

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ПІВДЕННИХ МОРИВ ім. О.О. КОВАЛЕВСЬКОГО

ДРОБЕЦЬКА
Ірина Вікторівна

УДК 582.232:[581.143+581.19]:581.13

ВПЛИВ УМОВ МІНЕРАЛЬНОГО ЖИВЛЕННЯ НА РІСТ І
ХІМІЧНИЙ СКЛАД *SPIRULINA PLATENSIS* (NORDST.) GEITLER

03.00.17 — гідробіологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Севастополь - 2005

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Інституті біології південних морів
ім. О.О. Ковалевського НАН України, м. Севастополь

Науковий керівник: кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник
Тренкеншу Рудольф Павлович,
Інститут біології південних морів НАН України,
завідувач відділу

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Самишев Ернест Зайнуллінович,
Інститут біології південних морів НАН України,
завідувач відділу функціонування морських екосистем

доктор біологічних наук, доцент
Паршикова Тетяна Вікторівна,
Київський національний університет ім. Т. Шевченка,
завідувач кафедри фізіології та екології рослин

Провідна установа: Інститут гідробіології НАН України, м. Київ

Захист відбудеться “ 23 ” листопада 2005 р. о 10 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 50.214.01 при Інституті біології південних морів НАН України за адресою: 99011, м. Севастополь, пр. Нахімова, 2, конференц-зал.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту біології південних морів НАН України за адресою: 99011, м. Севастополь, пр. Нахімова, 2.

Автореферат розісланий “ 19 ” жовтня 2005 р.

Вчений секретар спеціалізованої ради Д 50.214.01
доктор біологічних наук, професор

 Гаєвська А.В.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. *Spirulina platensis* (Cyanophyta/Cyanobacteria) синтезує широкий спектр біологічно активних речовин, через що є одним з провідних об'єктів сучасної фітобіотехнології. Переважна більшість робіт, виконаних за більш ніж тридцятирічний період інтенсивних досліджень спіруліни, сфокусовано, в основному, на біотехнологічних напрямках (Richmond, 1986; Vonshak, 1997; Bogowitzka, 1999). У той же час багато еколого-фізіологічних аспектів росту і мінерального живлення цього виду при різних умовах вирощування дотепер залишаються не цілком виразними. Конкретне сполучення параметрів культивування (швидкості протоки середовища, щільності біомаси, освітленості, температури, конструкції культиваторів тощо) визначає продуктивність культур, швидкість і вибірність асиміляції живильних речовин, величини їхніх оптимальних і лімітуючих концентрацій, а також спрямованість конструктивних і енергетичних процесів у клітинах. Квазібезперервний і непропорційно проточний режим культивування у відкритих басейнах спільно з природними коливаннями освітленості і температури створюють особливі умови, які істотно відрізняються від умов в описаних раніше лабораторних і промислових системах вирощування спіруліни. Дослідження особливостей росту і метаболізму *S. platensis* у таких культурах може стати науковою основою для удосконалення методів її масового культивування з метою підвищення продуктивності виду і біологічної цінності одержуваної біомаси. Крім того, відомості такого роду сприятимуть з'ясуванню фізіолого-біохімічних механізмів, що регулюють розвиток Cyanophyta у водоймах з високим рівнем евтрофікації, підданих впливу промислових і побутових стоків.

Є особливо актуальною проблема розробки фізіолого-біохімічних критеріїв стану мікродоростей в умовах щільної культури. Для спіруліни такими критеріями можуть бути вміст білка (основного компонента сухої речовини) і фотосинтетичних пігментів, що визначають енергетичний статус клітин. Біосинтез амінокислот, тетрапірольних пігментів і каротиноїдів зв'язаний у рамках центральних метаболічних шляхів мевалонової і δ -амінолевулінової кислот з біосинтезом ключових антиоксидантів і вітамінів (токоферолів, супероксиддисмутази, вітамінів B_{12} і K_1). Отже, по вмісту білка і пігментів можна з достатньою мірою точності міркувати про біологічну цінність біомаси в цілому. Серед основних елементів живлення, що впливають на біосинтез цих компонентів, варто виділити азот. Питанням азотного живлення спіруліни в роботі приділена основна увага.

Дослідження характеру впливу селену на продуктивність *S. platensis* і на її здатність накопичувати цей елемент має особливе значення в зв'язку з техногенним зростанням вмісту сполук селену в атмосфері й океані та посиленням його ролі у формуванні структури і продуктивності морських і прісноводних угруповань (Vandermeulen, Foda, 1988; Wong, Oliveira, 1991). Подібна інформація важлива і для

оцінки можливості збагачення спіруліни есенціальним мікроелементом, що суттєво підвищує антиоксидантні властивості біомаси.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у відділі фізіології тварин і біохімії Інституту біології південних морів НАН України в рамках досліджень за темами: “Розробка наукових основ біотехнологій відтворення і використання морських ресурсів” (№ держ. реєстр. 0101U001448, 2001-2005 р.), “Розробка технологій культивування і підвищення адаптаційної здатності морських і прісноводних мікроводоростей з метою заощадження існуючого генетичного фонду рослин і раціонального використання фіто-ресурсного потенціалу України” (№ держ. реєстр. 0102U004004, 2003-2005 р.), госпдоговорів “Наукове обґрунтування і практичні рекомендації з вирощування спіруліни в культиваторах відкритого типу в умовах прибережної зони Криму” (1999 р.), “Оцінка можливості управління синтезом і накопиченням біологічно активних речовин у спіруліні” (2000 р.), “Наукове обґрунтування і розробка технології виробництва препарату зі збалансованим набором мікроелементів у спіруліні” (2001-2002 рр). Автор брала участь в темах як виконавець розділів.

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було встановити вплив умов мінерального живлення на ріст і хімічний склад *Spirulina platensis* при різних методах вирощування. Відповідно до поставленої мети виконувались такі завдання:

- дослідити ростові характеристики і динаміку вмісту білка, хлорофілу *a*, фікобіліпротейнів і каротиноїдів у спіруліні при вирощуванні в періодичній культурі на повному і редукованому середовищі Заррука;
- оцінити швидкість росту і хімічний склад спіруліни в квазібезперервній культурі при різних концентраціях нітратів у середовищі;
- визначити потреби спіруліни в нітратному азоті при різних режимах культивування;
- дослідити динаміку росту і хімічного складу спіруліни в періодичній і непропорційно проточній культурах при вирощуванні на карбаміді і карбамід-нітратних сумішах;
- встановити вплив різних концентрацій селеніту натрію в середовищі на ріст і накопичення селену в спіруліні в періодичній і квазібезперервній культурах.

Об'єкт дослідження. Альгологічно чиста культура *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler з колекції відділу біотехнологій і фіторесурсів ІнБПМ НАН України.

Предмет дослідження. Ростові і біохімічні показники *S. platensis* у залежності від умов вирощування.

Методи дослідження. У роботі використовували фотоколориметричні і спектрофотометричні методи визначення оптичної щільності культур, вмісту білка, хлорофілу *a*, С-фікоціаніну, алофікоціаніну і сумарних каротиноїдів у біомасі; флуориметричний метод визначення вмісту селену; потенціометричний метод ви-

значення концентрації нітратів у середовищі; загальноприйняті розрахункові методи визначення швидкостей росту культур.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше встановлені закономірності росту і метаболізму *Spirulina platensis* у періодичній, квазібезперервній і непропорційно проточній культурах при вирощуванні на модифікованому середовищі Заррука у відкритих культиваторах в умовах субтропічного клімату причорноморської зони.

Розроблено експрес-метод визначення щільності біомаси (г абсолютно сухої речовини (АСР)/дм³) по оптичній щільності культури в області 750 нм. Визначено швидкість росту і динаміку вмісту білка, хлорофілу *a*, фікобіліпротеїнів, каротиноїдів у біомасі спіруліни в залежності від концентрації і хімічної форми азоту в середовищі (нітрати, карбамід, карбамід-нітратні суміші), а також при одночасному зменшенні концентрацій усіх компонентів середовища в 2 і 4 рази.

Уперше показана можливість використання даних щодо вмісту білка і пігментів у біомасі для розрахунку системних характеристик (надійність, складність, організація, стабільність) *S. platensis* в умовах інтенсивної культури.

Уперше для квазібезперервної культури отримані дані, що характеризують ріст *S. platensis* і накопичення селену у біомасі при різних концентраціях селеніту натрію в середовищі Заррука. Запропоновано моделі (біохімічна, фізіологічна і загальна), що описують вплив співвідношення концентрацій селену і сірки в середовищі на ріст спіруліни і накопичення сполук селену клітинами.

Практичне значення отриманих результатів. Результати, які характеризують закономірності росту і метаболізму *S. platensis* у квазібезперервній культурі при різній забезпеченості елементами живлення, важливі для розробки методів керованого культивування спіруліни з метою збільшення продуктивності культур та одержання біомаси з підвищеним вмістом білка й антиоксидантів.

Додання в мікроелементний склад спіруліни селену у концентраціях, зіставлених з добовою потребою людини, дозволить істотно підсилити антиоксидантні й імунотропні властивості харчових добавок.

Запропоновано комплекс фізіолого-біохімічних індикаторів (вміст білка, хлорофілу *a*, С-фікоціаніну і каротиноїдів), які інтегрально відбивають стан *S. platensis* за різних умов існування. Отримані результати можуть бути покладені в основу технологічного регламенту з вирощування *S. platensis* у південних областях України, а також для характеристики якості біологічно активних добавок із спіруліни.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням. Розробка завдань і вибір методик досліджень, основний комплекс експериментальних робіт, аналіз та узагальнення отриманих результатів виконані автором самостійно. У роботах, що опубліковані у співавторстві, здобувачем здійснювалась постановка наукових завдань, проведення експериментів, визна-

чення ростових та біохімічних характеристик культур, динаміки рН, концентрації нітратів у середовищі, статистична обробка даних та їх інтерпретація.

Апробація результатів досліджень. Матеріали дисертації доповідались на семінарах відділу фізіології тварин і біохімії і відділу біотехнологій і фіторесурсів ІнБПМ НАНУ (2000 - 2004 рр.), X Міжнародному симпозиумі “Нетрадиционное растениеводство. Эниология. Экология и здоровье” (Алушта, 2001), VI Міжнародній конференції “Экология и здоровье человека. Экологическое образование. Математические модели и информационные технологии” (Криница, 2001), X Міжнародній конференції “Новые информационные технологии в медицине и экологии” (Ялта – Гурзуф, 2002), VI Міжнародній конференції “Биоантиоксидант” (Москва, 2002), Міжнародній науково-практичній конференції “Новые технологии получения и применения биологически активных веществ” (Алушта, 2002).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 14 наукових праць (п'ять без співавторів), із них 8 – статті в спеціалізованих наукових виданнях, рекомендованих ВАК України, 6 – тези доповідей у матеріалах міжнародних конференцій.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 188 сторінках машинописного тексту, складається із вступу, семи розділів, висновків, списку літератури (що включає 245 джерел), п'яти додатків, ілюстрована 15 таблицями та 28 рисунками.

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

У розділі розглянуті сучасні уявлення про систематичне положення і біологію *Spirulina (Arthrospira) platensis*, дається характеристика особливостей мінерального живлення *Cyanophyta* у зв'язку зі специфікою їхнього метаболізму (у порівнянні з різними групами мікроводоростей), наведені відомості про метаболічну роль білків і пігментів, лабільність їхнього вмісту і складу в залежності від умов вирощування. Проаналізовано дані, що підтверджують можливість використання цих показників для оцінки фізіологічного стану культур *Cyanophyta* і інтегральної оцінки біологічної цінності біомаси.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Основну частину експериментальних робіт виконано на базі науково-виробничого підприємства “Агро-Вікторія” (м. Адлер, Росія) у весняно-літній період 2000-2001 рр. Культиваторами були прямокутні басейни (площею 1,3-1,7 м²), розташовані в типовій скляній теплиці. Об'єм середовища становив 100-120 дм³, висота шару розчину – 7,2-7,7 см. Освітленість на поверхні культур у денний час варіювала в травні від 5 до 50 кЛк, у червні-липні – від 4 до 60 кЛк. Температурні коливання у травні знаходились в діапазоні 18-30°C; у червні-липні –18-32°C. Культури протягом дня багаторазово перемішували за допомогою ручних мішалок.

Різні умови мінерального живлення в дослідях створювали шляхом змінення складу середовищ і застосуванням різних методів культивування. Квазібезперервну культуру зі швидкістю протоки $0,1 \text{ доба}^{-1}$ одержували періодичною (з інтервалом 24 г) заміною $1/10$ частини суспензії спіруліни рівноцінним об'ємом свіжоприготовленого середовища. Під час непропорційно проточного вирощування перед виконанням "10%-вого обміну" з метою підтримки щільності культур на рівні $0,5-0,6 \text{ г АСР/дм}^3$ частину біомаси, зосередженої в поверхневому шарі, вилучали за допомогою рейки.

Експерименти з вивчення впливу концентрації селену на ріст *S. platensis* і накопичення елемента в біомасі здійснювались в лабораторних умовах. Накопичувальні культури утримували в літрових скляних колбах (об'єм суспензії 500 см^3) на люміностації при цілодобовому освітленні знизу (лампи ЛДС-20) і безупинному барботажі повітрям зі швидкістю $0,2 \text{ дм}^3/\text{хв}$. Освітленість дорівнювала $5,3 \text{ кЛк}$, температура середовища – $25,5-26,0^\circ\text{C}$. Квазібезперервним методом спіруліну вирощували в прямокутних басейнах місткістю 100 дм^3 (висота шару культури 10 см) при безперервному освітленні зверху лампами ДЛР-750 і перемішуванні за допомогою електричних насосів. Освітленість на поверхні культур досягала $4,4 \text{ кЛк}$, температура розчину – $20-22^\circ\text{C}$.

Основою живильних середовищ було модифіковане середовище Заррука (Zarrouk, 1966). У різних експериментах, у залежності від поставлених цілей, до складу середовища вносили відповідні зміни. У контролі вміст нітратів становив 500 мг N/дм^3 .

Інтенсивність освітлення на поверхні культур реєстрували за допомогою люксметра Ю-116, рН середовища контролювали іономіром ЕВ-74. Ріст культур реєстрували з використанням фотометричного методу по оптичній щільності суспензії спіруліни в області 750 нм (D_{750}). Вміст АСР у культурах визначали розрахунковим методом за попередньо одержаним рівнянням регресії, що відбиває залежність між D_{750} і щільністю культури (г АСР/дм^3). Максимальну продуктивність (абсолютну швидкість росту) періодичної культури розраховували за рівнянням лінійної регресії як тангенс кута нахилу лінійної ділянки кривої росту: $V = P \cdot t + V_0$, де V і V_0 – поточна і початкова величини біомаси (г АСР/дм^3); P – продуктивність ($\text{г АСР}/(\text{дм}^3 \cdot \text{доб})$); t – час, доба. Продуктивність квазібезперервної культури оцінювали щодня за різницею між величинами біомаси до і після обміну. Середні питомі швидкості росту μ (доб^{-1}) розраховували за рівнянням $\mu = (\ln X - \ln X_0) / (t - t_0)$, де X і X_0 – величини біомаси в момент часу t і t_0 (Vonshak, 1986).

Масову частку білка визначали за допомогою методу Лоупі (Lowry, 1951), вміст пігментів – спектрофотометричними методами (Rowan, 1989). Хлорофіл екстрагували 100% ацетоном, для розрахунку його концентрації використовували специфічний коефіцієнт екстинкції $88,15 \text{ дм}^3 \text{ г}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ (при $\lambda = 663 \text{ нм}$) (Jeffrey, Humphrey, 1975). Каротиноїди екстрагували етанолом, омиляли 30 хв при 60°C ($0,1$

см³ 50% КОН на 1 см³ спиртового екстракту) і переводили в гексан. Концентрацію пігментів у гексановій фракції визначали по поглинанню в області 450 нм при $A_{1\text{см}}^{1\%} = 2500$ (Liaaen-Jensen, Andrewes, 1985). Для виділення фікобіліпротейнів – С-фікоціаніну (С-ФЦ) і алофікоціаніну (АФЦ) – використовували фосфатний буфер (0,1М; рН=7). Реєстрували оптичну щільність отриманих супернатантів в області характеристичних максимумів поглинання С-ФЦ (620 нм) і АФЦ (650 нм). Вміст С-ФЦ і АФЦ у біомасі розраховували за рівняннями (MacColl, Guard-Friar, 1987).

Масову частку вологи в повітряно-сухій біомасі спіруліни визначали шляхом висушування наважок біомаси при 105°C протягом 24 годин (Методи ..., 1975).

Вміст нітратного азоту в середовищі визначали потенціометричним методом за допомогою іономера І-130 (нітратселективний електрод “Еліт-021” (НПО “Нико”, Росія)) (Уильямс, 1982). Економічний коефіцієнт по нітратах (Y) розраховували як відношення кількості споживаного субстрату до відповідного приросту біомаси (Перт, 1978).

Концентрацію селену у сухій біомасі спіруліни визначали флуориметричним методом (Голубкина, 1995).

Розраховували середні арифметичні (M), стандартні відхилення (s), помилки середньої (m), вірогідність розходжень вибіркового середнього за допомогою парного t-критерію (α), коефіцієнти кореляції (R).

ЗАГАЛЬНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ РОСТУ І МЕТАБОЛІЗМУ

S. PLATENSIS В УМОВАХ ПЕРІОДИЧНОЇ КУЛЬТУРИ

Ростові і біохімічні показники спіруліни при вирощуванні в накопичувальній культурі на повному і редукованому середовищі Заррука. При вирощуванні спіруліни у відкритих культиваторах в умовах природної освітленості на повному середовищі накопичувальна культура І (контроль) досягла стаціонарної фази росту на 10-у добу (рис. 1А), коли в середовищі ще залишалось близько 50% початкового рівня нітратів (рис. 1Б). Середня продуктивність (P) за цей період становила 0,104 г АСР/(дм³ доб), а максимум біомаси – 1,17 г АСР/дм³.

Розведення середовища в два рази в початковий період ніяк не позначалося на рості культури ІІ. Відставання намітилося, починаючи з 5-ї доби, і за 10 діб по середній величині продуктивності цей варіант поступився першістю контролю лише на 18%. Максимум біомаси був відзначений на 11-у добу, причому його величина наближалась до контролю і складала 1,09 г АСР/дм³. У варіанті ІІІ при скороченні концентрації живильних елементів у 4 рази зниження темпів росту було зареєстровано вже на другу добу, однак, середня за 10 діб P і величина максимальної біомаси знизилася непропорційно розведенню середовища – у 1,5 рази. Стаціонарна фаза росту була досягнена на 12-у добу за повною відсутністю нітратів у середовищі.

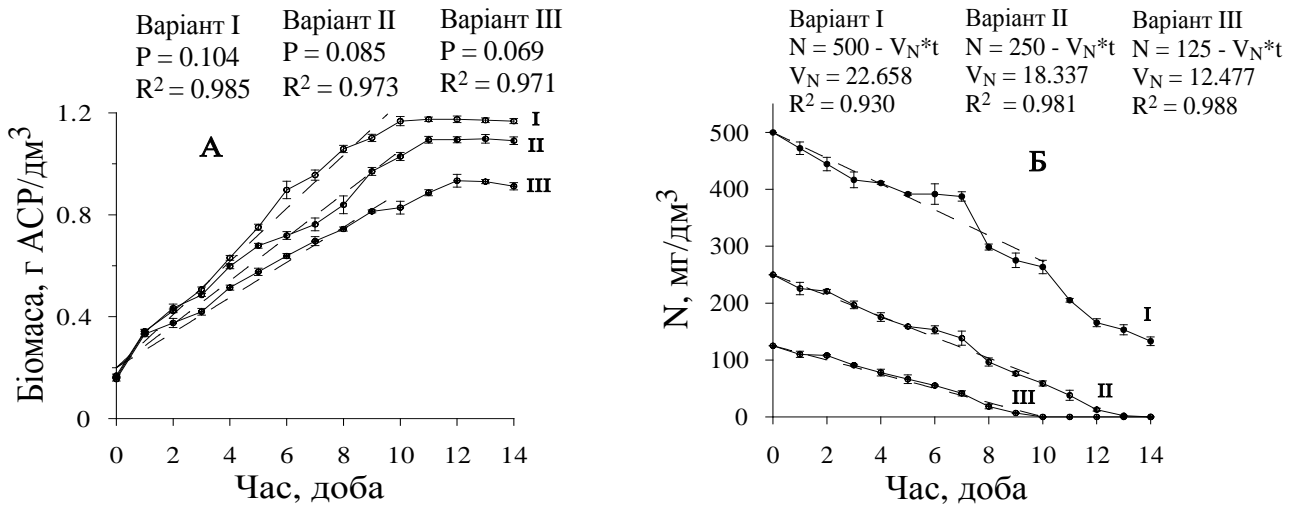


Рис. 1. Динаміка біомаси періодичної культури *S. platensis* (А) і вмісту нітратів у середовищі (Б) ($M \pm s$) у залежності від ступеня розведення живильного середовища: I – контроль, II – розведення середовища в 2 рази, III – розведення в 4 рази. P – середня продуктивність, г АСР/(дм³·доб), V_N – швидкість споживання нітратів, мг N/(дм³·доб)

Вплив розведення середовища на вміст білка, хлорофілу (ХЛ) a і фікобіліпротейнів (ФБП) у *S. platensis* був особливо різко виражений на стаціонарній стадії росту, у період глибокого дефіциту азоту, хоча перші ознаки зміни хімічного складу виявилися вже на 4-у добу (табл. 1). При цьому найбільшою мірою виснажувалися запаси С-ФЦ і АФЦ (у варіанті III – на 68 і 73% порівняно з контролем), що обумовило падіння відносної частки С-ФЦ у загальному білку і величини співвідношення ФЦ/ХЛ. Слід зазначити, що навіть на повному середовищі вміст білка і пігментів у спіруліні, вирощеної в накопичувальній культурі, не досяг рівня інокуляту, отриманого методом непропорційно проточної культури з щоденним 10%-вим обміном живильного середовища і щільністю 0,5-0,6 г АСР/дм³. Причому, у всіх варіантах за період стаціонарної фази росту зареєстровано різке зниження величин усіх досліджених показників, за винятком вмісту каротиноїдів (КР). Чіткої залежності концентрації цих пігментів від складу живильного середовища виявити не удалось. Наприкінці експерименту їхній рівень у всіх трьох культурах наближався і практично не відрізнявся від початкового. Можливо, при зниженні концентрації ХЛ a і ФБП роль КР у поглинанні сонячної енергії істотно зростає, і стабілізація біосинтезу КР є одним з механізмів адаптації клітин до дефіциту біогенів. Величина співвідношення ФЦ/АФЦ у всіх варіантах підтримувалася в діапазоні 2,5 – 3,0, при якому, очевидно, процеси переносу енергії від фікобілісом на ХЛ найбільш збалансовані.

Потреби спіруліни в нітратах. Економічний коефіцієнт по нітратах (Y) визначали по співвідношенню швидкості споживання нітратів (V_N) і продуктивності

Вміст білка і пігментів у сухій біомасі *S. platensis* у залежності від ступеня розведення живильного середовища

| Час, доба | Варіанти експерименту | | | Показники інокуляту |
|--|-------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------------|
| | I – середовище без розведення | II – розведення середовища 1:1 (v/v) | III – розведення середовища 1:3 (v/v) | |
| Вміст білка, % АСР (M ± m) | | | | |
| 4 | 51,13 ± 0,25 | 49,45 ± 0,51 | 43,45 ± 0,75 | 59,97 ± 0,24 |
| 10 | 53,39 ± 0,32 | 48,14 ± 0,29 | 45,23 ± 1,03 | |
| 14 | 42,00 ± 1,81 | 45,23 ± 1,85 | 29,60 ± 0,65 | |
| Вміст хлорофілу <i>a</i> , % АСР (M ± m) | | | | |
| 4 | 0,73 ± 0,01 | 0,70 ± 0,01 | 0,62 ± 0,02 | 1,09 ± 0,01 |
| 10 | 0,74 ± 0,02 | 0,66 ± 0,02 | 0,64 ± 0,01 | |
| 14 | 0,67 ± 0,02 | 0,62 ± 0,01 | 0,51 ± 0,01 | |
| Вміст С-фікоціаніну, % АСР (M ± m) | | | | |
| 4 | 3,48 ± 0,09 | 3,57 ± 0,04 | 3,10 ± 0,12 | 8,20 ± 0,03 |
| 10 | 3,49 ± 0,11 | 3,95 ± 0,06 | 3,29 ± 0,06 | |
| 14 | 3,00 ± 0,04 | 2,34 ± 0,05 | 0,95 ± 0,03 | |
| Вміст алофікоціаніну, % АСР (M ± m) | | | | |
| 4 | 1,01 ± 0,04 | 1,15 ± 0,07 | 0,94 ± 0,05 | 2,33 ± 0,02 |
| 10 | 1,04 ± 0,06 | 1,22 ± 0,04 | 1,05 ± 0,06 | |
| 14 | 1,19 ± 0,08 | 0,83 ± 0,02 | 0,32 ± 0,03 | |
| Вміст каротиноїдів, мкг/г АСР (M ± m) | | | | |
| 4 | 482 ± 21 | 784 ± 19 | 416 ± 26 | 1600 ± 5 |
| 10 | 670 ± 15 | 769 ± 17 | 577 ± 14 | |
| 14 | 598 ± 11 | 580 ± 10 | 536 ± 9 | |

(Р), відбитих на рис. 1 (А, Б). Середні величини Y для варіантів I, II і III становили 217,9 мг N/г АСР, 215,8 мг N/г АСР і 180,9 мг N/г АСР. На основі власних даних щодо вмісту білка наприкінці лінійної фази росту культур і літературних відомостей про вміст нуклеїнових кислот у *S. platensis*, був розрахований показник Y_{AS} – концентрація загального азоту в біомасі (мг N/г АСР). Співвідношення Y_{AS}/Y (%) представлено нами як коефіцієнт ефективності асиміляції нітратів K_{AS} . Розрахункові величини показали, що до моменту виходу періодичних культур на стаціонарну фазу асимільований у складі біомаси азот у всіх варіантах дорівнював лише 42 – 47% від загального зниження вмісту нітратного азоту в середовищі за зазначений період. Такі результати можуть бути обумовлені значною часткою екскретованих N-метаболітів (нітритів, амонію, вільних амінокислот, амінів, розчинних пептидів, вітамінів) (Herrman, 1977; Shah, 1977; Collos, 1992), а також по-

глинанням NO_3^- супутньою бактеріальною флорою і частковим відмиранням клітин спіруліни.

ЗАКОНОМІРНОСТІ РОСТУ І МЕТАБОЛІЗМУ *S. PLATENSIS* В УМОВАХ КВАЗІБЕЗПЕРЕРВНОЇ КУЛЬТУРИ

Ростові і біохімічні характеристики спіруліни в залежності від концентрації нітратів у середовищі Заррука. Дослідження впливу концентрації нітратного азоту в середовищі на ріст і метаболізм спіруліни в квазібезперервній культурі показало, що при вмісті нітратів у живильному середовищі у діапазоні 500–60 мг N/дм³, незважаючи на істотні розходження в забезпеченості культур азотом, швидкості їхнього росту на експонентній стадії розвитку і середні значення продуктивності за цей період практично не відрізнялись, а максимальна щільність біомаси була близькою до 1 г АСР/дм³ (рис. 2 і 3А).

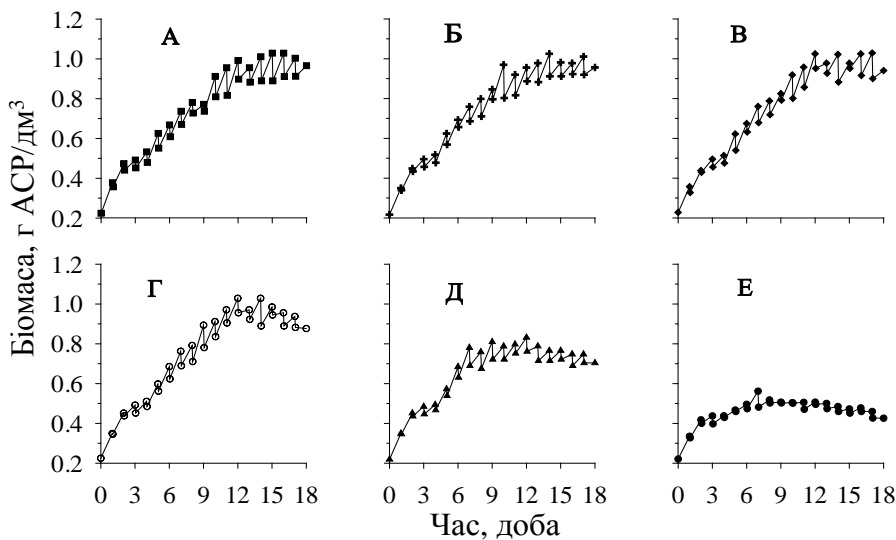


Рис. 2. Динаміка біомаси *S. platensis* при квазі-безперервном режимі культивування в залежності від концентрації азоту в середовищі Заррука: 500 (А), 200 (Б), 100 (В), 60 (Г), 30 (Д) і 10 (Е) мг N/дм³

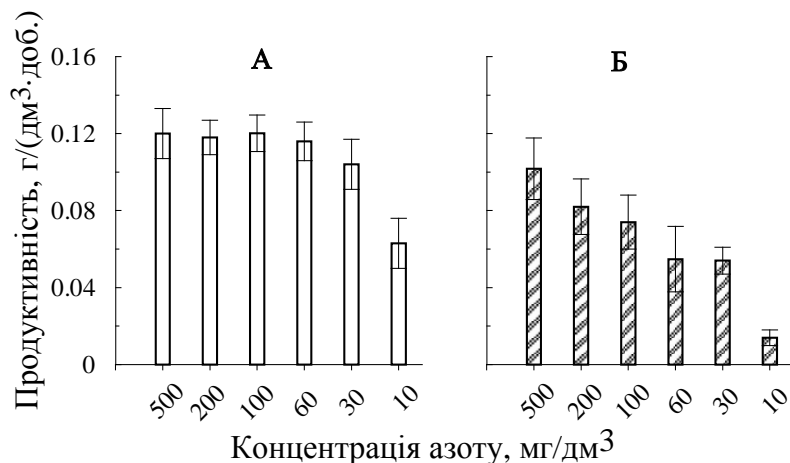


Рис. 3. Середня продуктивність квазібезперервної культури *S. platensis* ($M \pm m$) на логарифмічній (А) і стаціонарній (Б) фазах росту в залежності від концентрації

У варіантах з початковою концентрацією азоту 30 і 10 мг /дм³ активний ріст спіруліни спостерігався до 7 і 3-ї доби, відповідно. При цьому у варіантах 500 і 200 мг N/дм³ наприкінці експерименту ще залишалося близько 50 і 20% початкового рівня нітратів. У варіанті 100 мг N/дм³ вміст нітратів знизився до нижньої границі чутливості іоноселективного електрода (близько 1 мг N/ дм³) на 11-у добу досліду, а

при вихідних концентраціях 60, 30 і 10 мг N /дм³, починаючи з 7, 6 і 5-ї доби, відповідно, азот у середовищі вже не реєструвався (рис. 4).

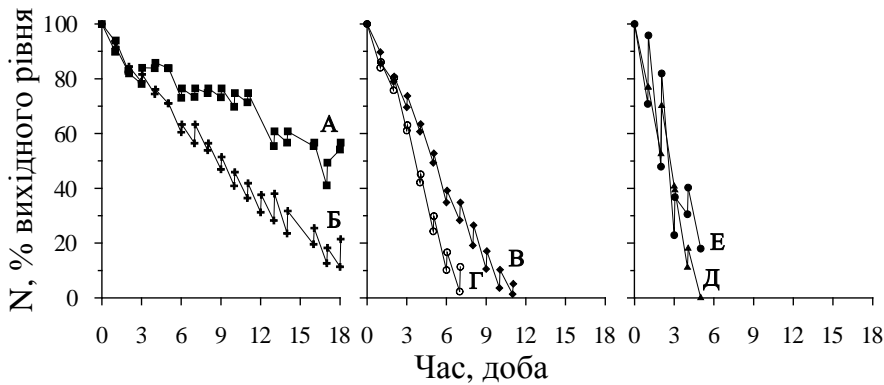


Рис. 4. Динаміка вмісту нітратного азоту в середовищі у *S. platensis* в квазібезперервній культурі в залежності від концентрації нітратів у використовуваних середовищах: 500 (А), 200 (Б), 100 (В), 60 (Г), 30 (Д) і 10 (Е) мг N/дм³

Продовження активного росту культур в умовах азотного дефіциту відбувалося на тлі істотної зміни хімічного складу біомаси (рис. 5).

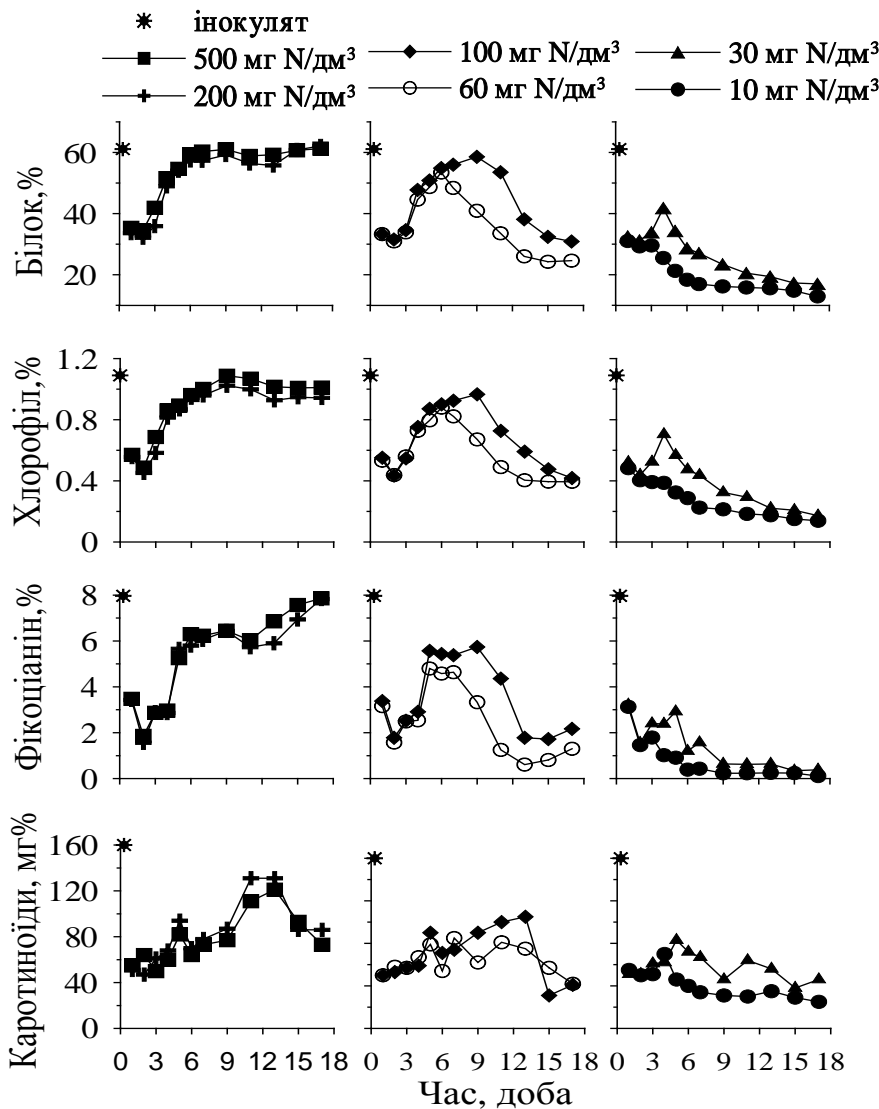


Рис. 5. Динаміка вмісту білка, хлорофілу *a*, С-фікоціаніну і каротиноїдів (в абсолютно сухій біомасі) у *S. platensis* в квазібезперервній культурі в залежності від концентрації нітратів у середовищі Заррука: 500 (⊠), 200 (⊗), 100 (⊞), 60 (⊚), 30 (⊙) і 10 (⊘) мг N/дм³ (⊙ - інокулят)

Насамперед слід зазначити різке зменшення вмісту білка і пігментів в спіруліні у всіх варіантах (у порівнянні з інокулятом) у початковий період культивування

(див. рис. 5), що, мабуть, є відповідною реакцією організму на стрибкоподібну зміну відразу декількох чинників середовища: освітленості, рН, солоності, концентрації біогенів тощо. У варіантах 500 і 200 мг N/дм³ рівні білка, ХЛ *a* і С-ФЦ швидко відновлювалися і не знижувалися до кінця досліду. Аналогічна тенденція спостерігалася спочатку і при концентраціях 100 і 60 мг N/дм³, однак, відновний період тривав лише 9 і 6 діб, відповідно (тобто до вичерпання нітратів у середовищі), після чого концентрація азотвмісних речовин у клітинах почала швидко знижуватися. Ще більш глибокі порушення метаболізму відзначені у варіантах 30 і 10 мг N/дм³. Зміни у вмісті загального білка, ХЛ *a* і С-ФЦ у всіх варіантах носили односпрямований характер, коефіцієнти кореляції між ними становили близько 0,9. При цьому частка С-ФЦ у білку при високому рівні азоту в середовищі в ході експерименту зростала, а в умовах середнього і гострого дефіциту біогену скорочувалась (табл. 2). Подібний характер змін відзначений і в співвідношенні ФЦ/ХЛ, що вказує на N-резервну роль фікоціаніну.

Таблиця 2

Відносний вміст С-фікоціаніну в загальному білку (%) і співвідношення ФЦ/ХЛ у *S. platensis* в квазібезперервній культурі

| Час, доба | Концентрація нітратів у вихідному живильному середовищі, мг N/дм ³ | | | | | |
|-----------|---|-------|-------|------|------|-------|
| | 500 | 200 | 100 | 60 | 30 | 10 |
| | Вміст С-ФЦ у білку (%) | | | | | |
| 1 | 9,84 | 10,21 | 10,15 | 9,49 | 9,90 | 10,09 |
| 5 | 9,61 | 10,47 | 10,96 | 9,86 | 8,51 | 4,28 |
| 11 | 10,24 | 10,16 | 8,15 | 3,73 | 3,02 | 1,45 |
| 17 | 12,83 | 12,60 | 7,02 | 5,28 | 2,24 | 0,85 |
| | ФЦ/ХЛ | | | | | |
| 1 | 6,11 | 6,17 | 6,13 | 5,94 | 6,17 | 6,48 |
| 7 | 6,22 | 6,31 | 5,82 | 5,64 | 3,59 | 1,91 |
| 15 | 7,50 | 7,33 | 3,61 | 2,05 | 1,63 | 1,60 |
| 17 | 7,78 | 8,30 | 5,19 | 3,30 | 2,21 | 0,79 |

Менш вираженим був вплив забезпеченості культур азотом на динаміку вмісту КР (див. рис. 5), для синтезу яких не потрібний азотвмісний попередник. Однак, при гострому дефіциті азоту у варіантах 30 і 10 мг N/дм³ інгібування білкового синтезу не могло не позначитися на активності ферментних систем, що відповідають за утворення і трансформацію ізопреноїдів.

Таким чином, при концентраціях нітратів у середовищі 200 і 500 мг N/дм³ показники росту і хімічного складу спіруліни в квазібезперервній культурі практично не відрізняються.

Зіставлення характеристик спіруліни, вирощеної в квазібезперервній і накопичувальній культурах за однакових умов зовнішнього середовища, показало, що щоденний 10 % обмін забезпечує більш високу продуктивність *S. platensis* (на 15%)

і вміст білка, ХЛ α , ФБП і КР у біомасі (на 9-11%, 27-32%, 42-55% і 49-52%, відповідно).

Системні характеристики спіруліни в залежності від умов азотного живлення. Будь-яка біологічна самовідтворююча система різного рівня організації має структуру елементів, поєднаних між собою функціональними зв'язками. Системні характеристики (надійність, організація, стабільність, складність) дають можливість кількісно оцінити рівень відхилення функціонування системи від норми, тобто можуть бути узагальненим критерієм для оцінки її стану. Для визначення системних характеристик спіруліни використовували загальноприйнятту методику розрахунків (Михайловский, 1978; Михайловский, Федоров, 1982). Для розрахунку надійності системи нами було побудовано кореляційну матрицю на основі восьми параметрів, одночасно контрольованих у кожен момент часу, – величин біомаси, продуктивності, рН, концентрацій білка, ХЛ α , С-ФЦ, КР у біомасі і рівня нітратів у середовищі. Для варіантів 10, 30 і 60 мг N/дм³ коефіцієнт кореляції біомаси з усіма досліджуваними біохімічними параметрами (вміст білка і пігментів у біомасі) був нижче нуля, що свідчить про відказ системи в умовах N-голодування. В інших випадках відзначено, що при збільшенні концентрації азоту в середовищі до 200 мг N/дм³, значення системних характеристик (рис. 6) й кількість вірогідних зв'язків також збільшуються.

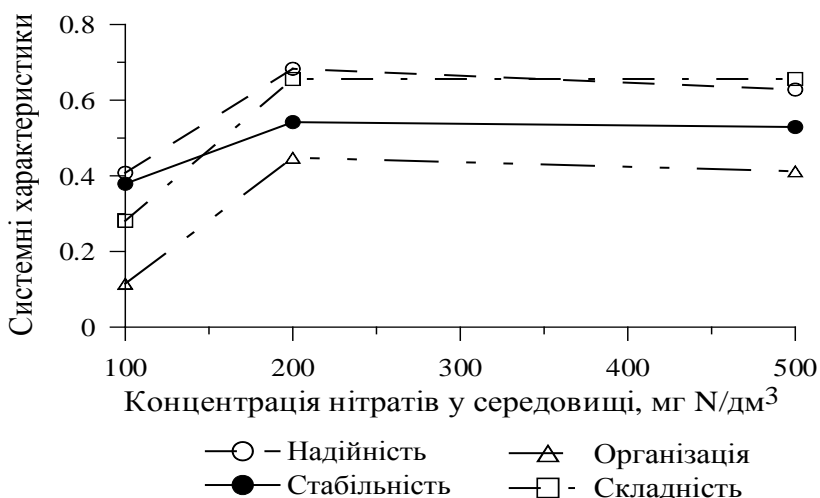


Рис. 6. Значення системних характеристик *S. platensis* в умовах квазі-безперервної культури в залежності від концентрації нітратів у середовищі Заррука

Економічний коефіцієнт по нітратах і ефективність їхньої асиміляції. Величини економічних коефіцієнтів по нітратах (Y) позитивно корелювали з рівнем азотного забезпечення ($R = 0.93$, $\alpha < 0,01$) (рис. 7). Для Y_{AS} кореляція з рівнем нітратів у середовищі також була позитивною ($R = 0,76$), а для K_{AS} – негативною ($R = -0,97$, $\alpha < 0,01$). Таким чином, найбільш ефективно поглинені нітрати засвоюються при гострому N-дефіциті (до 88% у варіанті 10 мг N/дм³).

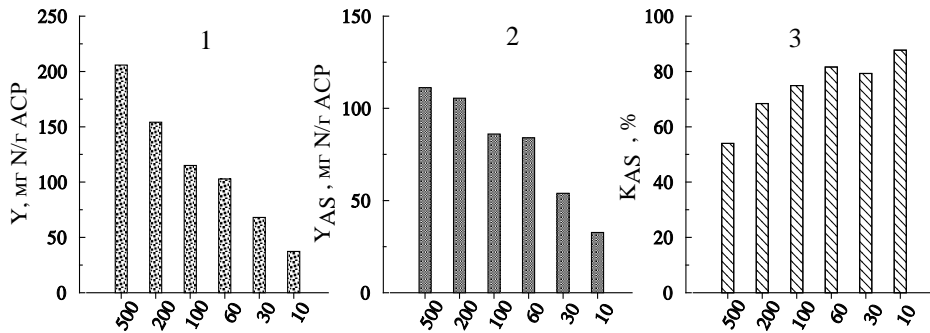


Рис. 7. Вплив умов азотного живлення *S. platensis* в квазібезперервній культурі на: 1 – величину економічного коефіцієнта по нітратах Y , 2 – вміст азоту в біомасі Y_{AS} і 3 – ефективність засвоєння нітратів K_{AS} у період

СЕЧОВИНА ЯК КОМПОНЕНТ АЗОТНОГО ЖИВЛЕННЯ *S. PLATENSIS*

В експериментах сечовину (карбамід $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$) використовували як єдине джерело азоту, а також в складі сумішей з нітратами (табл. 3).

Таблиця 3

Вміст різних хімічних форм азоту в середовищі Заррука

| Хімічна форма азоту | Концентрація азоту, мг N/дм ³ | | | | | | | | | | | | |
|------------------------------------|--|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | Варіанти експериментів | | | | | | | | | | | | |
| | К | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| Нітратний азот (N^{+5}) | 500 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 490 | 470 | 440 | 400 | 200 | 100 |
| Амідний азот (N^{-3}) | 0 | 10 | 30 | 60 | 100 | 300 | 500 | 10 | 30 | 60 | 100 | 300 | 400 |

Залежність ростових і біохімічних показників спіруліни в періодичній культурі від концентрації карбаміду в середовищі і складу карбамід-нітратних сумішей. Встановлено, що при вирощуванні спіруліни в накопичувальній культурі (у літрових колбах) сечовина в концентраціях 300-500 мг $\text{N}^3/\text{дм}^3$ (незалежно від наявності нітратів) породжує різке пригнічення життєдіяльності клітин аж до їхньої загибелі (рис. 8). Найбільш ймовірною причиною цього може бути накопичення в середовищі NH_4^+ і NH_3 унаслідок посилення гідролізу сечовини при високих температурах і рН.

Рівні карбаміду 100 мг $\text{N}^3/\text{дм}^3$ (і нижчі за них) не забезпечували високих величин біомаси (див. рис. 8) і вмісту в ній білка і пігментів (табл. 4). У той же час часткова заміна нітратів на сечовину (до 20% по азоту) справляла стимулюючий ефект як на темпи росту культур, так і на активність анаболічних процесів у клітинах. При цьому зростання вмісту С-ФЦ у білку і співвідношення ФЦ/ХЛ вказувало на більш інтенсивне утворення N-резервів.

Використання карбаміду при культивуванні *S. platensis* непропорційно проточним методом. Було встановлено, що при непропорційно проточному культивуванні спіруліни концентрації сечовини, нижчі 60 мг $\text{N}^3/\text{дм}^3$, (як єдиного

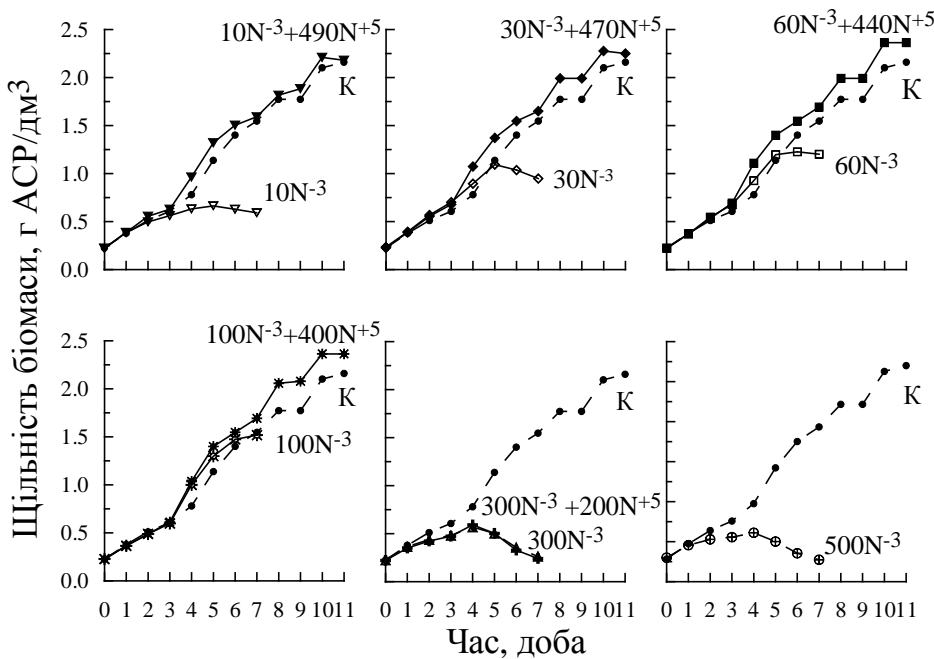


Рис. 8. Динаміка біомаси періодичної культури *S. platensis* у залежності від концентрації сполук азоту в середовищі (мг N/дм³): сечовини (N⁻³) або сечовини і нітратів у вигляді суміші (N⁻³ + N⁺⁵). Контроль (К) – 500 мг N⁺⁵/дм³

Таблиця 4

Біохімічні показники *S. platensis*, вирощеної накопичувальним способом при різних умовах азотного живлення

| Концентрація джерел азоту в середовищі, мг N /дм ³ | Вміст білка, % АСР | Вміст ХЛ <i>a</i> , % АСР | Вміст С-ФЦ, % АСР | Вміст КР, мкг/г АСР | Частка С-ФЦ у білку, % | ФЦ/ХЛ |
|---|--------------------|---------------------------|-------------------|---------------------|------------------------|-------|
| 10 (N ⁻³) | 19,00 ± 0,26 | 0,239 ± 0,004 | 0,23 ± 0,01 | 546,8 ± 0,2 | 1,21 | 0,96 |
| 30 (N ⁻³) | 21,90 ± 0,21 | 0,245 ± 0,008 | 0,27 ± 0,01 | 720,7 ± 0,2 | 1,23 | 1,10 |
| 60 (N ⁻³) | 26,15 ± 0,18 | 0,320 ± 0,007 | 0,52 ± 0,02 | 764,6 ± 0,3 | 1,99 | 1,63 |
| 100 (N ⁻³) | 35,02 ± 0,41 | 0,534 ± 0,007 | 1,34 ± 0,04 | 1178,2 ± 0,5 | 3,83 | 2,51 |
| 10 (N ⁻³) + 490 (N ⁺⁵) | 69,38 ± 0,35 | 1,390 ± 0,006 | 8,56 ± 0,05 | 2715,0 ± 0,6 | 12,34 | 6,16 |
| 30 (N ⁻³) + 470 (N ⁺⁵) | 69,83 ± 0,52 | 1,409 ± 0,009 | 9,08 ± 0,04 | 2685,9 ± 0,4 | 13,00 | 6,44 |
| 60 (N ⁻³) + 440 (N ⁺⁵) | 71,05 ± 0,29 | 1,481 ± 0,010 | 9,42 ± 0,08 | 2646,8 ± 0,7 | 13,26 | 6,36 |
| 100 (N ⁻³) + 400 (N ⁺⁵) | 72,49 ± 0,42 | 1,510 ± 0,012 | 9,71 ± 0,06 | 2859,9 ± 0,6 | 13,39 | 6,43 |
| 500 (N ⁺⁵) | 69,44 ± 0,31 | 1,387 ± 0,009 | 8,52 ± 0,03 | 2646,3 ± 0,3 | 12,27 | 6,14 |

джерела азоту) не забезпечували високих швидкостей росту протягом всього експерименту (рис. 9). Погіршення ростових показників (відносно контролю) відзначили на 5 – 6-у добу у випадках 10N⁻³ і 30N⁻³ і на 13-у добу у варіанті 60N⁻³. Останній, проте, був порівняний з контролем по середній за весь період продуктивності (рис. 10). Концентрація карбаміду в середовищі 100 мг N⁻³/дм³ забезпечувала високі темпи росту спіруліни протягом усього часу культивування. Однак, у цьому випадку вміст білка, ХЛ *a*, С-ФЦ і КР у біомасі до кінця експерименту знижувався і становив, відповідно, 45,2 %, 0,8%, 3,8% і 209 мг% (проти 65,9%, 1,3%, 8,1% і 278 мг% у контролі). Можливо, активний ріст відбувався за рахунок мобілізації внутрішньоклітинних резервів, накопичених раніше при адекватних умовах азотного живлення.

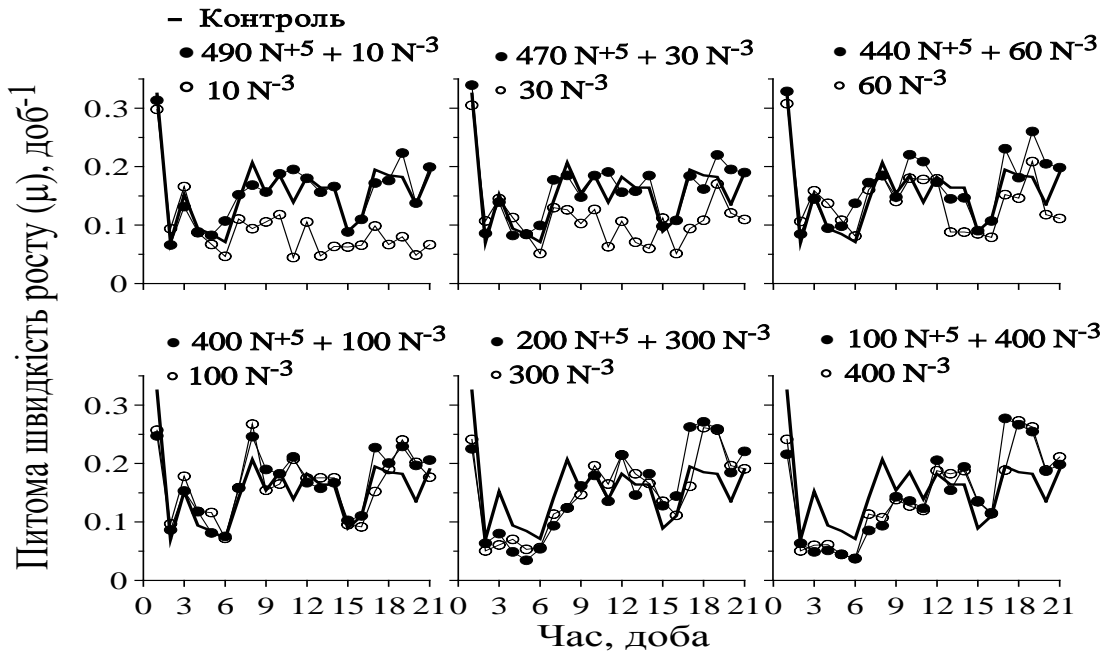


Рис. 9. Динаміка середньодобових питомих швидкостей росту (μ) *S. platensis* в умовах непропорційно проточної культури при різних умовах азотного живлення. В позначеннях цифрами зазначені концентрації різних форм азоту (мг N/дм³). Контроль – 500 мг N⁺⁵/дм³

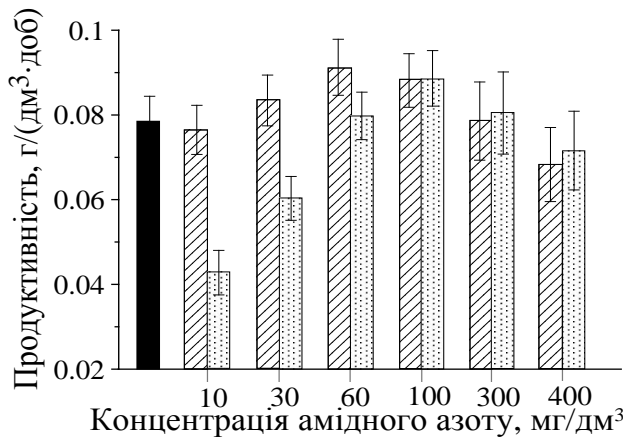


Рис. 10. Середня продуктивність *S. platensis* ($M \pm m$) в умовах непропорційно проточної культури в залежності від концентрації і форми азоту в живильному середовищі. Позначення:

- – Контроль (500 мг N⁺⁵/дм³);
- ▨ – N⁻³;
- ▩ – N⁻³ + N⁺⁵ (сумарний вміст азоту)

Концентрації сечовини 300 і 400 мг N⁻³/дм³ (незалежно від наявності нітратів у середовищі) спричинювали різке інгібування росту спіруліни, зв'язане з адаптаційними метаболічними перебудовами – підвищенням рівня білка (71 – 72% АСР) і С-ФЦ (>10% АСР) на тлі зниження рівня ХЛ *a*. При цьому значення індексу ФЦ/ХЛ зростало до 9 – 10 (у контролі воно дорівнювало 6 – 7). На відміну від накопичувальної культури цей ефект протягом 8-10 днів нівелювався, і до кінця експерименту швидкості росту у варіантах 300 і 400 N⁻³ більш ніж на 40 % перевищували рівень контролю (див. рис. 9), що обумовило відсутність вірогідних розходжень між цими варіантами по середній за весь період продуктивності (див. рис. 10).

Очевидно, динаміка вмісту амідного азоту у відкритих культиваторах визначалася не тільки швидкістю асиміляції субстрату клітинами спіруліни, але і швид-

кістю випару NH_3 , що утворюється під час гідролізу сечовини (Laliberté et al., 1997). Причому, внесок абіотичної складової при температурі середовища 30°C міг бути дуже вагомим – до 60% від загального зниження концентрації азоту (Proulx, et al., 1994).

При відносному вмісті N^{-3} у сумішах, який дорівнював 20, 60 і 80%, μ у всіх випадках практично збігалися з μ на середовищах, де джерелом азоту була одна сечовина, взята в таких самих концентраціях. Але такий збіг не означає, що потреби в азоті в обох паралелях забезпечувалися лише за рахунок амідів, тобто відбувалося блокування асиміляції нітратів, аналогічне процесу, описаному для сумішей NH_4^+ і NO_3^- (Syrett, 1981; Flores, Herrero, 1994). Більш високі рівні білка і пігментів у спіруліні, вирощеної у варіантах $100\text{N}^{-3}+400\text{N}^{+5}$ і $300\text{N}^{-3}+200\text{N}^{+5}$ (порівняно з варіантами 100N^{-3} і 300N^{-3}) дозволяють припустити спільну утилізацію обох форм азоту.

Заміна 12 – 20% нітратного азоту середовища Заррука на амідний є оптимальнішим варіантом використання карбаміду при непропорційно проточному способі вирощування, бо забезпечує найбільш високі темпи росту і показники біологічної цінності біомаси (рівень білка 62 – 68% АСР, ХЛ a – 1,1 – 1,3% АСР, С-ФЦ – 7 – 9% АСР, КР – 2,8 – 3,6 мг/г АСР).

СЕЛЕН ЯК КОМПОНЕНТ СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ *S. PLATENSIS*

Залежність темпів росту спіруліни і рівня накопичення селену в біомасі від концентрації селеніту натрію в середовищі. При вирощуванні спіруліни в накопичувальній культурі було показано, що в діапазоні концентрацій селену в середовищі 1 – 20 мг $\text{Se}/\text{дм}^3$ (у формі селеніту натрію) не відбувається пригнічення росту культури (рис. 11).

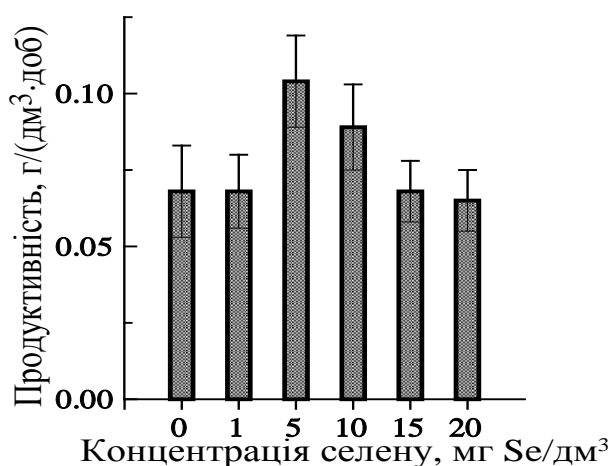


Рис. 11. Середня продуктивність ($M \pm s$) періодичної культури *S. platensis* на стадії лінійного росту в залежності від концентрації селену в середовищі

Середня продуктивність при 5 мг $\text{Se}/\text{дм}^3$ була на 50% вища, ніж у контролі ($\alpha < 0,05$). У механізмі промоторної дії селену основну роль віддають підвищенню активності глутатіонпероксидази як компонента клітинної системи антиоксидантного захисту.

У *S. platensis* в умовах квазібезперервної культури оцінювали рівень накопичення Se у біомасі в залежності від концентрації елемента в середовищі. Початкова концентрація Se у середовищі експериментальних басейнів I і II досягала 0,5 і 2,0 мг Se/дм³, відповідно, при щільності культур $\approx 0,6$ г АСР/дм³. У біомасі, відібраної на третю добу, вміст Se збільшився в 25,2 і 82,3 рази, у порівнянні з контролем (табл. 5).

Таблиця 5

Вміст селену в *S. platensis* в умовах квазібезперервної культури при різних концентраціях Na₂Se₃ у середовищі

| Концентрація селену (IV) у середовищі, мг/дм ³ | Концентрація селену у сухій біомасі, мкг/г АСР | | | |
|---|--|------------|------------|------------|
| | Тривалість експерименту, доба | | | |
| | 3 | 5 | 6 | 7 |
| 0 (контроль) | 0,13 ± 0,03 | - | - | - |
| 0,5 | 3,28 ± 0,24 | - | - | - |
| 2,0 | 10,70 ± 0,55 | - | - | - |
| 10,0 | - | 24,6 ± 1,3 | 14,6 ± 0,6 | 14,3 ± 0,6 |
| 15,0 | - | 23,9 ± 1,2 | 19,9 ± 1,2 | 21,8 ± 0,9 |

Невелика кількість селену у контролі з'ясовується присутністю елемента як домішки в солях, використаних для готування живильного розчину.

На четверту добу концентрацію селену у дослідних басейнах збільшили до 10 і 15 мг/дм³, що призвело спочатку до значного (але непропорційного) підвищення рівня селену у водоростях (у 7,5 і 2,3 рази, відповідно), а потім – до його зниження. Середня продуктивність спіруліни в контролі і при 10 і 15 мг Se/дм³ варіювала в діапазоні 0,05 – 0,06 г АСР/(дм³ доб). За приблизною оцінкою, спіруліна в умовах квазібезперервної культури за 48 годин асимілювала із середовища близько 0,4% від кількості селену, що міститься в середовищі.

Антагоністичні моделі впливу селену на ріст і біохімічні показники спіруліни. На основі відомих уявлень про антагонізм сірки і селену були побудовані моделі, які характеризують залежність ростових і біохімічних показників спіруліни від співвідношення концентрацій селену і сірки в середовищі.

Відповідно до *біохімічної* і *фізіологічної* моделей, співвідношення швидкостей синтезу селен- і сірковмісних продуктів, а також їхніх клітинних концентрацій, лінійно пов'язане зі співвідношенням концентрацій субстратів (селену і сірки) у середовищі.

Загальна модель описує залежність питомої швидкості росту водоростей від співвідношення конкуруючих елементів у середовищі:

$$m = m_m \cdot \left(1 - \frac{R_s^{Se}}{R_s^{Se}(\max)}\right) \cdot \left(1 - \frac{R_s^{Se}(\min)}{R_s^{Se}}\right),$$

де R_S^{Se} – співвідношення кількостей селену і сірки в середовищі.

$R_S^{Se}(\max)$ і $R_S^{Se}(\min)$ – максимальні і мінімальні співвідношення цих елементів у середовищі, нижче чи вище яких ріст клітин не відбувається.

Оптимум співвідношення, при якому спостерігається максимум швидкості:

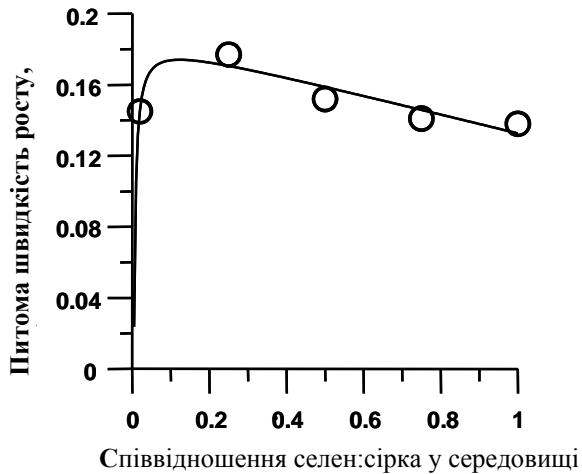


Рис. 12. Залежність питомої швидкості росту спіруліни від співвідношення концентрацій селену і сірки у середовищі. Крапки – експеримент, лінія – розрахунок за рівнянням

$$R_S^{Se}(\text{opt}) = \sqrt{R_S^{Se}(\min) \cdot R_S^{Se}(\max)}.$$

Експериментальні дані дозволяють зробити приблизну оцінку коефіцієнтів моделі. На рис. 12 показані одержані значення питомої швидкості росту спіруліни при різних співвідношеннях селену і сірки в середовищі, а також вид залежності, розрахованої за рівнянням. У досліджах концентрація сірки не змінювалась і дорівнювала 20 мг/дм³. Характер спробної і розрахункової залежностей збігаються за формою, що може вказувати на адекватність моделі реальному механізму антагонізму сірки і

селену у метаболічних реакціях у спіруліни. Як найкраще дані описуються при використанні таких значень коефіцієнтів:

$m_m = 0,187 \text{сутки}^{-1}$ – максимальне значення питомої швидкості росту;

$R_S^{Se}(\min) = 0,0044$ – мінімальне співвідношення селену і сірки в середовищі;

$R_S^{Se}(\max) = 3,47$ – максимальне співвідношення селену і сірки в середовищі.

ВИСНОВКИ

1. Квазібезперервний метод культивування, у порівнянні з накопичувальним, забезпечує більш високу продуктивність *Spirulina platensis* і вміст білка й антиоксидантів у біомасі.

2. Вміст білка, хлорофілу *a*, С-фікоціаніну в біомасі, частка С-фікоціаніну в білку і співвідношення фікоціанін:хлорофіл можуть бути фізіолого-біохімічними індикаторами умов мінерального живлення *S. platensis*. При дефіциті біогенних елементів зниження рівня зазначених показників реєструється раніш, ніж зниження продукційних характеристик.

3. При квазібезперервному способі культивування оптимальні концентрації нітратів, що забезпечують високу продуктивність *S. platensis* і біологічну цінність біомаси (вміст білка, хлорофілу *a* і фікоціаніну понад 60%, 1% і 7-8%, відповідно) становлять не менше 200 мг N/дм³.

4. Значення системних характеристик (надійності, стабільності, організації, складності), що відбивають функціональний стан *S. platensis*, збільшуються при підвищенні концентрації нітратів у середовищі до 200 мг N/дм³.

5. Величина економічного коефіцієнта по нітратах у спіруліні в квазібезперервній культурі позитивно корелює з вмістом нітратів у середовищі, а ефективність асиміляції нітратів зростає при погіршенні умов азотного живлення. Найнижчі значення коефіцієнта асиміляції нітратів (42 – 47%) у *S. platensis* відзначені в періодичній культурі.

6. Карбамід малоприсадаєний як єдине джерело азоту для *S. platensis* як у накопичувальній, так і в непропорційно проточній культурах, але ефективний у вигляді сумішей з нітратами при оптимальній частці амідного азоту – 20% від загального азоту.

7. *S. platensis* витримує високі концентрації селену у середовищі. Додання до складу середовища селеніту натрію в концентраціях до 20 мг Se/дм³ не супроводжується пригніченням росту лабораторної накопичувальної культури, а при 5 мг Se/дм³ виявлено стимулюючий ефект.

8. Швидкість накопичення селену *S. platensis* в умовах квазібезперервної культури позитивно корелює з концентрацією елемента в середовищі. Вміст селену в сухій біомасі досягає 14,3 – 24,6 мкг Se/г при концентраціях селеніту в середовищі 10 – 15 мг Se/дм³, що може бути використано для збагачення біомаси елементом з антиоксидантними властивостями.

9. На підставі побудованих антагоністичних моделей показано, що співвідношення концентрацій селен/сірковмісних продуктів метаболізму, а також швидкостей їхнього синтезу лінійно залежать від співвідношення концентрацій селену і сірки в середовищі. Отриману залежність питомої швидкості росту культур від співвідношення концентрацій селену і сірки в середовищі підтверджено експериментальними даними.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ПО ТЕМІ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Дробецкая И. В., Минюк Г. С., Тренкеншу Р. П. и др. Ростовые и биохимические характеристики *S. platensis* (Nordst.) Geitler при различных условиях минерального питания // Экология моря. – 2001. – Вып. 56. – С. 41–46.

2. Дробецкая И.В. Использование мочевины при выращивании синезеленой микроводоросли *Spirulina platensis* (Nords.) Geitl. в накопительной культуре // Экология моря. – 2002. – Вып. 60. – С. 53–59.

3. Дробецкая И. В., Минюк Г. С. Использование мочевины при выращивании цианобактерии *Spirulina (Arthrospira) platensis* методом непропорционально проточной культуры // Экология моря. – 2004. – Вып. 65. – С. 28–34.

4. Минюк Г.С., Дробецкая И.В. Влияние селена на жизнедеятельность морских и пресноводных микроводорослей (обзор) // Экология моря. – 2000. – Вып. 54. – С. 26–37.

5. Минюк Г.С., Тренкеншу Р.П., Алисиевич А.В., Дробецкая И.В. Влияние селена на рост *Spirulina platensis* (Nords.) в накопительной и квазинепрерывной культурах // Экология моря. – 2001, Вып. 54. – С. 42–49.

6. Минюк Г.С., Дробецкая И.В., Тренкеншу Р.П., Вялова О.Ю. Ростовые и биохимические характеристики *Spirulina (Arthrospira) platensis* (Nordst.) Geitler при различных условиях азотного питания // Экология моря. – 2002. – Вып. 62. – С. 61–66.

7. Парчевская Д.С., Дробецкая И.В., Минюк Г.С. Системные характеристики спирулины *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler в промышленных условиях // Экология моря. – 2002. – Вып. 60. – С. 71–74.

8. Тренкеншу Р.П., Дробецкая И.В. Влияние антагонизма серы и селена на рост и биохимические показатели спирулины // Экология моря. – 2000. – Вып. 54. – С. 50–56.

9. Дробецкая И.В. Влияние селена на рост микроводоросли *Spirulina platensis* (Nords.) в накопительной и квазинепрерывной культурах // Экология и здоровье человека. Экологическое образование. Математические модели и информационные технологии: Тез. VI междунар. конф. (Криница, Россия, 17 – 12 сент. 2001 г.). – Краснодар, 2001. – С. 31.

10. Дробецкая И. В. Антагонистическая модель влияния селена на рост и биохимические показатели спирулины // Экология и здоровье человека. Экологическое образование. Математические модели и информационные технологии: Тез. докл. VI междунар. конф. (Криница, Россия, 17 – 12 сент. 2001 г.). – Краснодар, 2001. – С. 263.

11. Дробецкая И.В., Тренкеншу Р.П., Минюк Г.С. Влияние минерального питания на рост и содержание биологически активных веществ у спирулины // Нетрадиционное растениеводство. Эниология. Экология и здоровье: Мат. X междунар. симп. (Алушта, 2 – 9 сент. 2001 г.). – Симферополь, 2001. – С. 502–504.

12. Дробецкая И.В. Влияние различных соотношений мочевины и нитратов в культуральной среде на продуктивность *Spirulina platensis* и содержание в биомассе белка и пигментов антиоксидантного комплекса // Новые технологии получения и применения биологически активных веществ: Тез. докл. Междунар. науч.-практ. конф. (Алушта, 20 – 25 мая 2002 г.). – Симферополь: Изд-во КНЦ, 2002. – С. 110.

13. Дробецкая И.В., Минюк Г.С. Влияние условий культивирования на содержание антиоксидантов в клетках синезеленой микроводоросли *Spirulina platensis* (Nords.) Geitl. // Биоантиоксидант: Тез. докл. VI Междунар. конф. (Москва, 16 – 19 апр 2002 г.). – Москва: Из-во Экспресс Полиграф Сервис, 2002. – С. 169–170.

14. Дробецкая И.В. Влияние разных условий азотного питания и режимов культивирования на рост *Spirulina platensis* и содержание в биомассе белка, хлорофилла фикоцианина и каротиноидов // Новые информационные технологии в медицине и экологии: Труды X Междунар. конф. (Ялта – Гурзуф, 1 – 10 июня 2002 г.). – Запорожье: Изд-во Запорож. госунив-та, 2002. – С. 283–285.

АНОТАЦІЇ

Дробецька І.В. Вплив умов мінерального живлення на ріст і хімічний склад *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.17 – гідробіологія. – Інститут біології південних морів ім. О.О. Ковалевського НАН України, м. Севастополь, 2005.

Досліджено закономірності росту і метаболізму *S. platensis* у щільній квазібезперервній і непропорційно проточній культурах (з добовим циклом) при вирощуванні у відкритих культиваторах в умовах природних коливань освітлення і температури. Встановлено, що концентрації белка і пігментів антиоксидантного комплексу у *S. platensis* при цих способах культивування суттєво вищі, ніж у накопичувальній культурі.

Вперше показана можливість використання результатів щодо вмісту білка і пігментів у спіруліні для розрахунку її системних характеристик (надійності, організації, стабільності і складності).

Виявлено, що такі показники як вміст білка, хлорофілу *a*, фікобіліпротеїнів у біомасі, частка С-фікоціаніну у загальному білку і співвідношення фікоціанін:хлорофіл можуть бути використані як чутливі фізіолого-біохімічні індикатори умов азотного живлення *S. platensis*. Величина економічного коефіцієнту по нітратах у *S. platensis* в умовах квазібезперервної культури позитивно корелює з рівнем нітратів у середовищі, але ефективність асиміляції нітратів зростає при погіршенні умов азотного живлення.

Виявлено, що карбамід як єдине джерело азоту малоприсадаблений для вирощування *S. platensis* як у накопичувальній, так і у непропорційно проточній культурах. У той же час, часткова заміна нітратів на сечовину (до 20% по азоту) справляє стимулюючий вплив на темпи росту культур і активність анаболічних процесів у клітинах.

Швидкість накопичування селену у клітинах *S. platensis* в умовах квазібезперервної культури позитивно корелює з концентрацією елемента у середовищі. Вміст селену у сухій біомасі коливається 14,3 – 24,6 мкг Se/г при концентраціях селеніту натрію у середовищі 10 – 15 мг Se/дм³. На підставі побудованих антагоністичних моделей показано, що співвідношення концентрацій продуктів метаболізму, що містять сірку і селен, а також швидкостей їх синтезу, лінійно залежать від співвідношення концентрацій елементів у середовищі. Одержану залежність питомої швидкості росту культур від співвідношення концентрацій селену і сірки у середовищі підтверджено експериментальними даними.

Ключові слова: *Spirulina platensis*, квазібезперервна і непропорційно проточна культура, продуктивність, азотне живлення, білок, пігменти.

Дробецкая И.В. Влияние условий минерального питания на рост и химический состав *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.17 – гидробиология. – Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, 2005.

Исследованы закономерности роста и метаболизма *S. platensis* в плотной квазинепрерывной и непропорционально проточной культурах (с суточным циклом) при выращивании в открытых культиваторах в условиях естественной освещенности и температуры. Показано, что концентрации белка и пигментов антиоксидантного комплекса у *S. platensis* при данных способах культивирования существенно выше, чем в накопительной культуре.

Впервые данные по содержанию белка и пигментов у спирулины использованы для расчета ее системных характеристик (надежности, организации, устойчивости и сложности).

Установлено, что такие показатели как содержание белка, хлорофилла *a*, фикобилипротеинов в биомассе, доля С-фикоцианина в общем белке и соотношение фикоцианин:хлорофилл, являются тонкими физиолого-биохимическими индикаторами условий азотного питания *S. platensis*. Впервые показано, что у *S. platensis* в квазинепрерывной культуре величина экономического коэффициента по нитратам положительно коррелирует с уровнем нитратов в среде, но эффективность ассимиляции нитратов возрастает при ухудшении условий азотного питания.

Выявлено, что карбамид в качестве единственного источника азота малопригоден для выращивания *S. platensis* как в накопительной, так и в непропорционально проточной культурах. В то же время, частичная замена нитратов на мочевины (до 20% по азоту) оказывает стимулирующий эффект как на темпы роста культур, так и на активность анаболических процессов в клетках.

Скорость накопления селена *S. platensis* в условиях квазинепрерывной культуры положительно коррелирует с концентрацией элемента в среде. Содержание селена в сухой биомассе достигает 14,3 – 24,6 мкг Se/г при концентрациях селенита в среде 10 – 15 мг Se/дм³. На основе построенных антагонистических моделей показано, что соотношения концентраций селен- и серусодержащих продуктов метаболизма, а также скоростей их синтеза линейно зависят от соотношения концентраций селена и серы в среде. Полученная зависимость удельной скорости роста культур от соотношения концентраций селена и серы в среде подтверждена экспериментальными данными.

Ключевые слова: *Spirulina platensis*, квазинепрерывная и непропорционально проточная культура, продуктивность, азотное питание, белок, пигменты.

Drobetskaya I.V. Influence of mineral nutrition conditions on growth and chemical composition of *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler. – Manuscript.

The dissertation work to obtain a degree of Candidate of Biological Sciences on speciality 03. 00.17 – hydrobiology – Institute of Biology of the Southern Seas, National Academy of Sciences of Ukraine, Sevastopol, 2005.

The relationships of the growth and metabolism of *Spirulina platensis* in dense semicontinuous and disproportionately continuous cultures (with a daily cycle) under open-air systems condition at natural light intensity and temperature have been established. It has been shown that concentrations of protein and antioxidant complex pigments of *S. platensis* at given cultivation modes are significantly higher than in batch culture.

For the first time the data of protein and pigments contents in the biomass are used for calculation of spirulina system characteristics (reliability, organization, stability and complexity).

It has been established that such parameters as protein, chlorophyll *a* and phycobiliprotein contents in biomass, C-phycocyanin percentage in total protein and phycocyanin:chlorophyll ratio are the fine physiologo-biochemical indicators of spirulina nitrogen nutrition conditions. For the first time it has been shown that for *S. platensis* in semicontinuous culture the value of economic nitrate coefficient positively correlates with a level of nitrates in the medium, but nitrate assimilation efficiency grows at deterioration of nitrogen nutrition conditions.

It has been revealed that carbamide as an exclusive nitrogen source is of little use for *S. platensis* cultivation both in batch, and in disproportionately continuous culture. At the same time, partial replacement of nitrates by urea (up to 20 % on nitrogen) has stimulating effect both on growth rates of cultures and on activity of anabolic processes in the cells.

Rate of selenium accumulation by *S. platensis* in semicontinuous culture positively correlates with element concentration in the medium. The selenium content in dry biomass reaches 14,3 - 24,6 mkg Se/g at medium selenite concentrations 10 - 15 mg of Se/dm³. On basis of developed antagonistic models it has been shown that the ratios of concentrations of selenium- and sulfur-containing metabolic products and also of the rates of their synthesis linearly depend on a ratio of selenium and sulfur concentrations in the medium. The obtained relationship between specific growth rate of cultures and the ratio of selenium and sulfur concentrations in the medium has been confirmed with experimental data.

Key words: *Spirulina platensis*, semicontinuous and disproportionately continuous cultures, productivity, nitrogen nutrition, protein, pigments.