

**ДЕЙСТВИЕ ЭЛЕКТРОМАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА НАКОПЛЕНИЕ БИОМАССЫ
МИКРОВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA SALINA* AR-1 В “ЗЕЛЕННОЙ” ФАЗЕ
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ****Баймурзаев Е.Н., Верушкина О.А., Тонких А.К.**

Институт микробиологии АНРУз. г.Ташкент, Узбекистан

<https://doi.org/10.5281/zenodo.10012250>

Аннотация. В работе исследовано действие различных электромагнитных полей (ЭМП) на развитие Аральского штамма микроводоросли *Dunaliella salina*. Показано, что наиболее эффективными являются импульсные электромагнитные поля низких частот 4, 10, 20 Гц. В экспериментах по культивированию *Dunaliella salina* на открытом воздухе показано, что непрерывная обработка культуральной среды импульсным ЭМП с частотой 4 Гц и магнитной индукцией около 500 нТл, ускоряет процессы развития этой микроводоросли приблизительно на 20%.

Ключевые слова: *Dunaliella salina*, низкочастотное импульсное электромагнитное поле, культивирования, биомасса

Annotatsiya. Ushbu tadqiqot ishda turli elektromagnit maydonlarning (EMM) *Dunaliella salina* mikrosuvo'ti Orol shtammining rivojlanishiga ta'siri o'rganilgan. 4, 10, 20 Gts past chastota impulsli elektromagnit maydonlar eng samarali ekanligi aniqlangan. *Dunaliella salina* mikrosuvo'tini ochiq havoda yetishtirish bo'yicha o'tkazilgan tajribalarda 4 Gts chastota impulsli EMM va 500 nTl atrofidagi magnit induksiyasi bilan kultural muhitga uzluksiz ishlov berish ushbu mikrosuvo'tining rivojlanishini o'rtacha 20% ga tezlashtirish mumkinligi aniqlandi.

Kalit so'zlari: *Dunaliella salina*, past chastotali impulsli elektromagnit maydon, yetishtirish, biomassa

Abstract. In this work, the effect of various electromagnetic fields (EMF) on the development of the Aral strain of microalgae *Dunaliella salina* was studied. It is shown that low-frequency pulsed electromagnetic fields of 4, 10, 20 Hz are the most effective. Experiments on the cultivation of *Dunaliella salina* in the off door showed that continuous treatment of the culture medium with a pulsed EMF with a frequency of 4 Hz and a magnetic induction of about 500 nTl accelerates the development of this microalgae by approximately 20%.

Keywords: *Dunaliella salina*, low frequency pulsed electromagnetic field, cultivation, biomass

Введение. В литературе имеется много данных о стимулирующем влиянии различных электромагнитных полей (ЭМП) на различные микроорганизмы [Hunt et al., 2009; Utsunomiya et al., 2003; Li et al., 2007], включая микроводоросли [Wang et al., 2008; Small et al., 2012; Deamicis et al., 2016]. В этих работах различные авторы использовали разные электромагнитные поля: постоянные электрические и постоянные магнитные поля разной интенсивности, переменные синусоидальные ЭМП разных частот (в основном промышленной частоты 50 или 50 Гц) и импульсные ЭМП с разными характеристиками. В частности, имеется одна работа, в которой показано, что постоянное магнитное поле интенсивностью 10-23 мТл увеличивает скорость размножения дуналиеллы на 90% [Yamaoka et al., 1992].

Возникает вопрос, как можно использовать поле постоянных магнитов или синусоидальных полей частотой 50 Гц, которые не распространяются дальше 10-15 см от источника, для стимуляции размножения микроводорослей на больших плантациях

объёмом несколько сотен кубических метров. Решением вопроса могло бы стать использование импульсных ЭМП, которые могут распространяться в водной среде на расстояние нескольких метров от антенны.

Целью настоящей работы явилось изучение возможности использования импульсных ЭМП для стимуляции размножения и развития микроводоросли *Dunaliella salina AR-1* при культивировании её на открытом воздухе.

Материалы и методы. Аральский штамм микроводоросли *Dunaliella salina AR-1* получен из коллекции микроорганизмов Института Микробиологии АН РУз.

Культивирование *Dunaliella salina AR-1* проводили в модифицированной среде Артари [4] с общей солёностью $225 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$ на водопроводной воде: $\text{NaCl} - 200 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$; $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O} - 50 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$; $\text{KNO}_3 - 2,5 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$; $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 0,2 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$; $\text{NaHCO}_3 - 1,0 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$; $1 \text{ мл}\cdot\text{л}^{-1}$ концентрированного раствора микроэлементов: $\text{H}_3\text{BO}_3 - 2,8 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$; $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O} - 1,8 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$; $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,2 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$; $\text{MoO}_3 - 0,02 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$; $\text{NH}_4\text{VO}_3 - 0,02 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$; $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O} -$ следы.

Лабораторное культивирование проводили в стаканах объёмом 1 л., а на открытом воздухе в композитных пластиковых лотках диаметром 2 м и высотой 0,5 м при перемешивании лопастными мешалками или за счёт барботирования воздухом, при толщине культуральной среды 30 см, при температуре в течение суток $20-42 \text{ }^\circ\text{C}$, барботировании избытком воздуха и солнечном освещении.

Концентрацию микроводорослей определяли тремя методами: 1 – микроскопическим, подсчитывая число клеток в камере Горяева ($10^6\cdot\text{мл}^{-1}$), 2 – весовым, взвешивая высушенные нитроцеллюлозные фильтры диаметром 5 см и размером пор 0,45 мкм до и после фильтрования через них 10 мл суспензии микроводорослей и 3 – оптическим, измеряя оптическую плотность суспензии на электрическом фотоколориметре KF-77 Zalimp (Польша). На основании этих трёх методов получали калибровочные графики зависимости оптической плотности от количества клеток в $10^6\cdot\text{мл}^{-1}$ и биомассы в $\text{г}\cdot\text{л}^{-1}$. В дальнейшем использовали наиболее быстрый и простой метод измерения оптической плотности.

В работе использовали микроскоп Leica IM с камерой Leica DFC-280 компании Leica Microsystems (Великобритания).

Источники электромагнитного поля: 1 - постоянный кольцевой ферритовый магнит диаметром 62 мм с магнитной индукцией 1-100 мТл; 2 – постоянный вращающийся с частотой 45 Гц магнит мешалки ММ-5, создающий магнитное поле с индукцией 0,1-1,0 мТл; 3- переменное синусоидальное ЭМП частотой 50 Гц и магнитной индукцией 0,1-1,0 мТл, создаваемое кольцом диаметром 30 см из 100 витков проволоки, подключённым к трансформатору 220/28 В; 4 – переменное импульсно-синусоидальное ЭМП частотой 50 Гц и магнитной индукцией 50–500 мкТл (подобное ЭМП используется во многих магнитотерапевтических аппаратах, например, Полус), создаваемое кольцом диаметром 30 см из 100 витков проволоки, подключённым через диод к трансформатору 220/28 В; 5 – импульсное ЭМП частотой следования импульсов 50 Гц, частотой заполнения импульсов 100 кГц и магнитной индукцией 1-10 мкТл, создаваемое антенной самодельного импульсного генератора.

Осциллограммы переменных ЭМП представлены на рис. 1.

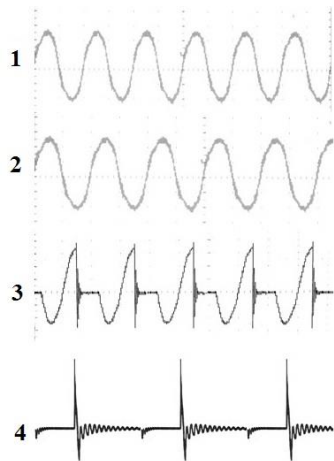


Рис. 1. Осциллограммы ЭМП, излучаемых:

- 1 – магнитной мешалкой,
- 2 – индуктором, подключённым к трансформатору 220/30 В,
- 3 – индуктором, подключённым через диод к трансформатору 220/30 В,
- 4 – импульсным генератором.

Частоту и форму электромагнитных импульсов измеряли с помощью цифрового осциллографа-мультиметра Siglent SHS 810, (Китай).

Интенсивность ЭМП измеряли переносным милигауссметром [UHS 2](#) Компании AlphaLab Inc (США).

Результаты и их обсуждение. Учитывая данные литературы о стимулирующем действии постоянного магнитного поля на размножение *Dunaliella salina* [Yamaoka et al., 1992], в первую очередь было исследовано сравнительное действие различных видов ЭМП на скорость роста микроводоросли дуналиеллы.

Для эксперимента брали в качестве инокулянта микроводоросли *Dunaliella salina* AR1 в среде Артари с концентрацией NaCl 200 г/л и помещали их в шесть стакан по 1 л. Начальная концентрация биомассы микроводорослей была 100 мг/л. Стаканы размещали на подоконники шести окон на южной стороне с одинаковым солнечным освещением в течение дня 5–50 кЛк. Стаканы располагались на расстоянии не менее 1 м друг от друга.

Каждому стакану на полке вставлено источники ЭМП: первая контрольная; На второй вставлен кольцевой ферритовый магнит диаметром 62 мм; на третий магнитная мешалка ММ-5; на четвёртый электромагнитный индуктор, который создавал синусоидальное ЭМП частотой 50 Гц; на пятый индуктор, который создавал синусоидально-импульсное ЭМП частотой 50 Гц; на шестой антенну генератора импульсов.

Концентрацию биомассы в стаканах измерили в начале эксперимента и в конце, через 5 дней инкубации. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Сравнительное действие различных видов ЭМП на увеличение биомассы микроводоросли *Dunaliella salina* AR-1.

| | Концентрация вначале, мг/л | Концентрация через 5 дней, мг/л | Концентрация через 5 дней, % |
|--|-------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|
| Контроль | 100 | 410±38 | 100% |
| Постоянный магнит 1 – 100 мТл. | 100 | 455±43 | 111% |
| Синусоидальное ЭМП магнитной мешалки 40 Гц, 100 - 1000 мкТл. | 100 | 475±42 | 116% |

| | | | |
|---|-----|--------|------|
| Синусоидальное ЭМП индуктора 50 Гц, 100 - 1000 мкТл. | 100 | 471±48 | 115% |
| Синусоидально-импульсное ЭМП индуктора 50 Гц, 50 – 500 мкТл | 100 | 504±55 | 123% |
| Импульсное ЭМП 50 Гц, 1 мкТл | 100 | 496±59 | 121% |

Примечание. Представлены средние значения из 3 экспериментов ± среднее квадратичное отклонение.

Как видно из таблицы все виды электромагнитных воздействий увеличивают концентрацию биомассы по сравнению с контролем обоих видов микроводорослей на 11-25%. Наиболее эффективным можно считать действие синусоидально-импульсного и импульсного ЭМП, так как они увеличивали прирост биомассы больше, чем другие ЭМП - на 20-25%.

Кроме того, магнитная индукция импульсного ЭМП была в 50-100 раз меньше, чем синусоидально-импульсного ЭМП. Учитывая то, что постоянные и синусоидальные ЭМП не распространяются далеко от источника ЭМП, а импульсные ЭМП могут распространяться в водной среде на несколько метров, этот эксперимент выявил неоспоримое преимущество импульсных ЭМП в действии на микроводоросли.

В литературе показано, что на активность различных микроорганизмов лучше всего действуют сверхнизкие частоты 1-100 Гц [Hunt et al., 2009]. Для выяснения вопроса, на каких частотах импульсное ЭМП стимулирует развитие дуналиеллы лучше всего было исследовано действие на дуналиеллу десяти частот в диапазоне 1-100 Гц.

Для этого инокулянт микроводоросли *Dunaliella salina* AR1 в среде Артари с концентрацией NaCl 200 г/л помещали в 5 стакан по 1 л. Начальная концентрация биомассы микроводорослей была 100 мг/л.

У нас имелось 4 генератора, поэтому эксперимент мы могли одновременно проводить на 4 различных частотах при 1 контрольном образце. Генераторы настраивали на разные частоты, при одинаковой амплитуде импульса, которую измеряли осциллоскопом.

Затем банки ставили за Солнце во дворе не ближе 1,5 м друг от друга и рядом с четырьмя банками располагали 4 генератора электромагнитных импульсов с антенной. Через 5 суток в каждый стакан измеряли концентрацию биомассы оптическим методом. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Сравнительное действие некоторых частот импульсного ЭМП на увеличение биомассы микроводоросли *Dunaliella salina* AR1

| | Исходная концентрация биомассы, мг/л | Концентрация биомассы через 5 дней, мг/л | Концентрация биомассы, % |
|----------|--------------------------------------|--|--------------------------|
| Контроль | 100 | 540± 50 | 100 |
| 4 Гц | 100 | 831 ± 95 | 154 |
| 10 Гц | 100 | 837 ± 90 | 155 |
| 20 Гц | 100 | 821 ± 92 | 152 |
| 30 Гц | 100 | 767 ± 88 | 142 |
| 40 Гц | 100 | 718± 83 | 133 |

| | | | |
|--------|-----|-----------|-----|
| 50 Гц | 100 | 686 ± 75 | 127 |
| 60 Гц | 100 | 675 ± 70 | 125 |
| 70 Гц | 100 | 642 ± 775 | 119 |
| 80 Гц | 100 | 621 ± 72 | 115 |
| 90 Гц | 100 | 615 ± 78 | 114 |
| 100 Гц | 100 | 599 ± 72 | 111 |

Примечание. Представлены средние значения из 3 экспериментов ± среднее квадратичное отклонение.

Как видно из таблицы, более низкие частоты дают большее увеличение биомассы, причём частоты 4, 10 и 20 Гц действовали примерно одинаково. Этот факт, возможно, объясняется гипотезами циклотронного резонанса действия низкочастотных ЭМП на живые организмы, согласно которым, циклотронные частоты основных, определяющих жизнедеятельность клетки, ионов (Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , аминокислот и т.д.) в гидратированном состоянии лежат в диапазоне 1 – 10 Гц.

Так как частоту 4 Гц удобно настраивать на слух и контролировать по радиоприёмнику, все дальнейшие эксперименты мы стали проводить на частоте 4 Гц.

Следующим этапом работы явилось изучение действия импульсного ЭМП на развитие микроводоросли *Dunaliella salina* AR1 на открытом воздухе.

Была использована зелёная стадия роста микроводоросли. В один из лотков с толщиной культуральной среды 30 см и концентрацией зелёной биомассы около $0,2 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ была опущена антенна (изолированный электрический провод длиной 1 м), на который подавали с генератора импульсы с частотой следования 4 Гц. Магнитная индукция в воде была не более 500 нТл. Другой лоток с такой же концентрацией биомассы оставался контрольным. Ежедневно в обоих лотках измеряли концентрацию биомассы.

Как видно из рисунка 2, в присутствии импульсного ЭМП максимальное накопление биомассы происходит примерно на 2 дня раньше, т.е. процесс развития ускоряется примерно на 20%.

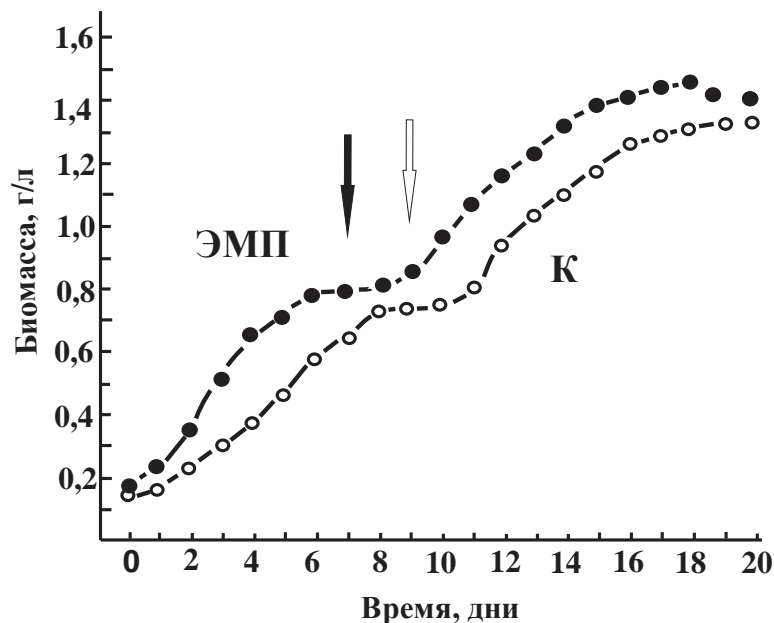


Рис. 2. Динамика изменения биомассы *Dunaliella salina* AR1 в среде Артари с концентрацией NaCl 200 $\text{г} \cdot \text{л}^{-1}$, в лотке с толщиной культуральной среды 30 см при освещении

30–50 клк ($540 - 400 \mu\text{Mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$) и барботировании воздухом в отсутствие и присутствие обработки импульсным ЭМП с частотой 4 Гц и магнитной индукцией около 500 нТл. Чёрной стрелкой показано добавление биогенных элементов в лоток обрабатываемый ЭМП, - белой в контрольный.

Таким образом, можно заключить, что непрерывная обработка слабым импульсным низкочастотным ЭМП ускоряет стадию фотосинтетического роста микроводоросли *Dunaliella salina* AR1 и стадию размножения приблизительно на 20%. В условиях промышленного производства на больших плантациях это может дать значительный экономический эффект.

Литература

1. Deamici K.M., Cardias B.B., Costa J.A.V. and Santos L.O. 2016. "Static magnetic fields in culture of *Chlorella fusca*: Bioeffects on growth and biomass composition," *Process Biochemistry*, p. 912–916
2. Hunt R.W., Zavalin A., Bhatnagar A., Chinnasamy S., Das K.C. 2009. Electromagnetic Biostimulation of Living Cultures for Biotechnology, Biofuel and Bioenergy Applications// *International Journal of Molecular Sciences*. V.10. P.4515-4558.
3. Li Z.Y., Guo S.Y., Lin L., Cai M.Y. 2007 Effects of electromagnetic field on the batch cultivation and nutritional composition of *Spirulina platensis* in an air-lift photobioreactor. // *Bioresour. Technol.* V.98; P. 700-705.
4. Small D.P., Hüner N.P. and Wan W. 2012. "Effect of Static Magnetic Fields on the Growth, Photosynthesis and Ultrastructure of *Chlorella kessleri* Microalgae," *Bioelectromagnetics*, P. 298-308
5. Utsunomiya T., Yamane Y.I., Watanabe M., Sasaki K. 2003. Stimulation of porphyrin production by application of an external magnetic field to a photosynthetic bacterium, *Rhodobacter sphaeroides*. // *J. Biosci. Bioeng.* V.95; P.401-404.
6. Wang H.Y., Zeng X.B., Guo S.Y., Li Z.T. 2008. Effects of magnetic field on the antioxidant defense system of recirculation-cultured *Chlorella vulgaris*. // *Bioelectromagnetics* V.29; P.39-46.
7. Yamaoka Y., Takimura O., Fuse H., Kamimura K. 1992. Effect of magnetism on growth of *Dunaliella salina*. // *Res. Photosynth.* V. 3; P.87-90.