

ОСОБЕННОСТИ НАКОПЛЕНИЯ БИОМАССЫ МИКРОВОДОРОСЛИ *CHLORELLA VULGARIS* В ПРИСУТСТВИИ ИОНОВ МАРГАНЦА

Д.М. Бужаев, Е.М. Кандыба, А.И. Лакишик, 3 курс

Научный руководитель – И.А. Ильючик, старший преподаватель

Полесский государственный университет

Хлорелла (*Chlorella*) — одноклеточная зеленая водоросль шаровидной или сферической формы размером от 2 до 15 мкм, легко поддается культивированию, в культуре способна формировать большую биомассу. [1, с. 81]. Микроводоросль применяется в качестве источника белка, обладает противовоспалительным, детоксикационным действием, стимулирует иммунитет, восстанавливает функцию желудочно-кишечного тракта при дисбактериозе, нормализует процессы кроветворения. Химический состав хлореллы зависит от состава питательной среды, на которой она выращена. Известно, что при изменении минерального питания, температурных и световых условий можно выращивать эту водоросль с различным содержанием белка (8-58 %), углеводов (5-38 %) и липидов (4-85 %) [2, с. 23].

Большое значение в жизнедеятельности микроводорослей имеют микроэлементы. Например, марганец непосредственно участвует в фотохимических реакциях фотосинтеза [3, с. 36]. При недостатке этого элемента подавляются процессы, обусловленные выделением кислорода, также снижается рост культуры, происходят морфологические изменения клеток. Данные о влиянии ионов марганца на жизненные процессы микроводорослей малочисленны, нет ясности в количественной потребности данного микроэлемента для *Chlorella*, что представляет несомненный научный интерес.

Цель работы: установить эффективность накопления биомассы *Chlorella vulgaris* при различной концентрации ионов марганца в питательной среде.

Материалы и методы. Объектом исследований служила культура *Chl. vulgaris*, штамм *IBCE C-19* из коллекции водорослей Института биофизики и клеточной инженерии НАНБ. Водоросль выращивали в накопительном режиме на среде Тамия [4, с. 23] в колбах объемом 100 мл при тем-

пературе $28 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ в течении 9 суток с применением непрерывного барботажа – 5 л/ч; освещенность на поверхности сосуда – 2000 Лк; фотопериод (свет/темнота, ч) – 12/12. Оптическую плотность культуры измеряли на спектрофотометре Metertech sp8001 при длине волны 560 нм. Для определения сухого вещества отмытую культуру (1 мл) высушивали до постоянной массы в сушильном шкафу при 100°C и взвешивали на аналитических весах. Подсчёт клеток осуществляли под микроскопом Микмед-5 ЛОМО ($\times 40$) с использованием камеры Горяева.

Эксперименты проведены в трех биологических повторностях в десяти вариантах: 1. Среда Тамия без добавления Mn^{2+} . 2. Среда Тамия с концентрацией Mn^{2+} 0,01 мг/л. 3. Среда Тамия с концентрацией Mn^{2+} 0,05 мг/л. 4. Среда Тамия с концентрацией Mn^{2+} 0,1 мг/л. 5. Среда Тамия с концентрацией Mn^{2+} 0,5 мг/л. 6. Среда Тамия с концентрацией Mn^{2+} 1,0 мг/л. 7. Среда Тамия с концентрацией Mn^{2+} 5,0 мг/л. 8. Среда Тамия с концентрацией Mn^{2+} 10,0 мг/л. 9. Среда Тамия с концентрацией Mn^{2+} 50,0 мг/л. 10. Среда Тамия с концентрацией Mn^{2+} 137,5 мг/л. Результаты обработаны математически и статистически с использованием программ MS Excel 2010 и Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение. Влияние ионов марганца на рост культуры представлено на рисунке 1.

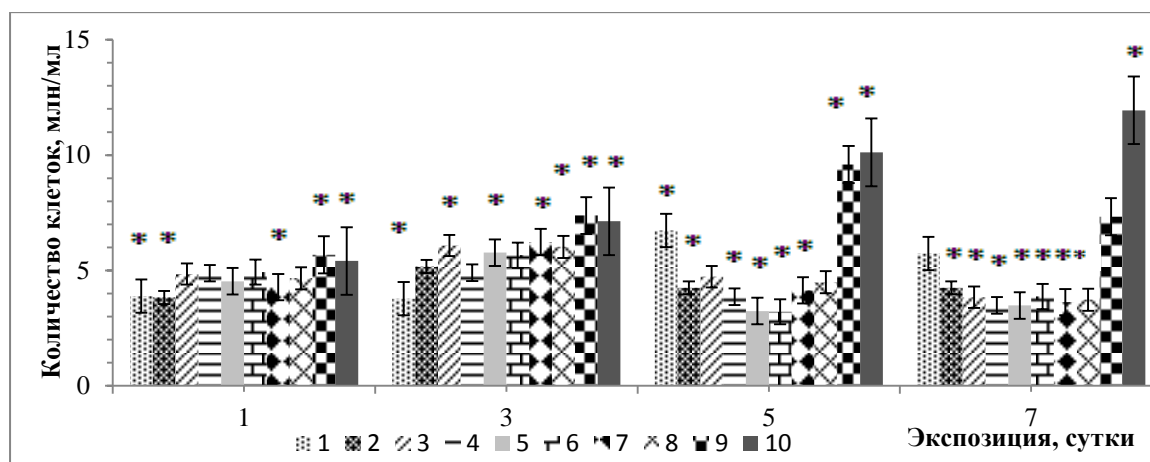


Рисунок 1 – Влияние хлорида марганца на рост водоросли *Chlorella vulgaris*:
 1 – без MnCl_2 ; 2 – MnCl_2 , 0,01 мг/л; 3 – MnCl_2 , 0,05 мг/л; 4 – MnCl_2 , 0,1 мг/л;
 5 – MnCl_2 , 0,5 мг/л; 6 – MnCl_2 , 1,0 мг/л; 7 – MnCl_2 , 5,0 мг/л; 8 – MnCl_2 , 10,0 мг/л;
 9 – MnCl_2 , 50,0 мг/л; 10 – MnCl_2 , 137,5 мг/л.

Примечание: * – изменения статистически достоверны при $P \leq 0,05$

В сравнении с ней за 1-е сутки культивирования количество клеток в вариантах 1, 2, 5, 7, 8 уменьшилось на 19,8 %, 21 %, 0,6 %, 6,6 %, 11,8 %, 3,9 % соответственно. В варианте 3 изменений не наблюдалось. В вариантах 4, 6, 9 и 10 количество клеток увеличилось на 0,6 %, 1,6 %, 17,1 %, 11,5 % соответственно. Минимальное количество – $3,83 \pm 0,19$ млн/мл соответствовало варианту 2, а максимальное – $5,68 \pm 0,14$ млн/мл варианту 9. На 3-и сутки наблюдалось нарастание во всех вариантах, кроме 1 варианта, и составило 6,6 %, 25,4 %, 1 %, 19 %, 16,7 %, 28,5 %, 24,1 %, 52,2 %, 47 % соответственно от исходного. Максимальное значение было в 9 варианте – $7,4 \pm 0,4$ млн/мл, а минимальное в 4 варианте – $4,9 \pm 0,11$ млн/мл. В варианте 1 количество клеток уменьшилось на 22,1 % и составило $3,89 \pm 0,2$ млн/мл. На 5-е сутки нарастание клеток наблюдалось в 1, 9, 10 вариантах, и составило 38,8 %, 97,7 %, 108,7 % от исходного. В вариантах 2-8 количество клеток уменьшилось на 12,4 %, 2,5 %, 20,4 %, 33,2 %, 33,8 %, 14,6 %, 7,4 % соответственно от исходного. Минимальное количество – $3,21 \pm 0,21$ млн/мл соответствовало 6 варианту, а максимальное – $10,12 \pm 0,9$ млн/мл варианту 10. На 7-е сутки количество клеток в 2 – 8 вариантах уменьшилось на 12,4 %, 20,8 %, 28 %, 28,2 %, 20,2 %, 25,2 %, 23,1 % от исходного. Увеличение клеток наблюдалось в 1, 9, 10 вариантах и составило 18,1 %, 51,1 %, 146,2 % от исходного. Наименьшее их количество было в 5 варианте – $3,36 \pm 0,24$ млн/мл, а наибольшее в 10 варианте $11,94 \pm 0,27$ млн/мл.

Влияние ионов марганца на накопление биомассы хлореллой представлено на рисунке 2. Исходная масса сухого вещества (МСХ) *Chl. vulgaris* составляла $0,183 \pm 0,0003$ г/л. МСХ увеличилась на 1-е сутки во всех вариантах, на 3-и только в 4 и 8 вариантах и уменьшилась в вариантах 1-3, 5-7, 9,10 в сравнении с исходной биомассой. На 5-е и 7-е сутки МСХ увеличилась во всех вариантах в сравнении с исходной биомассой. Максимальное значение на 1 сутки было в 7 варианте – $0,311 \pm 0,09$ г/л, на 3-и сутки в варианте 4 – $0,344 \pm 0,014$ г/л, на 5-ые сутки в 4 варианте – $0,678 \pm$

0,074 г/л, на 7-е сутки – в 8 варианте – $0,667 \pm 0,071$ г/л. Положительную динамику увеличения биомассы к концу эксперимента сохранили 1, 2, 3 и 8 варианты.

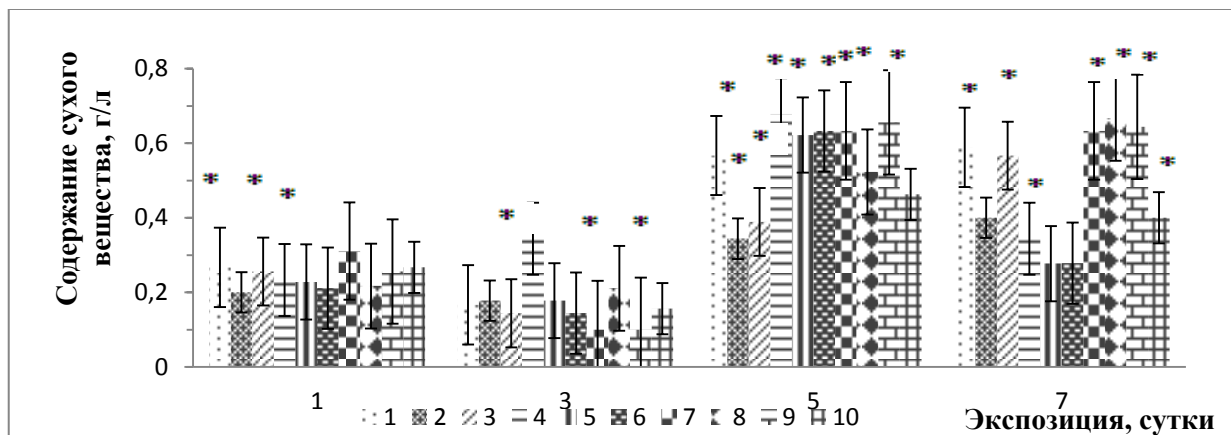


Рисунок 2 – Влияние хлорида марганца на накопление биомассы *Chlorella vulgaris*:

1 – без $MnCl_2$; 2 – $MnCl_2$, 0,01 мг/л; 3 – $MnCl_2$, 0,05 мг/л; 4 – $MnCl_2$, 0,1 мг/л;

5 – $MnCl_2$, 0,5 мг/л; 6 – $MnCl_2$, 1,0 мг/л; 7 – $MnCl_2$, 5,0 мг/л; 8 – $MnCl_2$, 10,0 мг/л;

9 – $MnCl_2$, 50,0 мг/л; 10 – $MnCl_2$, 137,5 мг/л.

Примечание: * – изменения статистически достоверны при $P \leq 0,05$

Следует отметить, что на 5-е и 7-е сутки культивирования хлореллы проявился хлороз в группах 2-8 и отсутствовал в 1, 9 и 10. На 7-е сутки он проявился в группе 1 и отсутствовал в группах 9 и 10.

Полученные данные позволяют заключить, что марганец является необходимым компонентом для нормального роста и развития хлореллы, он оказывает влияние на процессы фотосинтеза и при его недостатке в среде развивается хлороз. Накопление биомассы хлореллы зависит от концентрации марганца в питательной среде. Высокие концентрации марганца не оказали лимитирующего влияния на микроводоросль *Chl. vulgaris*.

Список использованных источников

1. Музафаров, А.М. Хлорелла и ее использование в животноводстве / А.М. Музафаров, Т.Т. Таубаев, Р.А. Селяметов. – Ташкент, 1974. – 81 с.

2. С.С. Мельников, Е.Е. Мананкина, ХЛОРЕЛЛА (Физиологически активные вещества и их использование). Институт Фотобиологии АН БССР, Минск, 1991. – 23с.

3. Макро- и микроэлементы в оптимизации минерального питания микроводорослей / В. В. Упитис. – Рига: Зинатне, 1983. – 240 с.

4. Биотехнология культивирования гидрибионтов / В.Д. Романенко, Ю.Г Крот, Л.А Сиренко, В.Д Соломатина: НАН Украины, Ин-т гидробиологии. – Киев, 1999. – 23 с.