

**РОСТ И РАЗВИТИЕ МИКРОВОДОРОСЛИ *SCENEDESMUS*
В УСЛОВИЯХ СТРЕССА**

Е.М. Кандыба, Д.М. Бужаев, А.И. Лакишик, 2 курс

Научный руководитель – И.А. Ильючик, старший преподаватель

Полесский государственный университет

Перспективные виды и штаммы из рода *Scenedesmus* широко распространены в природе, их известно более 66 [4, с. 6]. Микроводоросль сравнительно легко поддерживать в лабораторных условиях обычными микробиологическими методами на искусственных минеральных питательных средах. Культура *Scenedesmus* устойчива к неблагоприятным условиям, менее требовательна к свету (в сравнении с *Chlorella*), хорошо растет и развивается на органической и органоминеральной средах, легче отделяется от культуральной жидкости, обладает высокой антибиотической активностью [4, с. 7].

Для роста и развития водоросли требуются в первую очередь макроэлементы, среди которых особую роль играют азот и фосфор. Азот необходим для построения макромолекул белков и нуклеиновых кислот, соединений группы порфиринов, которые лежат в основе хлорофилла и цитохрома, многочисленных ферментов, в том числе НАД и НАДФ, а также витаминов [1, с. 171]. Фосфор входит в состав нуклеиновых кислот, фосфолипидов, полимеров клеточной стенки, накапливается в клетке в виде полиметафосфатов [3, с. 151].

Цель работы: изучение роста и развития зеленой микроводоросли *Scenedesmus* в условиях стресса, т.е. в отсутствии азота и фосфора в культуральной среде.

Материалы и методы. Объектом исследования являлась водоросль *Scenedesmus*, выращенная в лабораторных условиях на среде Тамия [2, с. 23] в колбах объемом 100 мл при температуре $20 \pm 1^\circ\text{C}$ в течении 14 суток. Культуру перемешивали не менее пяти раз в дневное время суток, для компенсации испарения использовали дистиллированную воду на протяжении всей экспозиции. Количество сухого вещества определяли ежедневно на аналитических весах, после забора и отмывания дистиллированной водой 1-го мл суспензии, которую высушивали до постоянной массы в жаросушильном шкафу. Подсчёт клеток осуществляли под микроскопом МИКМЕД-5 ЛОМО при увеличении 900 с использованием камеры Горяева. Освещенность на поверхности сосуда регистрировали с помощью люксметра Ю-116. Замеры pH среды производили с помощью универсальной индикаторной бумаги. Результаты обработаны статистически с вычислением t-критерия Стьюдента. Эксперименты проведены в трех повторах в четырех вариантах:

1. Стандартная среда Тамия – контроль.
2. Среда Тамия с отсутствием азота (KNO_3).
3. Среда Тамия с отсутствием фосфора (KH_2PO_4).
4. Среда Тамия с отсутствием азота и фосфора (KNO_3 , KH_2PO_4).

Таблица – Условия проведения эксперимента

Дата проведения эксперимента	Длина светового дня	Освещенность, кЛк (в 14 часов)	pH среды			
			Контроль	Без азота	Без фосфора	Без азота и фосфора
11.03.2016	11 ч 32 мин	0,78	6	6	6	6
17.03.2016	12 ч 01 мин	0,81	6	6	6	5
24.03.2016	12 ч 29 мин	0,77	6	6	6	5

Результаты и обсуждение. Динамика роста культуры и динамика изменения сухой биомассы имеет волнообразный характер как в контроле, так и в созданных условиях стресса (рисунок 1).

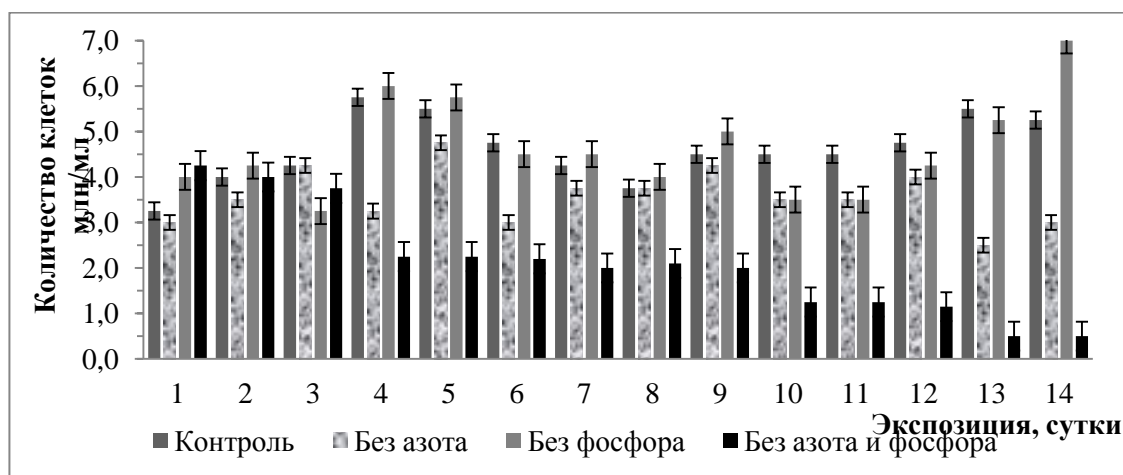


Рисунок 1 – Изменение количества клеток микроводоросли *Scenedesmus*

В контроле нарастание клеток происходило с 1-ых сут ($3,25 \pm 0,17$ млн/мл) по 4-е сут ($5,75 \pm 0,52$ млн/мл), а также с 9-ых сут ($4,5 \pm 0,08$ млн/мл) по 13-е сут ($5,5 \pm 0,46$ млн/мл). С 9-ых по 11-е сут роста не наблюдалось и оставалось на уровне $4,5 \pm 0,08$ млн/мл. С 5-ых по 8-е сут наблюдалось уменьшение количества клеток с $5,5 \pm 0,63$ млн/мл до $3,75 \pm 0,29$ млн/мл.

В среде без азота темп роста снизился по сравнению с контролем и был : на 3-и сут ($4,25 \pm 0,12$ млн/мл) ($p < 0,05$), на 5-е сут ($4,75 \pm 0,68$ млн/мл) ($p < 0,05$), на 9-е сут ($4,25 \pm 0,36$ млн/мл) и на 12-е сут ($4,0 \pm 0,18$ млн/мл) ($p < 0,05$). На 7 - 8 сут. ($3,75 \pm 0,36$ млн/мл) и на 10 – 11 сут. ($3,5 \pm 0,17$ млн/мл) ($p < 0,05$) роста клеток не наблюдалось. На 13-е сутки экспозиции ($2,5 \pm 0,25$ млн/мл) ($p < 0,05$) культура, в сравнении с контролем, существенно снизила рост.

В среде без фосфора наблюдалось три скачка роста количества клеток: на 4-е сут ($6,0 \pm 0,17$ млн/мл) ($p < 0,05$) и на 9 сут ($6,0 \pm 0,17$ млн/мл) ($p < 0,05$) и на 14 сут ($7,0 \pm 0,22$ млн/мл) ($p < 0,05$). На 6 – 7 сут ($4,5 \pm 0,44$ млн/мл) и на 10 – 11 сут ($3,5 \pm 0,36$ млн/мл) численность клеток не изменялась.

В среде, в которой отсутствовали азот и фосфор, рост культуры прекратился в первые сутки экспозиции. Количество клеток постепенно снизилось с $4,25 \pm 0,22$ млн/мл ($p < 0,05$) в 1-е сут до $0,5 \pm 0,08$ млн/мл ($p < 0,05$) на 14-е сут экспозиции. Изменений в количестве клеток не наблюдалось с 4-е по 6-е сут. ($2,25 \pm 0,22$ млн/мл) ($p < 0,05$), с 7-ых по 9-е сут. ($2 \pm 0,14$ млн/мл) ($p < 0,05$), с 10-ых по 12-е сут. ($1,25 \pm 0,17$ млн/мл) ($p < 0,05$) и с 13-ых по 14-е сут. ($0,5 \pm 0,08$ млн/мл) ($p < 0,05$).

Изучение изменения массы сухого вещества во всех вариантах культивирования соответствовало изменению количества клеток на протяжении исследования (рисунок 2). Все приведенные данные статистически значимы ($p < 0,05$).

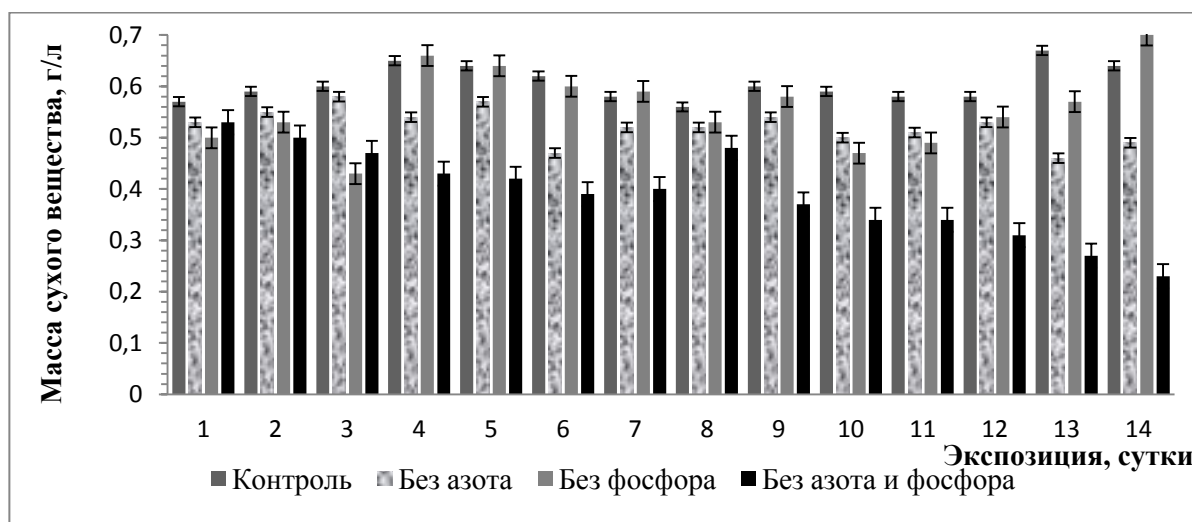


Рисунок 2 – Изменение массы сухого вещества микроводоросли *Scenedesmus*

Исходя из полученных данных можно заключить, что отсутствие одного из элементов не является критичным для культуры, но отсутствие обоих элементов (N и P) в среде ведёт к ее гибели.

Список использованных источников

1. Якушкин, Н.И. Физиология растений: учебное пособие для студентов. – М.: Просвещение, 1980. – 179 с.
2. Биотехнология культивирования гидрибионтов / В.Д. Романенко, Ю.Г Крот, Л.А Сиренко, В.Д. Соломатина: НАН Украины, ин-т гидробиологии. – Киев, 1999. – 23 с.
3. Pirt, S.John / Principles of Microbe and Cell Cultivation // Oxford, 1975. – P. 14– 15, 147 – 151 pp.
4. Музафаров, А.М. Культивирование и применение микроводорослей / А.М. Музафаров, Т.Т. Таубаев. – Ташкент: Академия наук Узбекской ССР. Институт микробиологии, 1984. – 34 с.