

УДК 579:582.26/.27:581.57

А.С. ЛЕЛЕКОВ, кандидат биологических наук; Р.Г. ГЕВОРГИЗ, кандидат биологических наук

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

ДИНАМИКА ПЛОТНОСТИ КУЛЬТУРЫ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В СТАЦИОНАРНОЙ ФАЗЕ РОСТА

Экспериментальное исследование динамики плотности накопительной культуры микроводорослей показало, что в стационарной фазе роста возможны колебания плотности. Остается невыясненным вопрос о природе подобных процессов, являются ли периодические изменения плотности вынужденными или автоколебаниями. Показано, что при моделировании данного явления необходимо учитывать параметры роста, отражающие организацию узкого места метаболизма клетки.

Ключевые слова: микроводоросли, накопительная культура, стационарная фаза

Введение

Стационарная фаза роста накопительной культуры микроводорослей мало изучена, поскольку для биотехнологии не представляет интерес с точки зрения реализации максимальных продуктивностей. В стационарной фазе наблюдаемая продуктивность равна нулю, при этом клетки микроводорослей способны накапливать ценные биологически активные вещества: углеводы, липиды, экзометаболиты и т.д. [8]. При промышленном культивировании микроводорослей в условиях естественного освещения необходима реализация максимальных скоростей роста. На практике не всегда возможно обеспечить оптимальные условия, вследствие чего культура переходит в стационарную фазу роста. Для максимизации скоростей роста и биосинтеза в альгобиотехнологии применяют квазинепрерывный метод культивирования [6]. Однако даже в этих условиях культура может переходить в стационарную фазу роста между двумя последовательными процедурами обмена среды.

Цель данной работы – исследование динамики плотности культуры микроводорослей в стационарной фазе роста.

Объекты и методы исследования

Нами проведено исследование роста культур микроводорослей, полученных из коллекции Л. А. Ланской (ИнБЮМ, г. Севастополь), в стационарной фазе. В первом эксперименте *Phaeodactylum tricornutum* Bohl. выращивали в накопительном режиме в лабораторной установке [7] на среде Тренкеншу [5] в условиях круглосуточного освещения: средняя освещённость поверхности фотореактора составляла 17 кЛк, температура – $17 \pm 2^\circ\text{C}$. Во втором эксперименте культуру *Arthrospira (Spirulina) platensis* Geitl. выращивали на среде Заррук [9], средняя освещённость поверхности фотореактора составляла 7,6 кЛк, температура – $25 \pm 2^\circ\text{C}$. В экспериментах фиксировали следующие параметры: температуру, рН культуральной среды и плотность суспензии. рН измеряли с помощью иономера И-160, плотность культуры определяли оптическим методом [3], измеряя величину ослабления светового потока и рассчитывая по формуле: $B = k \cdot D = k \cdot (-I_g(TJ))$, где T – величина ослабления, определяемая на КФК-2 на длине волны 750 нм.

Результаты и обсуждение

На рисунке 1 представлена накопительная кривая роста [Ph. tricornutum](#) и динамика

pH культуральной среды. Стационарная фаза роста характеризовалась постоянством плотности с небольшими отклонениями от среднего значения в пределах ошибки измерения.

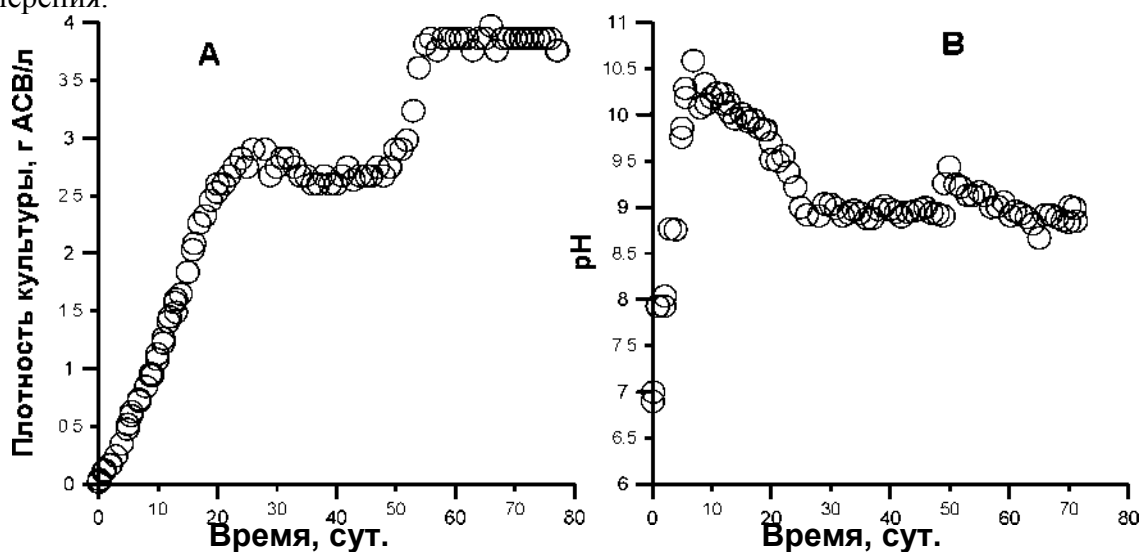


Рис. 1. Динамика плотности накопительной культуры *Ph. tricorutum*. (А) и pH культуральной среды (В)

Обычно при переходе культуры в стационарную фазу роста в качестве лимитирующего фактора выступает концентрация биогенных элементов в питательной среде. Для плотных культур в качестве лимитирующего субстрата может выступать энергетический световой поток. Находясь в стационарной фазе роста (рис. 1 А), культура была лимитирована именно светом, поскольку при увеличении облучённости клеток на пятидесятые сутки биомасса перешла на новый стационарный уровень. Неизменность плотности культуры в стационарной фазе роста подтверждается неизменностью значений pH культуральной среды (рис. 1 В). Представленные экспериментальные результаты (рис. 1) являются классическим примером наличия продолжительной стационарной фазы роста у накопительной культуры микроводорослей.

Для многих видов микроводорослей величина биомассы при достижении значений, близких к максимальному, может изменяться в широком диапазоне. Например, на рисунке 2 приведена накопительная кривая и динамика pH при культивировании *A. platensis*.

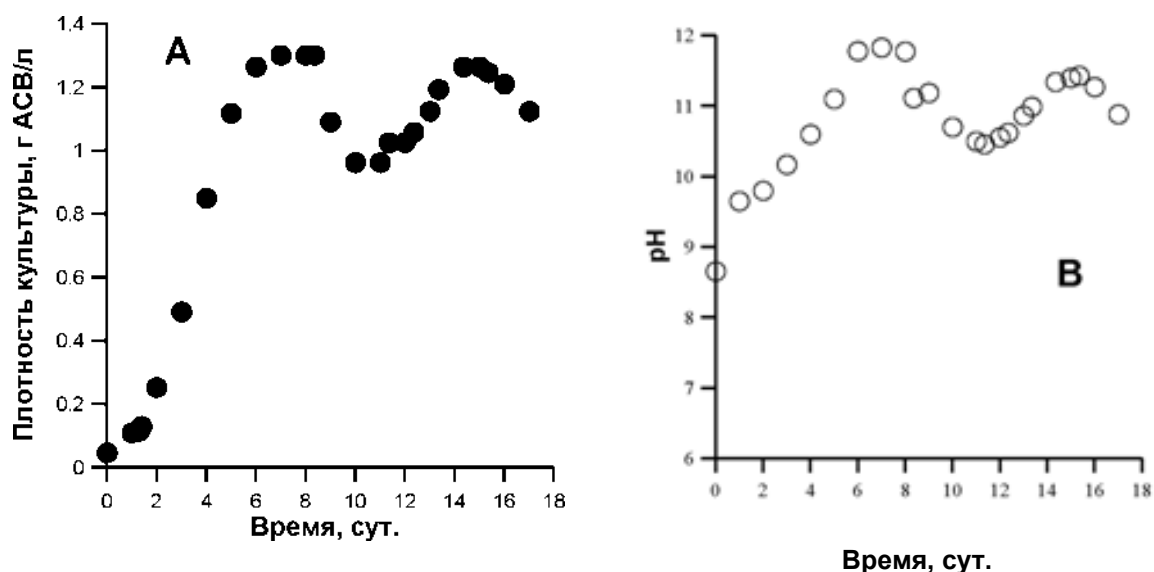


Рис. 2. Динамика плотности накопительной культуры *A. platensis* (А) и pH культуральной среды (В)

Стационарная фаза роста была непродолжительной. На 8 сутки отмечалось статистически достоверное снижение плотности культуры с последующим восстановлением до первоначального значения, т. е. наблюдались колебания плотности и pH среды (рис. 2). При достижении максимальной плотности величина pH среды достигла 12 единиц. Известно, что при таких значения pH в среде практически отсутствуют доступные для ассимиляции клетками гидрокарбонат-ионы [1]. Т. е., по сути, скорость биосинтеза была лимитирована наличием доступных источников углерода в среде. В отличие от эксперимента с *Ph. tricornutum* в условиях данного эксперимента отсутствовал внешний приток углерода в форме углекислого газа. Следовательно, по углероду система культивирования *A. platensis* являлась закрытой [2]. Сравнивая рисунок 2 А и 2 В, можно сделать заключение о синфазности колебаний плотности культуры и величины pH. Таким образом, периодическое изменение pH свидетельствует о наличии колебаний плотности культуры. Экспериментально показано (рис. 3), что колебания плотности являются затухающими и могут быть достаточно продолжительными.

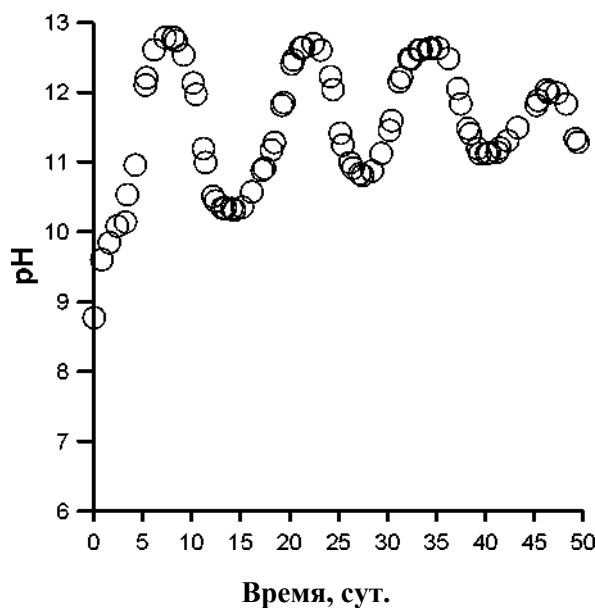


Рис. 3. Динамика pH среды накопительной культуры *A. platensis*

В биологии известны примеры колебаний различных систем: на популяционном уровне классическим примером является модель «хищник-жертва»; на клеточном уровне введено понятие инерционности биосинтеза, посредством которого объясняются колебания плотности микроорганизмов в хемостате [4]; на молекулярном уровне описаны периодические процессы изменения концентрации веществ в клетках в циклах Кальвина, Кребса и пр. Однако объяснение механизмов и математическое описание колебательных процессов в плотных культурах микроводорослей в литературе не встречается. Возможно, это связано с тем, что использование разработанного в прошлом веке понятийного аппарата субстратзависимого роста не позволяет достаточно точно описать динамику роста в накопительной культуре. Опираясь на понятия: биомасса (B), концентрация лимитирующего субстрата (S), потребность (Y_s), удельная скорость дыхания (μ_r), динамику роста в закрытой системе можно описать системой дифференциальных уравнений [2]:

$$\begin{cases} \frac{dB}{dt} = k_s \cdot S - \mu_R \cdot B \\ \frac{dS}{dt} = -Y_s \cdot k_s \cdot S + \alpha \cdot Y_s \cdot \mu_R \cdot B \end{cases}$$

где α - коэффициент возврата субстрата из распавшейся биомассы.

Данная система сводится к дифференциальному уравнению второго порядка, корни характеристического уравнения которого равны:

$$\lambda_{1,2} = -\frac{\mu_R + Y_s \cdot k_s}{2} \pm \sqrt{\frac{(\mu_R - Y_s \cdot k_s)^2 + 4 \cdot \alpha \cdot Y_s \cdot k_s \cdot \mu_R}{4}}$$

Подкоренное выражение положительно всегда, поэтому корни - действительные, следовательно, конечное решение не может быть выражено с помощью периодических функций. Таким образом, система (1) не описывает колебательные процессы в плотных культурах микроводорослей, но позволяет объяснить продолжительную стационарную фазу роста.

Выводы

Экспериментальное исследование динамики плотности культур микроводорослей показало, что в стационарной фазе роста возможны колебания плотности. Остается невыясненным вопрос о природе подобных процессов, являются ли периодические изменения плотности вынужденными или автоколебаниями. Опираясь на понятийный аппарат, который приводит к системе (1), можно утверждать, что для закрытой системы колебания плотности культуры микроводорослей в стационарной фазе роста невозможны, что противоречит полученным экспериментальным результатам. Таким образом, для построения математической модели, которая позволит описать колебательные процессы, необходимо введение дополнительных параметров, учитывающих организацию «узкого места метаболизма» и структуру клетки.

Список литературы

1. Бородина А. В. Углеродный баланс в культуре цианобактерии *Spirulina platensis* при выращивании на различных источниках углерода / А. В. Бородина // Экология моря. – 2003. – Вып. 64. – С. 78-81.
2. Геворгиз Р. Г. Моделирование динамики роста популяции микроорганизмов в накопительной культуре. Закрытая система / Р. Г. Геворгиз, А. С. Лелеков, О. Н. Король // Морской экологический журнал. – 2013.
3. Геворгиз Р. Г. Оценка биомассы *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. по оптической плотности культуры / Р. Г. Геворгиз, А. В. Алисиевич, М. Г. Шматок // Экология моря. – 2005. – Вып. 70. – С. 96-106.
4. Колебательные процессы в биохимических и химических системах. – М.: Наука, 1967. – 440 с.
5. Тренкеншу Р. П. Влияние элементов микроэлементного питания на продуктивность водоросли *Platymonas viridis* Rouch / Р. П. Тренкеншу, В. Н. Белянин. // Биология моря. – 1979. – № 51. – С. 41-46.
6. Тренкеншу Р. П. Простейшие модели роста микроводорослей. 2. Квазинепрерывная культура / Р. П. Тренкеншу // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С.98-110.
7. Тренкеншу Р. П. Унифицированная лабораторная установка для исследования низших фототрофов: препринт ОЦ НАНУ / Р. П. Тренкеншу, А. Б. Боровков, А. С. Лелеков. – Севастополь, 2009. – 40 с.
8. Biochemical composition of three algal species proposed as food for captive freshwater mussels / C. M. Gatenby, D. M. Orcutt, D. A. Kreeger et al. // J. Appl. Phycol. – 2003. – Vol. 15. – P. 1-11.
9. Zarrouk C. Contribution a l'etude d'une cyanophycee. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de *Spirulina maxima* (Setch et Gardner) Geitler: Ph D thesis / C. Zarrouk. – Paris, 1966. – 114 p.

Статья поступила в редакцию 16.05.2013 г.

A.S. LELEKOV, *Ph.D. in Biology*; R.G. GEVORHIZ, *Ph.D. in Biology*
[Institute of Biology of the Southern Seas by A. O. Kovalevsky](#), the National Academy of Sciences of Ukraine, Sevastopol, Ukraine

DYNAMICS OF ALGAL CULTURE'S DENSITY IN THE STATIONARY GROWTH PHASE

Researches of algal culture density's dynamic have shown that the biomass oscillations in the stationary growth phase are possible. It remains unclear the nature of such processes, whether

periodic changes of cell density forced or self-excited oscillations. It has been shown that for modeling of this phenomenon is necessary to take into account the growth parameters, reflecting the organization of cell «metabolism bottleneck».

О.С. ЛЕЛЕКОВ, *кандидат біологічних наук*; Р.Г. ГЕВОРГІЗ, *кандидат біологічних наук*
Інститут біології південних морів ім. О. О. Ковалевського НАНУ, м. Севастополь, Україна

ДИНАМІКА ЩІЛЬНОСТІ КУЛЬТУРИ МІКРОВОДОРОСТЕЙ У СТАЦІОНАРНІЙ ФАЗІ РОСТУ

Дослідження динаміки щільності накопичувальної культури мікроводоростей показало, що в стаціонарній фазі росту можливі коливання величини біомаси. Залишається нез'ясованим питання про природу подібних процесів, чи є періодичні зміни щільності вимушеними або автоколиваннями. Показано, що для моделювання даного явища необхідно враховувати параметри росту, що відображають організацію «вузького місця метаболізму» клітини.

А.С. ЛЕЛЕКОВ, *кандидат биологических наук*; Р.Г. ГЕВОРГИЗ, *кандидат биологических наук*

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

ДИНАМИКА ПЛОТНОСТИ КУЛЬТУРЫ МИКРОВОДОРΟΣЛЕЙ В СТАЦИОНАРНОЙ ФАЗЕ РОСТА

Исследование динамики плотности накопительной культуры микроводорослей показало, что в стационарной фазе роста возможны колебания плотности. Остается невыясненным вопрос о природе подобных процессов, являются ли периодические изменения плотности вынужденными или автоколебаниями. Показано, что для моделирования данного явления необходимо учитывать параметры роста, отражающие организацию «узкого места метаболизма» клетки.