

**ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА ДИНАМИКУ БИОМАССЫ  
*SCENEDESMUS ACUTUS* MEYEN**

**Н.П. Дмитривич<sup>1</sup>, аспирант, М.А. Гаргун<sup>1</sup>, О.Ю. Жовнерик<sup>1</sup>,**

**Е.А. Молчанович<sup>1</sup>, 2 курс**

**Научный руководитель – Т.В. Козлова<sup>2</sup>, д.с.-х.н., доцент**

<sup>1</sup>**Полесский государственный университет**

<sup>2</sup>**Гродненский государственный аграрный университет**

**Введение.** Микроводоросли – это обширная группа фотосинтезирующих организмов, встречающихся в природе почти повсеместно. Практически все микроводоросли имеют высокую продуктивность, являются богатейшими источниками белковых веществ, витаминов, микроэлементов и биологически активных веществ. Это дает возможность их использования в лабораторных и промышленных масштабах для осуществления управляемого биосинтеза ценных химических природных соединений с последующим их использованием в таких областях как экология, сельское хозяйство, аквакультура и медицина [2, с. 66; 3, с. 52; 8, с. 2220; 10, с. 125]. Однако следует отметить, что многие известные виды довольно требовательны к условиям культивирования: составу питательной среды, концентрации углекислого газа, механическому перемешиванию, что в значительной мере препятствует их эффективному выращиванию [6]. Также известно, что изменения в среде влекут за собой изменения в росте клеток и интенсивности обмена веществ [8, с. 2221; 10, с. 125]. Вышеперечисленные факторы указывают на необходимость исследования влияния условий культивирования на рост биомассы и биохимический состав микроводорослей для оптимизации условий их выращивания. Так как основными условиями культивирования являются состав питательной среды и интенсивность барботаж, то выполнение в этом аспекте исследований перспективной в биотехнологии водоросли *Sc. acutus* Meyen очень актуально. [5, с. 6].

**Методика и объекты исследования.** Объектом исследований служила культура *Sc. acutus*, штамм ИВСЕ S-10 из коллекции водорослей Института биофизики и клеточной инженерии НАНБ. Водоросль выращивали в накопительном режиме в сосудах (V=1л) при температуре 25±1°C. Барботирование суспензии осуществляли воздухом с помощью поршневого компрессора HAILEA ACO-003. Для освещения культуры использовали лампы холодного дневного света PHILIPS TDL18W/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. Подсчет клеток осуществляли визуально с помощью камеры Нажотта под микроскопом ЛОМО Микмед-5 (×40). Оптическую плотность (ОП) измеряли на спектрофотометре Metertech SP8001 при следующих длинах волн: 500нм, 560нм, 680нм и 750нм.

Для культивирования использовали 4 типа питательных сред: среда Кнопа (1:2 в авторской модификации, среда №1) [1, с. 137], Kristalon универсальный (среда №2), среда Тамия (1:5, среда №3) [1, с. 138], ЧУ-10 (среда №4) [7, с. 12]. При выращивании водоросли использовали различную степень интенсивности продувки воздухом: 1) без барботажа; 2) 30 л/ч; 3) 60 л/ч. За показатель продуктивности микроводоросли принимали сухую биомассу, которую определяли ежедневно согласно методике [9, с. 236]. Эксперимент проводили в 2-кратной биологической повторности. При математической и статистической обработке результатов использовали программы MS Excel 2010 и Statistica 6.0.

**Результаты и их обсуждение.** Использование двухфакторного дисперсионного анализа позволило (при  $p < 0,05$ ) установить достоверное влияние фактора «интенсивность продувки» на прирост биомассы сценедесмуса в процессе культивирования (Таблица 1).

Таблица 1 – Влияние исследуемых факторов на прирост сухой биомассы

Источник варьирования	Количество степеней свободы	Средний квадрат	Значение p (по точному критерию Фишера)
Общее	1	97,0859	0,0000
Фактор А (интенсивность продувки)	2	0,8665	0,0003
Фактор В (тип среды)	3	0,1357	0,2647
АхВ	6	0,0890	0,5133
Случайные отклонения	144	0,1015	–

Однако следует отметить, что не было выявлено влияния как отдельного фактора «тип питательной среды», так и совместного влияния этих факторов на величину прироста биомассы водоросли.

Максимальные значения сухой биомассы были отмечены при применении интенсивной продувки (60 л/ч, «продувка №3»), что значительно выше, чем при использовании средней степени интенсивности барботажа (30 л/ч, «продувка №2») и при полном отсутствии продувки («продувка №1») (Таблица 2).

Таблица 2 – Сухая биомасса (в граммах) *Sc. acutus* при культивировании на различных типах питательных сред и при различной интенсивности продувки

Продувка	Среда			
	№1	№2	№3	№4
№1	0,730±0,097	0,572±0,040	0,772±0,130	0,610±0,040
№2	0,741±0,049	0,869±0,064	0,782±0,077	0,682±0,054
№3	0,856±0,078	0,877±0,110	1,064±0,139	0,910±0,107

Примечание – все приведенные данные достоверно различны при  $p < 0,05$ .

Также следует отметить, что максимальное количество сухой биомассы отмечено при культивировании сценедесмуса на среде №3.

Известно об определении величины сухой биомассы водорослей также косвенными методами, а именно методом измерения оптической плотности (ОП) суспензии [4, с. 43; 11, с. 554]. На основании полученных экспериментальных данных построены уравнения регрессии между величиной сухой биомассы и ОП суспензии при определенных длинах волн:

$$\text{Сухая биомасса (мг/л)} = 0,127153 + 0,443714 \cdot \text{ОП}_{500} \quad (r^2=0,602, n=156, P<0,001), \quad (1)$$

$$\text{Сухая биомасса (мг/л)} = 0,041643 + 0,689919 \cdot \text{ОП}_{560} \quad (r^2=0,612, n=156, P<0,001), \quad (2)$$

$$\text{Сухая биомасса (мг/л)} = 0,043781 + 0,781787 \cdot \text{ОП}_{680} \quad (r^2=0,595, n=156, P<0,001), \quad (3)$$

$$\text{Сухая биомасса (мг/л)} = 0,043781 + 0,781787 \cdot \text{ОП}_{750} \quad (r^2=0,595, n=156, P<0,001), \quad (4)$$

Самый высокий коэффициент корреляции между этими величинами получен при измерении ОП<sub>560</sub>. Следовательно, учитывая, что  $P < 0,001$  во всех уравнениях и линейная зависимость между факторами значима, для определения сухой биомассы можно использовать уравнение 2.

**Заключение.** Таким образом, анализ результатов проведенных исследований по влиянию типа питательной среды и интенсивности барботажа на величину биомассы *Sc. acutus* показал, что:

1) статистически значимое влияние на рост биомассы оказывал фактор «интенсивность барботажа»;

2) рост интенсивности продувки приводил к более быстрому наращиванию биомассы и сокращению необходимого времени культивирования;

3) максимальная величина биомассы *Sc. acutus* отмечена при выращивании на питательной среде №3;

4) для определения количества сухой биомассы *Sc. acutus* по оптической плотности суспензии следует использовать следующее уравнение:

$$\text{Сухая биомасса (мг/л)} = 0,041643 + 0,689919 \cdot \text{ОП}_{560}.$$

### Список использованных источников

1. Гайсина, Л.А., Современные методы выделения и культивирования водорослей: учеб. пособ. / Л.А. Гайсина, А.И. Фазлутдинова, Р.Р. Кабиров. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2008. – 152 с.
2. Георгицина, К.А. Водоросли – продуценты биоорганических соединений / К.А. Георгицина // PontusEuxinus 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.
3. Мельников, С.С. Оптимизация условий выращивания хлореллы / С.С. Мельников, Е.Е. Мананкина, Т.В. Самович, Н.В. Козел, Н.В. Шалыго // Весці НАН Беларусі. Сер.біял. навук. – 2014. – №3. – С. 52–56.
4. Минюк, Г.С. Влияние селена на рост микроводоросли *Spirulina platensis* (Nordst.) в накопительной и квазинепрерывной культурах / Г.С. Минюк, Р.П. Тренкеншу, И.В. Дробецкая, А.В. Алисиевич // Экол. моря. – 2000. – Вып. 54. – С. 42–49.
5. Минюк, Г.С. Одноклеточные водоросли как возобновляемый биологический ресурс: обзор / Г.С. Минюк, И.В. Дробецкая, И.Н. Чубчикова и др. // Морской экологический журнал. – 2008. – Т. 7. – № 2. – С. 5–23.
6. Некоммерческое учреждение: Научно-исследовательский институт альгобиотехнологии [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://chlorella-v.narod.ru/>. –Дата доступа: 15.03.2016.
7. Belcher, H. Culturing algae: guide for schools and colleges / H. Belcher, E. Swale. – Cambridge : Titus Wilson & Son Ltd, 1988. – 28 p.
8. Kim, M.K. Enhanced production of *Scenedesmus spp.* (green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater / M.K. Kim, J.W. Park, C.S. Park, S.J. Kim, K.H. Jeuneb, M.U. Chang // J. Acreman Bioresource Technology. – 2007. – Vol. 98. – P. 2220–2228.
9. Kusumaningrum, H.P. Application of aquaculture natural food produce by protoplast fusion process of *Dunaliellasalina* and *Phaffiarhodozyma* / H.P. Kusumaningrum, M. Zainuri, Hersugondo // J. Ilmu Kelautan. – 2010. – Vol. 15 (4). – P. 236–242.
10. Vasileva, I. Effect of nitrogen source on the growth and biochemical composition of a new Bulgarian isolate of *Scenedesmus sp.* / I. Vasileva, G. Marinova, L. Gigova // J. Biological Sciences Biotechnology. – 2015. – SE/ONLINE – P. 125–129.
11. Li, Y. Comparison of growth and lipid content in three *Botriococcus braunii* strains / Y. Li, Qin J.G. // J. of Applied Phycology. – 2005. – Vol. 17. – P. 551–556.