

**ДИНАМИКА РАЗМЕРНОГО СОСТАВА НИТЧАТОЙ ЦИАНОБАКТЕРИИ
SPIRULINA PLATENSIS В НАКОПИТЕЛЬНОЙ КУЛЬТУРЕ.**

Изучена динамика размерного состава двух штаммов *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler в накопительной культуре. Выявлены индивидуальные особенности штаммов. У штамма IBSS-31 больше доля длинноразмерных фракций и выше скорость роста чем у штамма IBSS-32. Даны рекомендации по оптимальным срокам сбора урожая цианобактерии.

Промышленное производство спирулины во многих странах мира развивается всё возрастающими темпами. Совершенствуются методики её культивирования [3, 4]. Биомасса *Spirulina platensis* съедобна и используется для производства фармакологических, иммунологических препаратов и в качестве биодобавки. В Украине уже созданы и успешно развиваются несколько предприятий по производству этого ценного биологического продукта.

Проведение данной работы было продиктовано потребностями реальной практики. Сбор урожая *S. platensis* на плантациях производится путём фильтрования через металлический или синтетический фильтр с ячейкой примерно 50×50 мкм или 50×20 мкм. Нити (трихомы) длиной до 150 - 200 мкм при этом теряются как продукция. Поэтому для повышения эффективности промышленного производства *S. platensis* целесообразно производить сбор урожая в тот момент, когда в популяции максимальна доля средне- и длинноразмерных фракций. Так же необходимо изучить и устранить (или уменьшить) факторы, ведущие к механическому или биологическому измельчению трихомов и во время выращивания и в момент сбора урожая.

Нашей целью было изучить динамику размерного состава двух штаммов *S. platensis* и подготовить рекомендации по оптимальным срокам сбора их урожая.

Материал и методы. Объектом исследования служили 2 культуры сине-зелёной водоросли (цианобактерии) *S. platensis* из коллекции отдела биотехнологий и фиторесурсов института биологии южных морей (штаммы IBSS-31, IBSS-32) [1]. Для проведения исследований засевной материал обоих штаммов предварительно подрачивался в трехлитровом хроматографическом стакане при непрерывном освещении снизу люминесцентными лампами ЛД-40. Уровень поверхностной освещённости составлял около 7000 лк. Толщина культурального слоя была 16 см, что вызывало светолимитирование роста, т.к. из-за высокой плотности культуры до верхних слоёв свет почти не доходил. Продолжительность опыта со штаммом IBSS-32 была 60 суток, и 30 суток со штаммом IBSS-31.

В опыте водоросли выращивались в плоских вертикальных стеклянных культиваторах собственной конструкции, ёмкостью 6 л и толщиной слоя 80 мм при непрерывном барботировании аквариумным микрокомпрессором и круглосуточном освещении люминесцентными лампами ЛД-40. Освещение было боковое. Поверхностная освещённость 8000 лк.

Ежедневно для измерений отбиралось около 20 – 40 мл культуры. В начале эксперимента, когда плотность культуры была минимальна, аликвота была больше, в конце – меньше.

Перед каждым измерением культура тщательно перемешивалась. Для измерения длины трихомов в пробирку отбиралось 3 - 5 мл тщательно перемешанной культуры и сразу же добавлялось 10 - 12 капель медицинского спиртового раствора йода для фикса-

© А. П. Шахматов, Т. В. Ефимова, 2005

ции (в случае, если измерения производились не сразу же) и для окрашивания. Толщина слоя культуры в камере Горяева равна 0,1 мм, и при высокой плотности культуры трихомы частично или полностью перекрывают друг друга, поэтому непосредственно перед измерениями проба разводилась водой в зависимости от исходной плотности. Ежеднев-

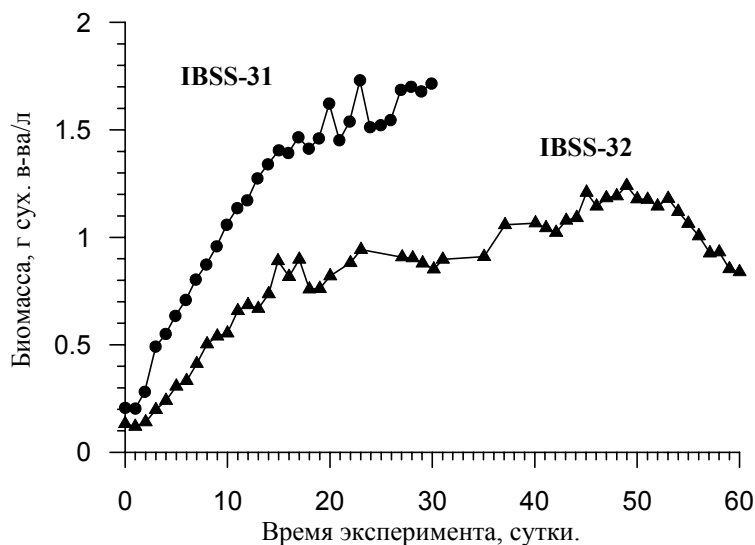


Рисунок 1. Накопительные кривые штаммов IBSS-31 и IBSS-32.
Figure 1. Growth rate curves of strains IBSS-31 and IBSS-32.

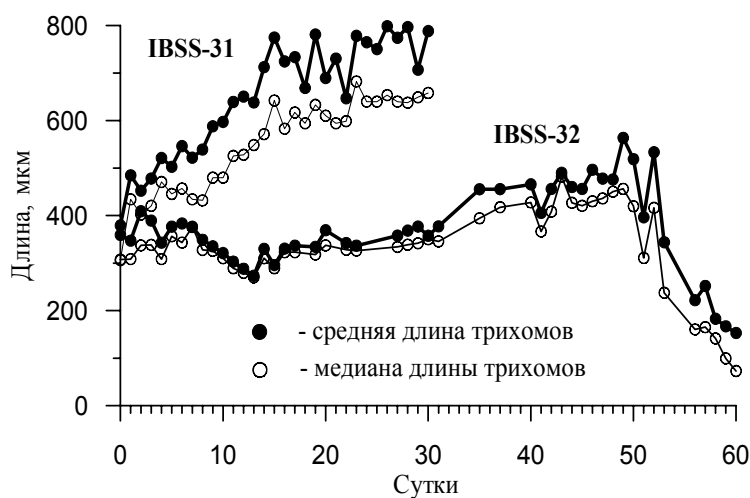


Рисунок 2. Динамика изменения медианы и среднего значения длины трихомов в накопительной культуре у штаммов IBSS-31 и IBSS-32.
Figure 2. Dynamics of changing of median and simple mean of filament length in continuous culture both strains IBSS-31 and IBSS-32.

ный фильтр, задерживающий даже самые короткие нити спироулины. Отдельно измеряли оптическую плотность полученного фильтрата и её величину вычитали из величины оптической плотности культуры, с учетом разбавления.

но в каждом опыте измерялась длина 200 трихомов. Такое количество измерений достаточно для отражения спектра размерного распределения культуры. Данные измерений заносились в электронную таблицу Excel, с учётом цены деления шкалы линейки окуляра находилась длина трихомов в мкм. Столбцы данных сортировались по увеличению длины трихомов и объединялись в группы с шагом 100 мкм. Рассчитывали % каждой размерной фракции. В пределах каждой размерной фракции данные различались не более чем на 5 - 7 %.

Биомассу *S. platensis* определяли по оптической плотности культуры [2]. Измерение оптической плотности в полосе 750 нм производили в кюветах 5 мм на фотоэлектроколориметре КФК-2. Для вычисления погрешности, вносимой плотностью среды и растворёнными в ней примесями, 10 мл пробы фильтровали через грубый бумаж-

Результаты и обсуждение. Форма накопительных кривых показывает, что в опытах с обоими штаммами линейная фаза роста *S. platensis* у обоих штаммов в наших условиях заканчивается примерно к 15-му дню (рис. 1). За время эксперимента температура культуры колебалась в пределах 28 - 32°C и не оказывала значительного влияния на изменение оптической плотности обеих культур (данные не приведены).

На рис. 2 представлена динамика изменения медианы и среднего значения длин трихом у обоих штаммов. Видно, что и медиана и средняя длина в исходной точке у них практически одинаковы. Обе указанные величины у штамма IBSS-31 после засева в све-

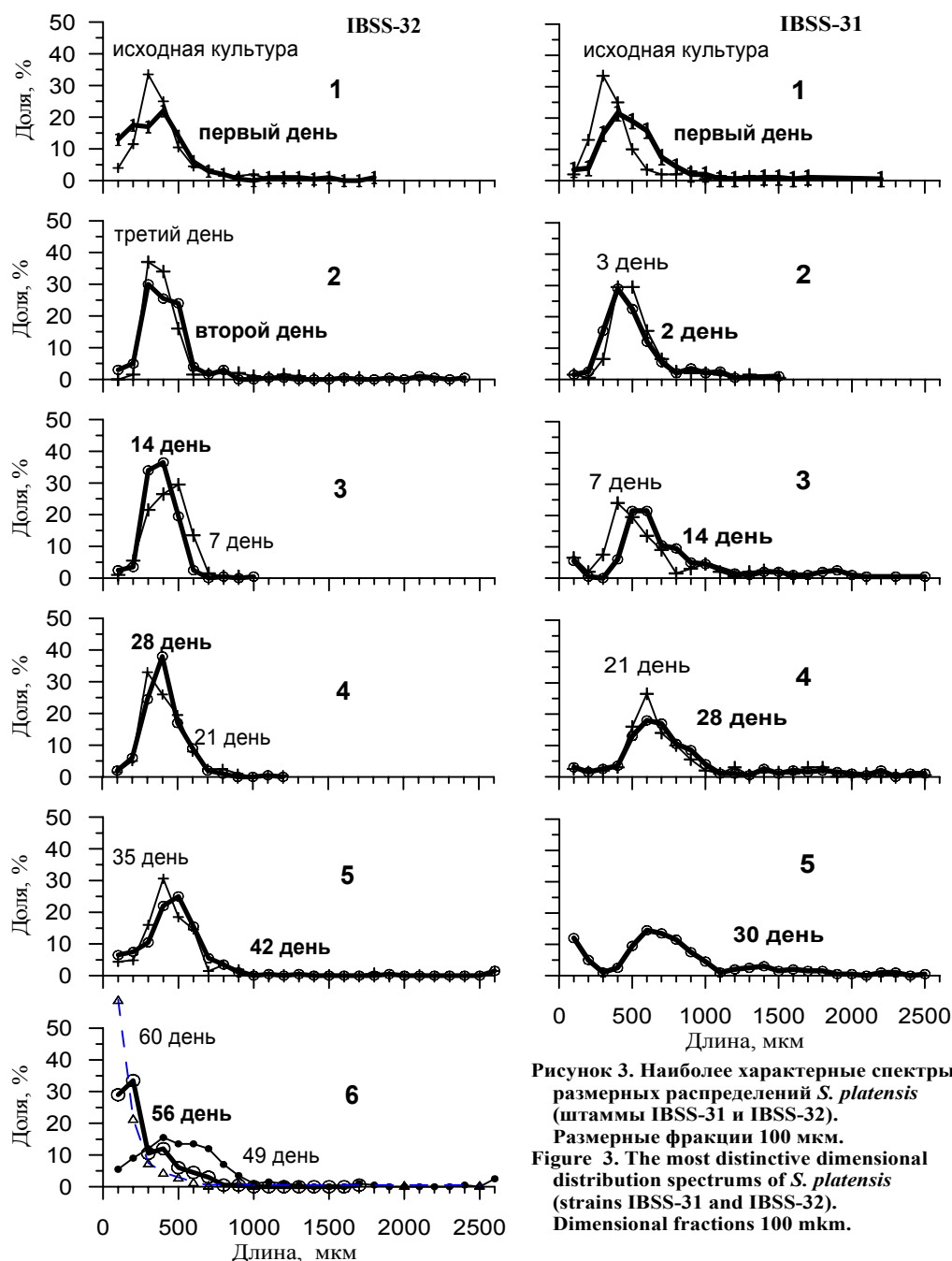


Рисунок 3. Наиболее характерные спектры
размерных распределений *S. platensis*
(штаммы IBSS-31 и IBSS-32).
Размерные фракции 100 мкм.
Figure 3. The most distinctive dimensional
distribution spectrums of *S. platensis*
(strains IBSS-31 and IBSS-32).
Dimensional fractions 100 mkm.

жую питательную среду, начинают расти, а у штамма IBSS-32 мало изменяются и даже уменьшаются с 6 по 13 сутки. В дальнейшем у штамма IBSS-32 наблюдается незначительный рост обеих величин до 49 суток, а после 50 суток начинается их резкое снижение. Такое же падение начинается на 49-е сутки и на ростовой кривой (рис. 1). Вероятно, резкое уменьшение медианы и средней длины так же может обозначать начало фазы отмирания. В целом, медиана и средняя длина не различаются по фазе колебаний, но флуктуации средней длины больше. Мы считаем, что лучше использовать медиану в качестве одного из критериев состояния культуры.

Каждой точке на графике накопительных кривых соответствует свой индивидуальный график размерного распределения. Из-за большого количества таких распределений, мы приводим их не все, а выборочно с интервалом в 7 дней и некоторые наиболее характерные (рис. 3).

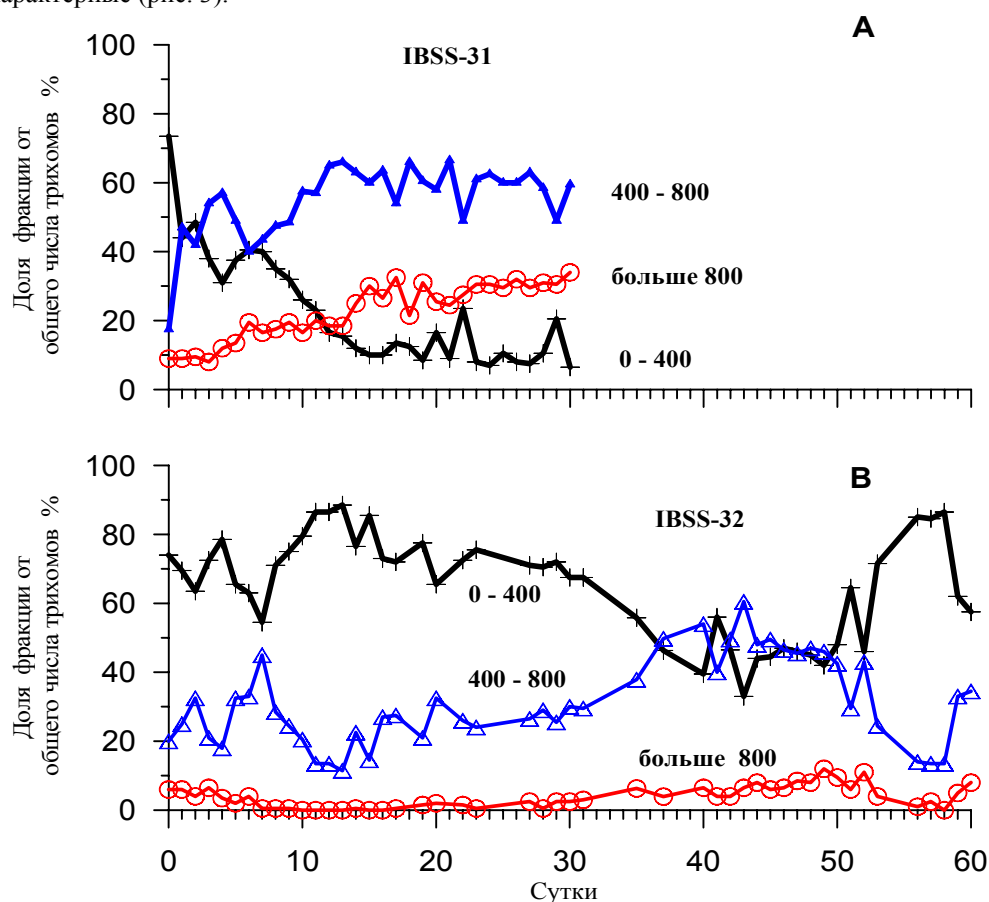


Рисунок 4. Динамика изменения доли трёх крупных размерных фракций в течение эксперимента у обоих штаммов *S. platensis*.

Figure 4. Changing dynamics of share of three large dimensional fractions during experiment at both strains *S. platensis*.

Самые большие изменения формы кривых размерных распределений происходят в первые дни после засева культуры. Далее в течение суток разница между этими кривыми визуально почти не наблюдается, но, за несколько дней тенденция, направленная в определённую сторону, накапливается, и незаметные для невооружённого глаза изменения становятся очевидными.

Сравнение размерного состава обоих штаммов показывает, что их исходные культуры почти не различаются. В процессе роста появляются характерные различия. У штамма IBSS-31 уже к 11 дню эксперимента некоторые трихомы достигают значительной длины (до 2500 мкм) и намечается минимум в области 200 - 400 мкм, который в дальнейшем проявляется заметнее. У штамма IBSS-32 трихомы длиннее 2000 мкм появляются только к 31 дню, минимум в области 200 - 400 мкм отсутствует, а на фазе отмирания культуры резко возрастает доля самых коротких трихомов за счёт уменьшения доли длинных и средних.

Более информативным мы считаем объединение размерных групп в 3 крупные размерные фракции: короткие - от 0 до 400 мкм; средние - от 400 до 800 мкм; длинные - свыше 800 мкм. На рис. 4 А и 4 В представлена динамика изменения этих трёх фракций. Как и средняя длина, доли больших фракций у обоих штаммов «стартуют» с одинаковых позиций: 70 % коротких, 20 % средних и 10 % длинных. Затем, у штамма IBSS-31 к концу второй недели роста доля коротких падает в 7 раз, доля средних увеличивается в 3 раза. Более плавно, в 2,5 - 3 раза растёт доля длинных. В дальнейшем доли каждой из 3 фракций поддерживаются с некоторыми флуктуациями на достигнутых значениях, вполне пригодных для сбора урожая. У штамма IBSS-32 доля коротких трихомов не уменьшается ниже 50 % вплоть до 35 суток. Доля средних всё время эксперимента ниже, чем у штамма IBSS-31. Доля длинных за 60 суток эксперимента так и не поднималась выше 10 %. Однако, следует заметить, что у *S. platensis* толщина и коротких и длинных трихомов одинаковая, но у фракции длинных вклад в общую длину (данные не приведены), а следовательно, в общую биомассу и продукцию значительно выше, чем вклад этой фракции в общее количество трихомов. Так, наиболее длинный трихом был зарегистрирован на 51-й день эксперимента со штаммом IBSS-32. Его длина составила 5830 мкм, что равноценно вкладу 117 трихомов длиной 50 мкм.

Для выводов об оптимальных сроках сбора урожая наибольшую информацию нам может дать сопоставление рис. 1 и рис. 4. С точки зрения технологии сбора урожая - наиболее эффективна фильтрация культуры, в которой максимально представлены средние и длинные трихомы, а доля мелких минимальна. Именно такое сочетание появляется у штамма IBSS-32 на седьмые сутки выращивания и после тридцати пятих (это состояние неустойчиво). Последнее неприемлемо, и экономически невыгодно, т.к. скорость роста культуры после 15-х суток минимальна.

Оптимальными сроками сбора урожая у штамма IBSS-31 можно считать с шестого по 15 дни роста с момента засева. В этот период доля короткой фракции (0 - 400) уменьшается по массе с 70 % до 10 %.

Заключение. Перед запуском в производство штаммов *S. platensis* необходимо изучить их индивидуальные особенности. Для производства *S. platensis* в промышленных масштабах предпочтительнее использовать штамм IBSS-31. У него больше доля длинноразмерных фракций. Рекомендуемые сроки сбора урожая в накопительной культуре *S. platensis* различаются у 2 штаммов: для штамма IBSS-31 – это с 6 по 15 сутки роста, а у штамма IBSS-32 – на 12 сутки и позже. Измерение размерного состава *S. platensis*, вычисление медианы и доли короткой фракции (0 - 400) в полевых условиях можно использовать, наряду с другими показателями, для определения состояния культуры, фазы её роста и готовности для сбора урожая.

1. Брянцева Ю. В., Дробецкая И. В., Харчук И. А.. Характеристика цианобактерии *Spirulina (Arthrospira) platensis* // Экология моря. – 2006. – Вып. 70. – С. 24 – 30.
2. Кондратьева Н. В. Морфология популяций прокариотических водорослей.// - Киев: Наук. думка, 1989. – 175 с.
3. Минюк Г. С., Тренкениу Р. П., Алисиевич А. В., Дробецкая И. В. Влияние селена на рост микроводоросли *Spirulina platensis* (Nordst.) в накопительной и квазинепрерывной культурах // Экология моря. – 2000.- Вып. 54, - С. 42 - 49.

4. Algal culturing techniques. // Ed. by R. A. Andersen.- San Diego, London: Elsevier Academic Press,- 2005.- 579 p.
5. Pirie N. W. The Spirulina algae.// Food-protein sources International Biological Programme, - 4. – Cambridge UnivPress, London. - 1975. - 280 p.
6. Reed R. H., Warr S. R. C., Richardson D. L. et al. Blue-green algae (Cyanobacteria): prospects and perspectives // Plant and Soil. – 1985. – **89** N 1-3.– p. 97 - 106.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г. Севастополь

Получено 10.10.2005

A.P. SHAKHMATOV, T. V. EFIMOVA

DINAMICS OF DIMENSIONAL COMPOSITION OF THE CIANOBACTERIUM *SPIRULINA PLATENSIS* IN CONTINUOUS CULTURE

Summary

Dynamics of dimensional composition of 2 strains *Spirulina platensis* in continuous culture have been studied. The individual features of 2 strains IBSS-31 and IBSS-32 have been revealed. There are more long-dimensional fraction of filaments in strain IBSS-31 and it have bigger growth rate than strain IBSS-32. The recommendations for optimum harvest terms of *Spirulina platensis* have been given.