

КУЛТИВИРАНЕ НА *SPIRULINA MAXIMA* В ЛАБОРАТОРНИ УСЛОВИЯ

Даниела Петрова, Димитър Герджиков

Abstract: During the period 2010 - 2012 an experiment was carried out in the Institute of Fish Resources - Varna aiming at long-term cultivation and maintenance of monoculture of *Spirulina maxima* strain CCALA 28 LEFEVRE 1963/M-132-1. The culture displayed high resistance to external influences, fast growth rate and potential for successful cultivation in industrial conditions.

Key words: *Cyanophyta*, род *Spirulina*, монокултура, култивиране, *Arthrospira maxima* CCALA 28 LEFEVRE 1963/M-132-1

Въведение

Искусственото отглеждане на нишковидни, едноклетъчни, синьо - зелени водорасли (*Cyanophyta*) е познато от древни времена в човешката практика и през последните десетилетия се възражда отново с развитието на съвременните биотехнологични методи при създаване и поддържане на монокултури (Дилов, 1985; Petrova, 2007). Специално водораслите от род *Spirulina* (*Arthrospira*), осигуряват получаване на продукт с високо съдържание на протеини и физиологично активни вещества, с потенциално успешно приложение в медицината, хранителната и микробиологичната промишленост, фармацевцията, енергетиката (получаване на биомаса) и фундаменталните изследвания. В зависимост от използвания щам съдържанието на протеини варира от 30 до 70 %. Спирулината стимулира, укрепва и подсилва имунната система на човека и се оказва особено полезна при поддържането на здравословен и балансиран режим на хранене (Tadros, 1988).

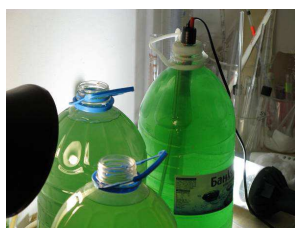
Материали и методи

Експериментът бе извършен с *Arthrospira maxima*, щам CCALA 28 LEFEVRE 1963/M-132-1.

В лабораторията по хидробиология - направление фитопланктон за отглеждане на *Arthrospira maxima* бе използван лабораторен бокс и установка, среда „Spirul”, поставяна в съдове от 1 до 6 л. Използвани бяха стерилни лабораторни колби, постоянна температура 29 - 30° С и постоянно барботиране на културата в шишета от 6 и 20 л. (Фиг.1 и Фиг.2).

Осигурено бе осветление от лампи (5 - 10 хил. лукса) и с режим 12 часа тъмна фаза/12 часа светла фаза, чрез използване на таймери за осветление.

Пресяването бе извършвано на всеки 30 - 45 дни.



(A)



(B)

Фиг.1. Плътност на културата в лабораторни условия на 7-ия ден (А) и на 22-ия ден (Б)

Отчитането на концентрацията на „Спирулината” в културата бе извършено по два начина - 1) чрез определяне числеността на клетките (брой на трихомите, дължина на трихомите и бой на клетките в тях) в определен обем с микроскоп NIKON E400 при увеличение 100x ; 2) чрез отчитане концентрацията на хлорофил-а чрез флуориметър;



Фиг.2. Примерен тип инсталация , разработен в лабораторията по фитопланктон в ИРП-Варна с обем 20 л за поддържане на постоянна лабораторна култура.

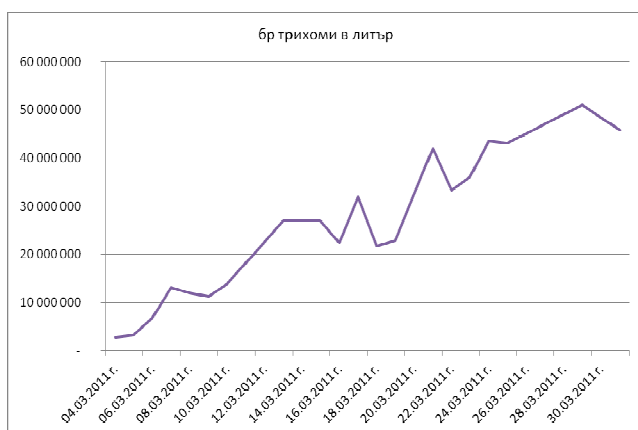
Резултати

В периода 2010 – 2012 г. в лабораторията по фитопланктон към Института по рибни ресурси беше проведен експеримент за дългосрочно отглеждане и поддържане на монокултура от *Spirulina maxima* щам CCALA 28 LEFEVRE 1963/M-132-1.

Първоначалното засяване се извърши през 2010 г., като към 6 литра подготвена и затоплена до 30 C° среда, добавихме 10 мл. концентрирана култура от „Спирулина” (През средата се прекарваше въздух с ниска интензивност, Отоплението се осигурява от автоматичен нагревател настроен на 30 градуса).

Първите 2 - 3 дена културата изглеждаше неповлияна от засяването, след което започна слаба промяна в цвета на средата до зелено.

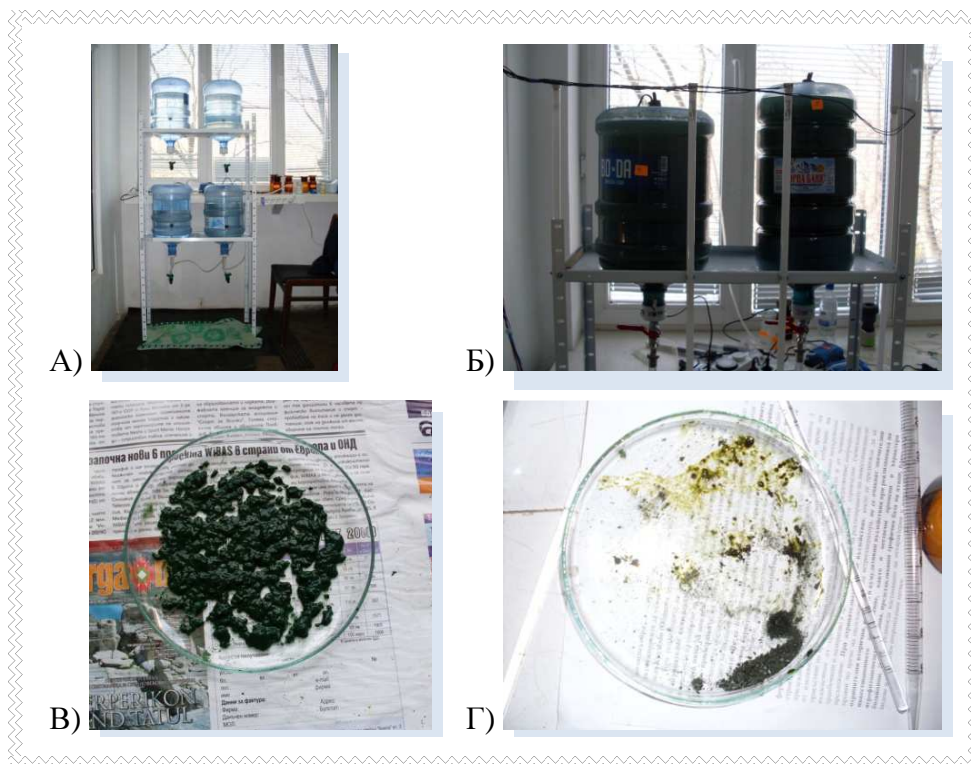
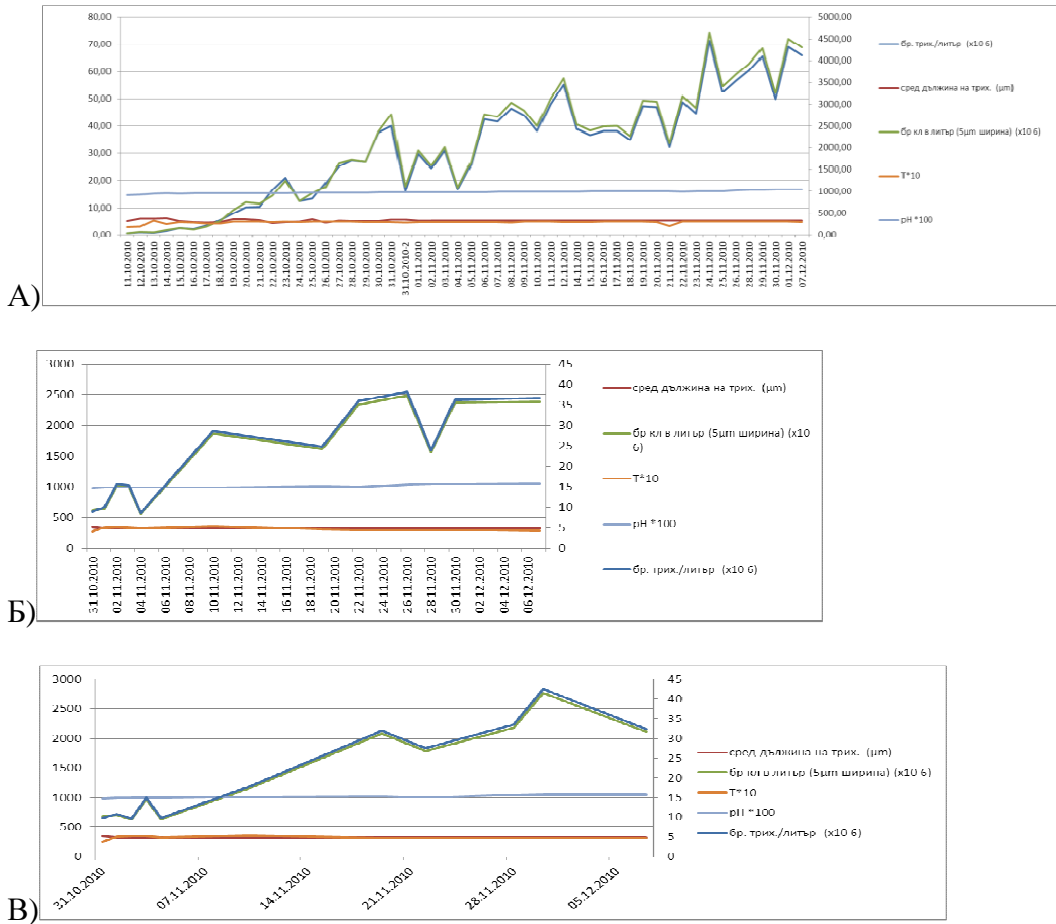
Броят на трихомите нарастваше сравнително бързо като при първоначална концентрация от 2,8 млн. трихоми /л. на 17-ия ден достига 42 млн. трихоми /л., концентрация , при която вече може да се пристъпи към добив (Фиг.3).



Фиг.3. Типична крива на нарастване на броя на трихомите на *Arthrospira maxima* на л в продължение на 1 месец.

В следващите няколко месеца бе извършено непрекъснато наблюдение на новозасятата монокултура, морфологични изследвания, броене и заснемане на трихомите. Бе определена средната дължина на трихомите (с цел лесно изчисляване на биомасата). Бяха проведени експерименти при различни температури, осветление, брой на пресяванията, състав на хранителните среди и фосфатните източници, източниците на микроелементи и витамини.

В различните експериментални съдове (първоначално 3 на брой) получихме резултати, които ни помогнаха да установим оптималните за тази монокултура показатели на средата, Фиг.4.



Фиг.5. Снимки от II^{-ия} етап на лабораторния експеримент А), Б) изглед на опитната установка с 20 л. съдове; вид на получения продукт В) свежо тегло и Г) изсушен продукт.

Като следващ етап от експеримента изградихме установка за отглеждане на *Spirulina* в 20 литрови съдове (Фиг. 5). Установихме оптималното време за нарастване.

В хода на експеримента установихме, че хранителните среди препоръчвани за отглеждане на *Spirulina platensis* в наръчници на ФАО (Jourdan, 2001), не са подходящи за отглеждане на щам *Arthrospira maxima* с който бяха проведени експериментите. Добри резултати дадоха средата *Spirul* и модифицираната среда на *Zarrouk* (Бояджиев и др., 2011). Втората е по-лесна за използване и е подходяща, както за лабораторно отглеждане така и за промишлено производство, тъй като може да се добавя и без автоклавиране.

Под 20° растежа на „Спирулина” е практически нулев, но тя не умира, докато над 38° загива. Оптималната температура е 30 - 35 градуса.

Не е добре осветеността да бъде с прекалено силен интензитет, защото в клетките на *Sp. maxima* може да протече процес на фотоллиза. Оптималната осветеност установена при лабораторния експеримент е около 5 до 10 хил. лукса. „Спирулина” е водорасло, което се нуждае от добро осветяване.

Относно устойчивостта на средата при опит за заразяване с протозои след няколко дни паразитните видове сами изчезнаха и не бе необходимо да се взимат допълнителни мерки. Предполага се, че високото рН не благоприятства развитието на други видове.

Изводи

1. Експериментът беше успешен, културата показва висока устойчивост към външни въздействия, бърза скорост на нарастване и потенциални възможности за успешно култивиране при промишлени условия.

2. Установено бе, че модифицираната хранителна среда на „Zarrouk” е по приложима в лабораторни условия. Добри резултати даде и хранителната среда „Spirul“, но при нея е необходимо автоклавиране.

3. Контролирането на рН на средата над 10,4 не позволява развитие на други водорасли или протозои. Това е практичен аргумент, защото при промишлени условия е трудно да се спазва абсолютна стерилност.

4. "Среда за подхранване": (от наръчника на ФАО, "Grow your own spirulina") не е подходяща за стартиране и дори за подхранване на този щам.

5. $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, също и KH_2PO_4 не са удачен вариант за фосфатни източници.

Литература

Бояджиев, Н., Л. Хаджиниколова, А. Зайков, Т. Хубенова, Д. Клисарева, Ст. Стойков, Е. Петрова - Павлова, Е. Узунова, Д. Герджиков, Р. Бекова, Д. Борисов, В. Пиралков, 2011. Наръчник на предприемача в Рибарството и Аквакултурата, Лесотехнически Университет, София, стр. 231.

Дилов, Х, 1985. Микроводорасли - масово култивиране и приложение, Изд. БАН, София.

Jourdan, J., 2001. Grow your own spirulina, 2003. Antenna technologies. http://www.antenna.ch/en/documents/Jourdan_UK.pdf. (23, November, 2013; last accessed)

Petrova, D., 2007. Cultivation and investigation of *Cyanophyta* –In: Proceeding of Union of Scientists-Varna, 2'2005/1'2006, 51-57

Tadros, M. G., 1988. Characterization of *Spirulina* Biomass for CELSS Diet Potential, (NASA - CR-185329), Alabama A & M University, October, p. 53.

За контакти:

доц. д-р Даниела Петрова, гл. ас. Димитър Герджиков
Институт по рибни ресурси, бул. Приморски 4, П.К.72
гр. Варна, България
e-mail: danibelbg@yahoo.com