики Spirulina platensis; 2) исследовать динамику неорганического и органического углерода в карбонатной среде и сравнить с контрольной средой Заррука.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования в этой работе послужила Spirulina platensis из коллекции ИнБЮМ НАНУ. Водоросли выращивали на люминостате в стеклянных двухлитровых стаканах при непрерывном освещении снизу. Интенсивность освещения составляла 5600-6000 лк. При постоянном барбатировании воздухом, очищенным от CO_2. Температура среды во время эксперимента колебалась от 27^0C до 30^0C. Эксперимент проводился в двух повторностях. Объем суспензии в стаканах равнялся 1 л при высоте слоя 9,5 см. Начальная оптическая плотность при D_{750} после внесения инокулята спирулины во всех 4-х стаканах Была 0,27 ед. опт. пл.

Измерения проводились на КФК-2 в кюветах 0,5 см. Контроль pH среды велся при помощи иономера ЭВ-74. Определение органического углерода в среде проводили бихроматным сжиганием [5]. Определение карбонатов и гидрокарбонатов осуществлялось стандартной методикой [3,4], с учетом физико-химических особенностей приготовления данной среды [1]. Отбор проб для определения плотности культуры проводили ежедневно в одно и то же время. Для компенсации испарения уровень раствора в сосуде предварительно доводили до метки 1 л дистиллированной водой и при перемешивании отбирали пробу объемом 5 мл its каждого стакана.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Ростовые характеристики спирулины, выращенной на двух различных средах приведены на рис.1.

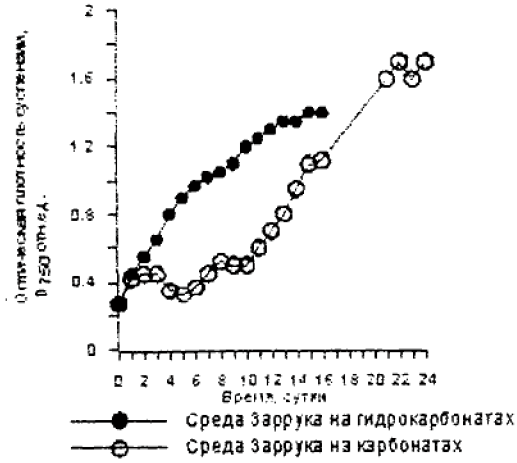


Рис. 1. Кривые роста *Spirulina platensis* при выращивании на карбонатной и контрольной среде Заррука.

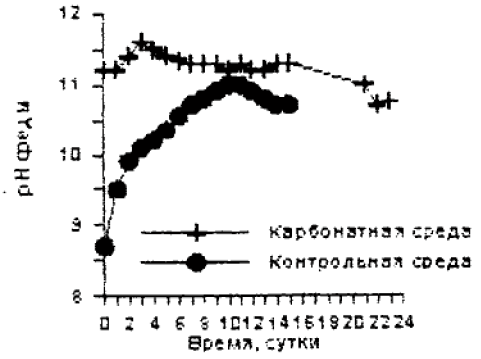


Рис. 2. Динамика pH в карбонатной и контрольной средах Заррука

Кривая роста контроля характеризуется отсутствием лаг-фазы. В течение 6-и суток наблюдался практически линейный рост культуры. В дальнейшем, до 14-х суток, рост микроводоросли также был линейным, но угол наклона заметно уменьшился. На 15-16 сутки спирулина вышла на стационарную фазу роста. В варианте на карбонатной среде кривая роста значительно отличалась от контрольной. Можно было выделить ряд особенностей. Первый период до 11-го дня являлся адаптационным, т. к. предварительно культура наращивалась на стандартной среде Заррука. Наблюдалась массовая гибель клеток спирулины, с распадом трихом на мелкие фрагменты. Сохранившие жизнеспособность клетки, приобретали характерные морфологические изменения: вытягивание трихом в длинные хаотически закручивающиеся нити, изменение цвета от сине-зеленой (контрольной) до светло-зеленой окраски. В этот период жизнедеятельность клеток поддерживается за счет внутренних резервов и продуктов бактериальной деструкции отмерших клеток. С 11-го дня эксперимента до выхода на "плато" наблюдался активный рост клеток.

В контрольном варианте источником углерода преимущественно являются гидрокарбонаты, что подтверждается исследованиями по активному транспорту углерода [7]. Соотношение HCO_3^-/CO^{2-} сходно с раннее описанной [1]. По мере накопления биомассы содержание гидрокарбонатов существенно снижается, а карбонатов повышается. Процесс ассимиляции биогенов сопровождается ростом pH (рис.2) и смещением равновесия в сторону карбонатов. Совсем иначе выглядит это соотношение в карбонатной среде (рис.3). При pH выше 11 динамика неорганического углерода сводится к динамике карбонат-иона. Гидрокарбонаты, образующиеся вследствие смещения карбонатного равновесия при снижении pH, использовались микроводорослями в качестве предпочитаемого источника углерода. Наиболее активное снижение концентрации карбонатов (на 2,7 г/л) было отмечено в период активного роста спирулины: с 11 по 21 дни эксперимента.

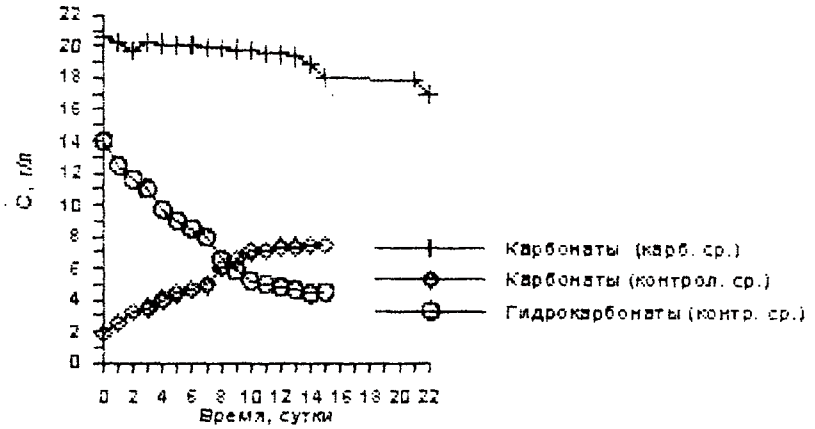


Рис. 3. Динамика содержания карбонатов и гидрокарбонатов в карбонатной среде и контрольной среде Заррука

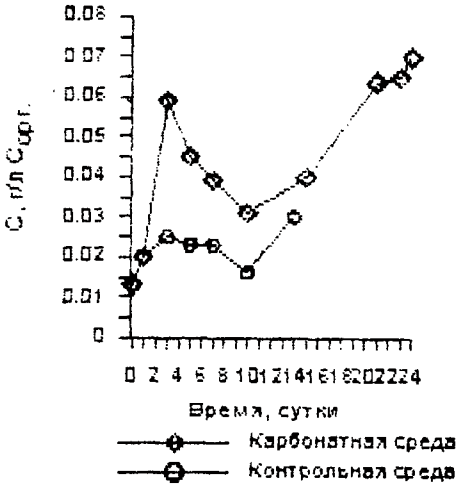


Рис. 4. Динамика органического углерода при выращивании Spirulina platensis на карбонатной и контрольной среде

Динамика неорганического углерода тесно связана с динамикой органического углерода. В карбонатной среде наблюдались существенные отличия от контрольной среды Заррука (рис.4). За первые двое суток в карбонатной среде было замечено резкое увеличение органических веществ, по сравнению с контролем. Эти связано с переменой условий культивирования и возникающим, вследствие этого "стрессом" микроводоросли. В дальнейшем, до 11 дня, спирулина в качестве основного источника углерода, вероятней всего, использовала углерод, образующийся вследствие деструкции отмерших клеток. С 11-го дня и до конца эксперимента наблюдалось увеличение органических веществ в среде, что могло быть вызвано как развитием бактерий, так и выделением большого количества полисахаридов (слизи), вследствие особенности физиологии клеток спирулины при неблагоприятных условиях, например, pH. Снижение pH среды, отмеченное после 11-го дня эксперимента предоставляет альтернативный (органическому углероду) источник данного биогена в виде бикарбонат-иона.

ВЫВОДЫ

При выращивании спирулины на среде Заррука, основу которой составляют карбонаты, наблюдался адаптационный период до 11-го дня эксперимента. В результате перенесенного культурой стресса, ее трихомы вытянулись в длинные изогнутые нити и приобрели не характерный зеленоватый оттенок. В конце эксперимента, ростовые характеристики микроводорослей, выращенных на карбонатной и на контрольной средах, были схожи по величине оптической плотности. На протяжении всего эксперимента в карбонатной среде наблюдался более высокий уровень органического углерода, чем в контроле, и минимальное количество гидрокарбонат-иона, увеличивающееся к концу эксперимента. Отличие спирулины, выращенной на карбонатной среде, от спирулины в контрольной среде,

по-видимому, связано не только с неоптимальными pH среды [1], но и разными механизмами активного накопления углерода клетками [7,6].

Список литературы

1. Бородина А. В.. Динамика содержания гидрокарбонатов и карбонатов в среде Заррука при выращивании микроводорослей Spirulina platensis (Nordst.) Geitl. В накопительной культуре // Экология моря. - 2002.- В. 60. - С. 48-52.
2. Гусев М. В. Сравнительная физиология сине-зеленых водорослей // Успехи микробиологии.-1966. - В. 3. - С. 74-103.
3. Лурье Ю. Ю. Унифицированные методы анализа вод. - Москва: Химия, 1972. - 304 с.
4. Лурье Ю. Ю. Справочник по аналитической химии. - Москва: Химия, 1965. - 390 с.
5. Методы гидрохимических исследований основных биогенных элементов. - М.: ВНИРО. 1988.-113 с.
6. Скороход Т. Ф., Тупик Н. Д., Черня Б. Ф. Зависимость липидного состава Spirulina platensis (Gom.) Geit. (cyanophyto) от способа энергетического существования культуры. От фотоавтотрофии и хемогетеротрофии Я Альгология. - 1996. - Т. 6. - № 3. - С. 235 - 241.
7. Терещенко А. Ф., Подорванов Б. В., Золотарева Е. К. Активный транспорт неорганического углерода в клетки сине-зеленых водорослей (cyanophyto)// Альгология. -2002. - Т. 12. - № 4. - С. 491-500.
8. Faucher O., Coupal B., Leduy A. Utilization of seawater - urea as a culture medium for Spirulina maxima //National Research Counsel of Canada. - 1979. - P. 752-759.
9. Kebede E. Response of Spirulina platensis (= Arthrospira fusiformis) from Zake Chitu. Ethiopia, to salinity stress from sodium salts // J. Applied Phycology. - 1997. - V. 9. - P. 551-558.
10. Moroney J. V. And Somanchi A. How do Algae concentrate CO_2 to increase the Efficiency of Photesynthetic Carbon Fixation? // J. Plant Physiology. - 1999. - V. 119. - P. 9-16.
11. Petkov G. D. Nutrition medium for intensive cultivation of green microalgae in fresh and sea water // Algological studies. - 1995. - V. 78. - P. 81-85.
12. Tripathi U, Sarada R and Ravishankar G. A. A culture method for microalgal forms using two-tier vessel providing carbon-dioxide environment: studies on growth and carotenoid production // World Journal of Microbiology and Biotechnology.- 2001. - V. 17. - P. 325-329.

Поступила в редакцию 12.10.2002 г.