

## УДК 582.232:519.876.5

Т.М. НОВИКОВА; А.Б. БОРОВКОВ, кандидат биологических наук Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАНУ, г. Севастополь

**УПРАВЛЕНИЕ ИНТЕНСИВНОЙ КУЛЬТУРОЙ *TETRASELMIS VIRIDIS* ПЛОТНОСТАТНЫМ МЕТОДОМ**

*Экспериментально определена динамика роста микроводоросли Tetraselmis viridis в плотностатном режиме культивирования. Установлена зависимость удельной скорости роста T. viridis от плотности культуры. Проведена апробация простейшей математической модели динамики плотности культуры микроводоросли для режима плотностата на примере T. viridis. Выявлена плотность культуры, которая обеспечивает максимальную удельную скорость роста исследуемой культуры микроводоросли.*

**Ключевые слова:** *Tetraselmis viridis*, плотностат, математическая модель, управление ростом.

**Введение**

Продукты из микроводорослей эффективно применяются в качестве кормовых добавок в животноводстве и марикультуре, широко используются в парфюмерии, медицине, пищевой промышленности [4, 10]. Водоросли служат источником растительного белка, витаминов, антиоксидантов, полиненасыщенных жирных кислот, препаратов бактерицидного действия, иммуностимулирующих соединений и других веществ. Известно, что на разных стадиях роста культуры биохимический состав клеток микроводорослей меняется. Знание данных закономерностей при интенсивном культивировании водорослей позволит получать максимальное содержание заданного биохимического компонента (белок, углеводы, липиды и т.д.) [2].

На сегодняшний день разработано несколько способов управления ростом культуры: накопительный, непрерывный, непропорционально-проточный, квазинепрерывный. Одним из наиболее редко применяемых, однако наиболее перспективным, является плотностатный метод, при котором плотность культуры (биомасса или число клеток) и, соответственно, световые условия в суспензии поддерживаются на заданном уровне [6]. Использование данного метода позволяет изучать влияние одного из факторов, стабилизируя влияние других, и одновременно обеспечивает высокие скорости роста водорослей. Вид *Tetraselmis viridis* широко известен как классический кормовой объект в аквакультуре и как перспективный источник полиненасыщенных жирных кислот в биотехнологии [3]. А внедрение в практику существующих теоретических разработок по управлению ростом культуры микроводорослей позволит получать культуры с заданными ростовыми и биохимическими характеристиками.

Цель работы: апробировать простейшую математическую модель для описания динамики плотности культуры *Tetraselmis viridis* в плотностатном режиме культивирования.

**Объекты и методы исследований**

В эксперименте использовалась альгологически чистая культура зеленой жгутиковой микроводоросли *Tetraselmis viridis* Rouch (syn. *Platimonas viridis*) – штамм IBSS-25 из коллекции Института биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАНУ.

Методами накопительных и квазинепрерывных культур [7, 8] водоросль *T. viridis* выращивалась на питательной среде Тренкеншу [5]. Для её приготовления использовали стерильную морскую воду. Предварительно культура, взятая из

коллекции, была адаптирована к экспериментальным условиям. Выращивали её в стеклянных культиваторах плоскопараллельного типа шириной 5 см и объемом 3000 мл [9]. Этот объем поддерживали на протяжении всего эксперимента, доливая перед измерениями дистиллированную воду до отметки 3 л. Эксперимент проводился на люминистате с лампами ЛБ-40, которые давали среднюю поверхностную освещенность для каждого из реакторов 15 кЛк. Температуру стабилизировали на уровне 28-30°C. В процессе выращивания культуру непрерывно барботировали газо-воздушной смесью с 3% по объему углекислого газа с помощью компрессорной установки.

Оптическую плотность при длине волны 750 нм использовали как косвенный показатель биомассы водорослей. Измерения проводили с помощью фотоэлектроколориметра КФК-2 в кювете 0,5 см. Переход от единиц оптической плотности ( $D_{750}$ ) к величине сухой массы (СВ – биомасса высушена при 105°C) осуществляли посредством эмпирического коэффициента  $k$ , равного 0,8 г·л<sup>-1</sup> ед. опт. пл<sup>-1</sup>; СВ =  $k \times D_{750}$  [1].

Удельная скорость роста микроводоросли рассчитана с помощью выражения: биомасса в начале лог-фазы  $t_{ln}$  [6].

$$\mu_m = \frac{\ln B - \ln B_{ln}}{t - t_{ln}}$$

Где  $B_{ln}$  – биомасса в начале лог-фазы  $t_{ln}$  [6].

### Результаты и обсуждение

На начальном этапе эксперимента микроводоросль *T. viridis* выращивали накопительным методом. В культиватор вносили инокулят и питательную среду в такой пропорции, чтобы начальная плотность культуры составила 0,1 г/л СВ (рис. 1).

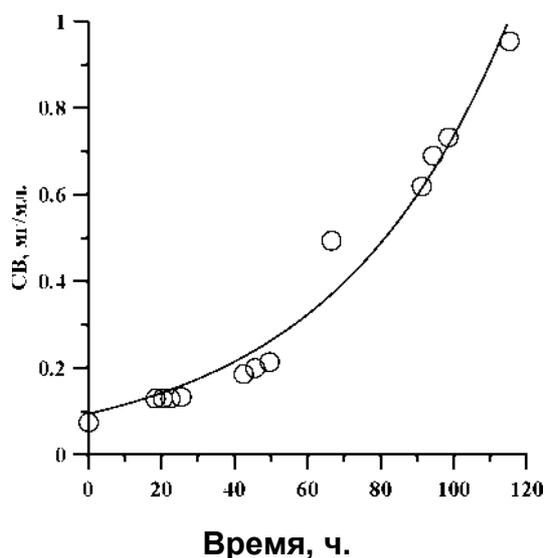


Рис.1. Динамика плотности накопительной культуры *T. viridis*

На пятые сутки, когда плотность культуры достигла 1 г/л, культура была переведена в непрерывный режим культивирования с рабочими плотностями от 0,4 до 1,0 г/л. Каждые 24 часа рассчитывали удельную скорость протока среды в зависимости от текущей скорости роста культуры *T. viridis*. Через 2-3 суток на каждом из этапов эксперимента плотность культуры стабилизировалась на заданном уровне.

Необходимо отметить хорошее теоретическое обоснование механизмов управления ростом микроводорослей в культуре, которое позволяет не только выявить зависимость характеристик роста от того или иного параметра внешней среды, но и формализовать закономерности с помощью относительно простых математических уравнений [7]. На сегодняшний день применяются следующие виды непрерывных культур микроводорослей: хемостат и турбидостат (плотностат). Одним из принципиальных, и, одновременно, очень важных отличий хемостата и турбидостата является возможность получения в турбидостате устойчивого экспоненциального роста клеток микроводорослей без лимитирования элементами минерального питания, что невозможно при хемостатном способе культивирования. То есть в турбидостате можно исследовать в чистом виде влияние главного фактора, определяющего рост микроводорослей, - световых условий, в которых растут клетки. Данный метод также полезен при изучении субстратзависимого роста, так как стабилизация плотности позволяет проводить исследования при неизменных световых условиях. Это дает возможность строго контролировать влияние на рост других факторов среды и выделить факторы, даже незначительно влияющие на рост, например, при оптимизации микроэлементного состава питательной среды для морских микроводорослей [8].

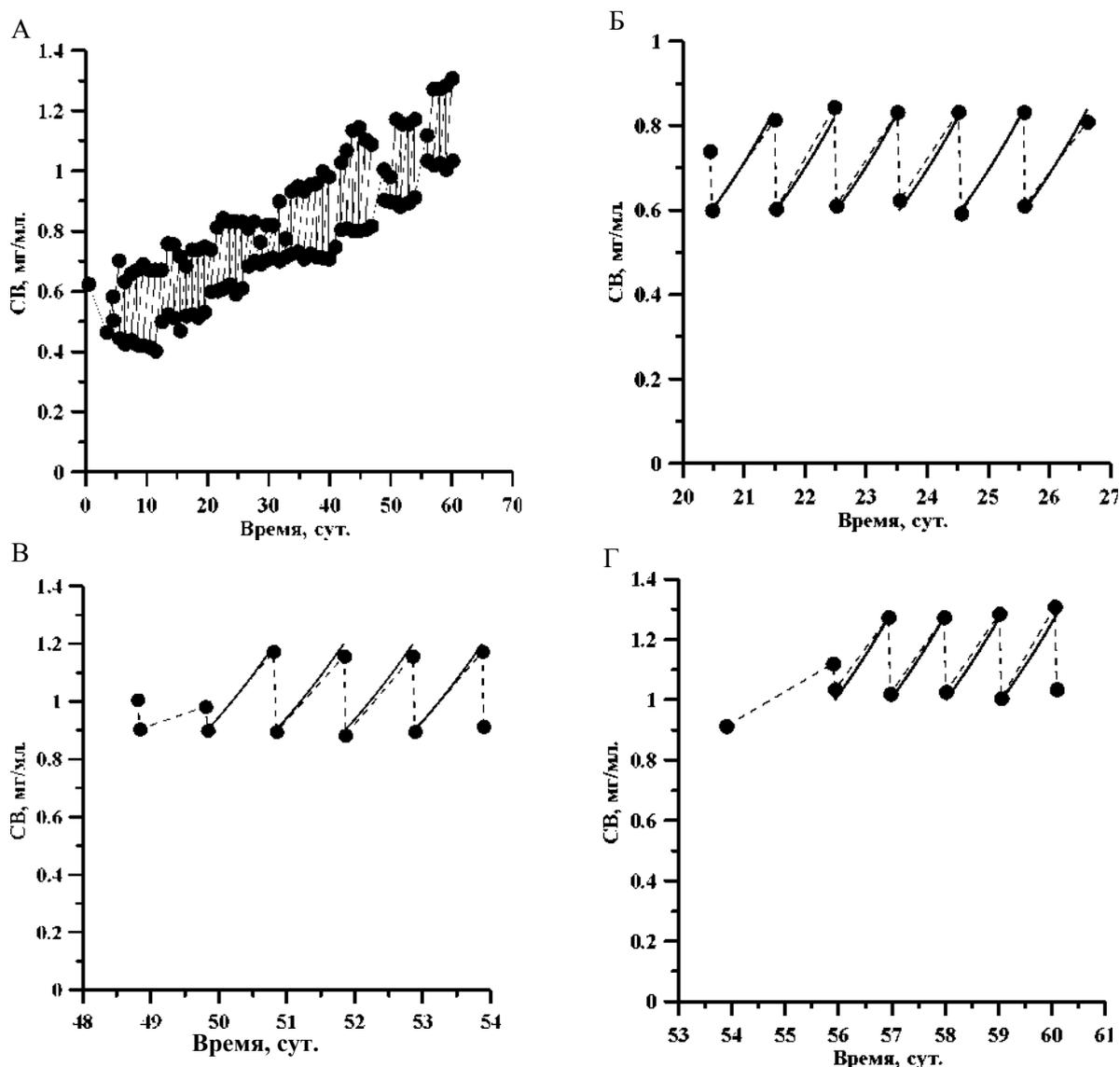


Рис. 2. Динамика роста *T. viridis* в плотностатном режиме культивирования.

**А – общая динамика с 1-х по 61-е сутки; стационарная плотность культуры: Б – 0,6 мг/мл, В – 0,9 мг/мл, Г – 1,0 мг/мл. Пунктирные линии и маркеры – экспериментальные данные, сплошные линии – расчет по уравнению модели [8]**

Для описания роста культуры использовали подход, предложенный Р.П. Тренкеншу [8]. Разработанная автором математическая модель позволяет прогнозировать динамику плотности культуры и эффективно управлять ростом *T. viridis*:

$$B = B_0 \exp^{\mu(t-t_0)},$$

где  $B_0$  - начальная биомасса клеток микроводорослей, мг/мл,  $\mu$  - удельная скорость роста культуры, сут<sup>-1</sup>.

На рисунке 2 показано, что модель хорошо описывает рост водоросли *T. viridis* и позволяет получать культуру с заданной плотностью. В эксперименте культуру стабилизировали на семи уровнях плотности: от 0,4 до 1,0 мг/мл. На рис. 2А показана динамика плотности культуры на протяжении всего эксперимента. Для наглядности более подробно приведены три этапа выращивания культуры тетраселмиса в плотностате. На этих графиках представлены экспериментальные и расчетные данные, которые имеют высокую сходимость.

Модель также позволяет рассчитать для режима плотностата удельные скорости роста культуры, которые характерны для каждой из заданных плотностей культуры.

В таблице 1 представлены рассчитанные удельные скорости роста культуры *T. viridis* в зависимости от заданной плотности культуры. Заметим, что с ростом плотности культуры, а, следовательно, и с понижением облученности клеток - удельная скорость роста микроводоросли снижается. Из многочисленных литературных источников известно, что величина удельной скорости в экспоненциальной фазе роста определяется, в основном, световыми условиями, которые для низких плотностей культуры неизменны [5, 8].

Сравнение удельных скоростей роста *T. viridis* относительно плотности культуры показывает, что при низких плотностях культур, когда её рост не ограничен минеральным обеспечением, удельная скорость роста максимальна; впоследствии при дальнейшем повышении плотности культуры удельные скорости роста снижаются, достигая минимальных значений при максимально возможной для данных условий плотности культуры (табл. 1).

Таблица 1

**Зависимость удельной скорости роста *T. viridis*  
от плотности культуры**

Дни эксперимента, сутки	СВ, мг/мл	$\mu_m$ сут <sup>-1</sup>
0-11	0,4 ± 0,01	0,52 ± 0,02
12-18	0,5 ± 0,02	0,41 ± 0,01
19-25	0,6 ± 0,01	0,36 ± 0,01
26-38	0,7 ± 0,02	0,34 ± 0,01
39-47	0,8 ± 0,02	0,32 ± 0,02
48-53	0,9 ± 0,01	0,28 ± 0,01
54-61	1,0 ± 0,03	0,24 ± 0,02

Таким образом, для получения культуры *T. viridis* с максимальными удельными скоростями роста плотность культуры должна находиться в пределах 0,4 г/л СВ или ниже, что соответствует логарифмической стадии роста (рис. 1).

#### Выводы

1. Апробация простейшей математической модели динамики плотности культуры микроводоросли для режима плотностата на примере *T. viridis* показала высокую эффективность описания ею динамики роста микроводорослей в непрерывном режиме культивирования.

2. При повышении плотности культуры *T. viridis* в плотностате удельные скорости роста микроводоросли снижаются.

3. Для получения культуры *T. viridis* с максимальными удельными скоростями роста плотность культуры должна находиться в пределах 0,4 г/л СВ или ниже, что соответствует логарифмической стадии роста.

4.

#### Список литературы

1. Боровков А. Б. Продуктивность *Spirulina platensis* и *Tetraselmis viridis* при использовании различных методов культивирования / А. Б. Боровков, Р. Г. Геворгиз // Экология моря. – 2005. – Вып. 70. – С. 9-13.

2. Ладыгина Л. В. Интенсивность роста и биохимический состав микроводоросли *Dunaliella viridis* Teod. в зависимости от условий культивирования / Л. В. Ладыгина // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 56-60.

3. Ладыгіна Л. В. Мікрроводорості як кормові об'єкти личинок мідій та устриць : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 03.00.17 «Гідробіологія» / Л. В. Ладыгіна. – Севастополь, 2007. – 24 с.

4. Тренкеншу Р. П. Одноклеточные водоросли: массовое культивирование и практическое использование / Р. П. Тренкеншу // Прикладная альгология. – 1999. – № 1-3. – С. 7-10.

5. Тренкеншу Р. П. Ростовые и фотоэнергетические характеристики

морских микроводорослей в плотной культуре: автореф. дисс. канд. биол. наук. : спец. 03.00.02 «Биофизика» / Р. П. Тренкеншу – Красноярск, 1984. – 28 с.

6. Тренкеншу Р. П. Культура микроводорослей как модельный объект в гидроэкологии / Р. П. Тренкеншу // Морской экологический журнал. – 2009. – Т. 8, Вып. 4. – С. 41-52.

7. Тренкеншу Р. П. Простейшие модели роста микроводорослей 1. Периодическая культура / Р. П. Тренкеншу // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 89-97.

8. Тренкеншу Р. П. Простейшие модели роста микроводорослей. 2. Квазинепрерывная культура / Р. П. Тренкеншу // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 98-110.

9. Тренкеншу Р. П. Унифицированная лабораторная установка для исследования низших фототрофов. / Р. П. Тренкеншу, А. Б. Боровков, А. С. Лелеков – Севастополь, ОЦ НАНУ, 2009. – 40 с. - (Препринт / НАН Украины, ОЦ НАНУ)

10. Zilberman D. Algalculture. / D. Zilberman, M. Caswell – Department of Agricultural and Resource Economics, University of California at Berkeley, 2000. – 100 p.

*Статья поступила в редакцию 16.05.2013 г.*

T.M. NOVIKOVA, A.B. BOROVKOV

A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas NASU, Sevastopol, Ukraine

#### **CONTROL OF THE *TETRASELMIS VIRIDIS* HIGH-DENSITY CULTURE USING THE TURBIDOSTAT METHOD**

The approbation of the simplest mathematical model of the dynamics of microalgae culture density for turbidostat regime was carried out for example of *Tetraselmis viridis*. The high efficiency of the proposed model describing the dynamics of algae growth was defined in a continuous regime of cultivation. It was shown experimentally that to get culture *T. viridis* with a maximum specific growth rate the culture density must be within  $0.4 \text{ g N} \cdot \text{l}^{-1}$  or less, that corresponds to the exponential growth phase.

T.M. НОВІКОВА, А.Б. БОРОВКОВ

Інститут біології південних морів ім. О.О. Ковалевського НАНУ, м. Севастополь, Україна

#### **УПРАВЛІННЯ ІНТЕНСИВНОЮ КУЛЬТУРОЮ *TETRASELMIS VIRIDIS* ПЛТНОСТАТНИМ МЕТОДОМ**

Апробація найпростішої математичної моделі динаміки щільності культури микроводорості для режиму плтностата на прикладі *Tetraselmis viridis* показала високу ефективність опису нею динаміки росту микроводорості в безперервному режимі культивування. Експериментально показано, що для отримання культури *T. viridis* з максимальними питомими швидкостями росту щільність культури повинна перебувати в межах  $0,4 \text{ г СВ-л}^{-1}$  або нижче, що відповідає логарифмічній стадії росту.

Т.М. НОВИКОВА, А.Б. БОРОВКОВ

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАНУ, г. Севастополь,  
Украина

### **УПРАВЛЕНИЕ ИНТЕНСИВНОЙ КУЛЬТУРОЙ *TETRASELMIS VIRIDIS* ПЛОТНОСТАТНЫМ МЕТОДОМ**

Апробация простейшей математической модели динамики плотности культуры микроводоросли для режима плотностата на примере *T. viridis* показала высокую эффективность описания ею динамики роста микроводорослей в непрерывном режиме культивирования. Экспериментально показано, что для получения культуры *T. viridis* с максимальными удельными скоростями роста плотность культуры должна находиться в пределах  $0,4 \text{ г СВ-л}^{-1}$  или ниже, что соответствует логарифмической стадии роста.