**Наталья Дмитрович**

**(Пинск, Республика Беларусь)**

**Тамара Козлова**

**(Гродно, Республика Беларусь)**

**ВЛИЯНИЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ И ИНТЕНСИВНОСТИ БАРБОТАЖА НА ДИНАМИКУ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ИТЕМП РОСТА *SCENEDESMUS ACUTUS*MEYEN**

**Введение.** Основным достоинством водорослей является физиолого-биохимическое разнообразие и лабильность химического состава, что позволяет осуществлять управляемый биосинтез ценных химических природных соединений [1, 2, 3, 4].Как известно, одним из решающих факторов, определяющих продуктивность культур водорослей и их химический состав, является содержание биогенных элементов в питательных средах для культивирования [5]. В процессе своего роста водоросли используют углекислый газ и производят кислород. Для этого важно обеспечить поступление CO2 в достаточном количестве, а в процессе культивирования– перемешивание культуры для поддержания оптимальных условий роста клеток и отвода вырабатываемого кислорода. Перемешивание можно осуществлять путем подачи воздуха (барботаж).

Условия культивирования водорослей и состав питательной среды влияют на физиологическое состояние водорослей. Для этих целей разработано достаточно много методов контроля. Показателем физиологического состояния могут быть данные о составе, концентрации и соотношении растительных пигментов в клетках водорослей[6]. Известно, что периодам интенсивного развития водорослей соответствует увеличение концентрации пигментов в их клетках. Это дает возможность судить о продуктивности водорослей по концентрации хлорофилла, главным образом, хлорофилла *а* [7].Объективным показателем физиологического состояния водорослей является соотношение общих каротиноидов к хлорофиллу *а* (Ск/Схл), так называемый желто-зеленый индекс [8]. Каротиноиды представляют собой более стабильный компонент пигментной системы, чем хлорофилл *а.* Усиление в клетках каротиногенеза или разрушения хлорофилла свидетельствует о замедлении процессов метаболизма и ухудшении физиологического состояния водорослей [6].

**Методика и объекты исследования.** Водоросль *Scenedesmusacutus*Meyen выращивали в накопительном режиме в сосудах (V=1л) при температуре 25±1°С. Барботирование суспензии осуществляли воздухом с помощью поршневого компрессора HAILEA АСО-003. Для освещения культуры использовали лампы холодного дневного света PHILIPSTDL18W/3. Освещенность на поверхности сосудов (5500 Лк) регистрировали с помощью люксметра Ю-116, продолжительность световых и темновых фаз – 12ч/12ч регулировали, используя механический программируемый таймер. Для культивирования использовали 4 типа питательных сред: среда Кнопа (1:2 в авторской модификации, среда №1) [9], Kristalonуниверсальный (среда №2), среда Тамийя (1:5, среда №3)[9], ЧУ-10 (среда №4) [10]. При выращивании водоросли использовали различную степень интенсивности продувки воздухом: 1) без барботажа; 2) 30 л/ч; 3) 60 л/ч. Эксперимент проводили в 2-кратной биологической повторности.

Подсчет клеток осуществляли визуально с помощью камеры Нажотта под микроскопом ЛОМО Микмед-5 (×40). Для определения качественного и количественного состава пигментов использовали стандартный спектрофотометрический метод [11]. При обработке полученных результатов концентрацию хлорофиллов *а, b, с* и каротиноидов рассчитывали по формулам, рекомендованным рабочей группой при ЮНЕСКО [12].

**Результаты и их обсуждение.** Использование двухфакторного дисперсионного анализа позволило (при р<0,05) установить достоверное влияние фактора «интенсивность продувки» на концентрацию хлорофилла *а* (Таблица 1).

**Таблица 1** – Влияние факторов среды на концентрацию пигментов

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Источник варьирования | Количество степеней свободы | Средний квадрат | Значение р (по точному критерию Фишера) |
| **Хлорофилл *а*** | | | |
| Общее | 1 | 1,6885\*109 | 0,0000 |
| Фактор А (интенсивность продувки) | 2 | 3,0027\*107 | 0,0456 |
| Фактор В (вид среды) | 3 | 2,5282\*107 | 0,0511 |
| АxВ | 6 | 8,4676\*106 | 0,4934 |
| Случайные отклонения | 72 | 9,3136\*106 | – |
| **Хлорофилл *b*** | | | |
| Общее | 1 | 89,5660 | 0,0000 |
| Фактор А (интенсивность продувки) | 2 | 0,2879 | 0,6781 |
| Фактор В (вид среды) | 3 | 0,7057 | 0,4176 |
| АxВ | 6 | 0,6790 | 0,4849 |
| Случайные отклонения | 72 | 0,7370 | – |
| **Хлорофилл *с*** | | | |
| Общее | 1 | 32,4745 | 0,0000 |
| Фактор А (интенсивность продувки) | 2 | 0,4626 | 0,4836 |
| Фактор В (вид среды) | 3 | 0,1899 | 0,8243 |
| АxВ | 6 | 0,7175 | 0,3491 |
| Случайные отклонения | 72 | 0,6303 | – |
| **Каротиноиды** | | | |
| Общее | 1 | 352,9331 | 0,0000 |
| Фактор А (интенсивность продувки) | 2 | 3,4330 | 0,1698 |
| Фактор В (вид среды) | 3 | 2,9276 | 0,2090 |
| АxВ | 6 | 1,0918 | 0,7466 |
| Случайные отклонения | 72 | 1,8888 | – |

Исследования показали, что влияния таких факторов как «интенсивность продувки» и «вид питательной среды», как и их совместного действия, на концентрацию других пигментов в клетках водоросли сценедесмус не было выявлено.

Максимальная концентрация хлорофилла*а* в клетках сценедесмуса была отмечена при применении интенсивности продувки 30 л/ч («продувка №2»), в отличие от использования высокой степени интенсивности барботажа (60 л/ч, «продувка №3») и полного отсутствия продувки («продувка №1»). Состав питательной среды при культивировании не оказывал существенного влияния на концентрацию пигментов в клетках сценедесмуса (Таблица 2).

**Таблица 2** – Концентрация пигментов водоросли сценедесмус при различных условиях культивирования

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Среда | | Хлорофилл *a*, мг/л | Хлорофилл *b*,мг/л | Хлорофилл *с*, мг/л | Каротиноиды,мг/л |
| Продувка №1 | 1 | 3591,4±895,0 | 1,401±0,416 | 0,853±0,215 | 1,811±0,365 |
| 2 | 3706,2±730,1 | 0,848±0,152 | 0,456±0,035 | 1,720±0,331 |
| 3 | 3361,6±1074,6 | 0,699±0,201 | 0,195±0,064 | 1,411±0,441 |
| 4 | 3144,8±911,8 | 0,719±0,195 | 0,390±0,069 | 1,648±0,439 |
| Продувка №2 | 1 | 3586,2±1128,3 | 0,860±0,252 | 0,287±0,033 | 1,702±0,509 |
| 2 | 6901,1±1644,3 | 1,409±0,339 | 0,712±0,185 | 3,064±0,660 |
| 3 | 3644,5±711,7 | 1,017±0,182 | 0,892±0,211 | 1,950±0,434 |
| 4 | 3776,4±1164,0 | 1,013±0,294 | 0,888±0,260 | 2,140±0,619 |
| Продувка №3 | 1 | 5416,9±779,7 | 0,865±0,148 | 0,299±0,020 | 1,984±0,241 |
| 2 | 7251,9±1635,1 | 1,568±0,407 | 0,865±0,218 | 3,028±0,719 |
| 3 | 6402,6±1594,4 | 1,218±0,351 | 0,888±0,208 | 2,461±0,786 |
| 4 | 3017,2±527,3 | 0,774±0,204 | 0,737±0,241 | 1,677±0,386 |

**Примечание:** все приведенные данные достоверно различны при р<0,05.

Важным показателем физиологического состояния сценедесмуса на протяжении периода культивирования был показатель желто-зеленого индекса. При проведении двухфакторного дисперсионного анализа (при р<0,05) установлено отсутствие достоверного влияния факторов «интенсивность продувки» и «вид питательной среды» на показатель желто-зеленый индекса (Таблица 3).

**Таблица 3** – Влияние факторов культивирования на соотношение фотосинтетических пигментов (желто-зеленый индекс)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Источник варьирования | Количество степеней свободы | Средний квадрат | Значение р (по точному критерию Фишера) |
| Общее | 1 | 96,5434 | 0,0000 |
| Фактор А (интенсивность продувки) | 2 | 0,0756 | 0,6231 |
| Фактор В (вид среды) | 3 | 0,1480 | 0,4300 |
| АxВ | 6 | 0,1625 | 0,4175 |
| Случайные отклонения | 72 | 0,1589 | – |

Значения желто-зеленого индекса ниже 1,00 свидетельствовали о хорошем физиологическом состоянии клеток суспензии с возможным потенциалом роста (Таблица 4).

**Таблица 4** – Влияние продувки и состава питательной среды на показатель желто-зеленого индекса

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Продувка | Среда | | | |
| №1 | №2 | №3 | №4 |
| №1 | 1,138±0,124 | 0,991±0,092 | 1,024±0,074 | 1,123±0,077 |
| №2 | 0,994±0,047 | 0,921±0,035 | 1,000±0,105 | 1,171±0,063 |
| №3 | 0,894±0,049 | 1,380±0,443 | 0,982±0,051 | 1,246±0,131 |

**Примечание:** все приведенные данные достоверно различны при р<0,05.

Самые лучшие условия для поддержания оптимального физиологического состояния суспензии сценедесмуса на протяжении всего периода культивирования складывались при использовании питательной среды №1 и интенсивности продувки 60 л/ч.

**Выводы.**Исследования по влиянию питательной среды и интенсивности барботажа на динамику концентрации пигментов и физиологическое состояние сценедесмусапри его культивировании показали, что:

1) статистически значимого влияния факторов «интенсивность продувки» и «вид питательной среды», а также их совместного действия, на показатель концентрации пигментов водоросли сценедесмус не было выявлено, кроме концентрации хлорофилла *а*;

2)максимальная концентрация хлорофилла*а* в клетках сценедесмуса отмечена при применении интенсивности продувки 30 л/ч («продувка №2»);

3) установлено отсутствие достоверного влияния факторов «интенсивность продувки» и «вид питательной среды» на показатель желто-зеленого индекса, но, оптимальное физиологическое состояние по показателю желто-зеленого индекса отмечено при использовании для культивирования питательной среды №1 и интенсивности продувки 60 л/ч.

Таким образом, лучшими условиями для культивирования сценедесмуса, обеспечивающими оптимальное содержание фотосинтетических пигментов в клетках водоросли и ее физиологическое состояние, являются использование питательной среды Кнопа (1:2) и интенсивности продувки – 60 л/ч.

**Литература:**

1. Богданов, Н.И. Суспензия хлореллы в рационе сельскохозяйственных животных / Н.И. Богданов. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – Пенза, 2007. – 48 с.

2. Волкова, И.В. Особенности функционирования пищеварительной системы рыб различных трофических групп : автореф. дис. … д-ра биол. наук : 03.03.01 / И.В. Волкова ; Астраханск. гос. техн. ун-т. – Астрахань, 2010. – 44 с.

3. Георгицина, К.А. Водоросли продуценты биоорганических соединений / К.А. Георгицина // Pontus Euxinus 2011: тезисы VII Междунар. науч.-практ. конф. по проблемам водных экосистем, посвящённой 140-летию Института биологии южных морей Национальной академии наук Украины, Севастополь, 24–27 мая 2011 г. / ЭКОСИ-Гидрофизика, 2011. – С. 66–67.

4. Мельников, С.С. Оптимизация условий выращивания хлореллы / С.С. Мельников, Е.Е. Мананкина, Т.В. Самович, Н.В. Козел, Н.В. Шалыго // Весцi НАН Беларусi. Сер.бiял. навук. – 2014. – №3. – С. 52–56.

5. Дробецкая, И.В. Ростовые и биохимические характеристики Spirulina platensis (Nordst.) Geitler при различных условиях минерального питания / И.В. Дробецкая, Г.С. Минюк, Р.П. Тренкеншу, О.Ю. Вялова // Экология моря. – 2001. – Вып. 56. – С. 41–46.

6. Kozlov, A. Influence of the fulfilled beer yeast on the level of benthos in maturing ponds at the beginning of piscicultural season / A. Kozlov // Pond Aquaculture in Central and Eastern Europe in the 21stCentury: Handbook of abstracts. – Vodnany, Czech Repub, May 2–4. – 2001. – P. 16.

7. Джулай, А.А. Содержание хлорофилла а и поглощение света фитопланктоном в Севастопольской бухте (2009–2010 гг.) / А.А. Джулай // Pontus Euxinus 2011: тезисы VII Междунар. науч.-практ. конф. по проблемам водных экосистем, посвящённой 140-летию Института биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, 24–27 мая 2011 г. / ЭКОСИ-Гидрофизика, 2011. – С. 97–98.

8. Елизарова, В.А. Содержание фотосинтетических пигментов в фитопланктоне водоёмов разного типа: автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.18 / В.А. Елизарова; Институт биологии внутренних вод АН СССР. – Москва, 1975. – 24 с.

9. Гайсина, Л.А., Современные методы выделения и культивирования водорослей: учеб.пособ. / Л.А. Гайсина, А.И. Фазлутдинова, Р.Р. Кабиров. – Уфа: Изд-воБГПУ, 2008. – 152 с.

10. Belcher, H. Culturing algae: guide for schools and colleges / H. Belcher, E. Swale. – Cambridge: Titus Wilson & Son Ltd, 1988. – 28 p.

11. Методические рекомендации по сбору и обработке материалов при гидробиологических исследованиях на пресноводных водоёмах. Фитопланктон и его продукция / ГосНИОРХ ; сост.: Г.М. Лаврентьева, В.В. Бульон. – Л.: ГосНИОРХ, 1984. – 32 с.

12. SCOR–UNESCO. Determination of photosynthetic pigmente in sea–water // Monographs on oceanographic methodology. – Paris. – 1966. – P. 9–19. 173