

УДК 581.14

ВЛИЯНИЕ ВОЗРАСТНОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ И ПРОДУКТИВНОСТЬ КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Л. Н. ЦОГЛИН, В. А. БАКУЛИН

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева Академии наук СССР, Москва

Благодаря ряду преимуществ микроводоросли находят широкое применение в качестве модели при изучении проблем биофизики и физиологии растений. Исследователи, однако, часто не учитывают неоднородность возрастного состава популяций. Принимая во внимание резкие изменения функциональных характеристик клетки в процессе онтогенеза, можно утверждать, что структура популяций оказывает значительное влияние на физиологические параметры культур и результаты измерений. Это существенно осложняет сопоставление и интерпретацию данных, полученных в разных экспериментах. Зависимость величины фотосинтеза от возрастной структуры популяций позволяет ставить важную практическую задачу повышения продуктивности культур посредством формирования оптимального возрастного распределения клеток. Проведенные расчеты показывают возможность повышения фотосинтетической продуктивности культур микроводорослей при управлении их возрастным составом в 1,4—1,6 раза без нарушения непрерывности процесса выращивания. В работе получены соотношения, позволяющие определить степень эффективности применения управления (K_e) и показано, что величина K_e зависит от отношения длительностей световой и светонезависимой стадий развития микроводорослей в заданных условиях культивирования.

Исследование фотосинтеза, метаболизма, регуляторных механизмов, роста и развития высших растений осложнено функциональной и возрастной гетерогенностью клеток в органах и тканях растений. Эти трудности сохраняются и при работе с культурами клеток, поскольку получение даже относительно невысокой степени синхронизации представляет собой серьезную проблему.

Микроводоросли благодаря целому ряду преимуществ (одноклеточное строение, высокие скорости роста и размножения, малая длительность онтогенеза, простота выращивания и обработки материала и относительная простота получения синхронных культур) приобретают все большую популярность и все шире используются в качестве модели при изучении ряда проблем биофизики и физиологии растений.

Однако культуры микроводорослей также не отличаются однородностью состава, а имеют сложную возрастную структуру, влияние которой на результаты исследований часто не учитывается при их экспериментальном изучении, математическом моделировании физиологических процессов в популяциях, а также при расчетах и построении биолого-технических систем, включающих в себя микроводоросли. Структурные особенности культур, зависимость возрастного распределения от условий выращивания и сложные популяционные явления, возникающие в ответ на внешние воздействия, способны явиться причиной разброса данных, полученных с применением микроводорослей.

Возрастная структура клеточных популяций обладает высокой подвижностью и зависит от характера размножения клеток, от метода куль-

тивирования, от параметров внешней среды и других факторов [1—5]. У культур, размножающихся посредством равноценного деления (к каковому относится и большинство микроводорослей), в установившемся режиме возрастное распределение клеток в популяции носит экспоненциальный характер с максимумом, соответствующим автоспорам [6, 7]. Параметр экспоненциальности зависит от удельной скорости роста, которая для каждого конкретного штамма целиком определяется условиями культивирования. Изменение внешних условий выращивания влечет за собой перестройку структуры популяции, выражающуюся в изменении относительной численности групп клеток, находящихся в разных возрастных состояниях. Резкие изменения функциональных характеристик клеток микроводорослей в процессе онтогенеза [8—13] приводят к тому, что перестройка структуры популяций в значительной степени отражается на физиологических параметрах культур в целом [14].

Влияние возрастного состава на параметры культур можно проиллюстрировать простым примером.

Предположим, что ростовые характеристики культуры имеют следующие значения: коэффициент удельного размножения $\mu = 0,24 \text{ ч}^{-1}$, длительность жизненного цикла $T = 11 \text{ ч}$, длительность световой стадии развития $T_c = 7 \text{ ч}$ (данные соответствуют росту *Chlorella sp. K.* при высокой интенсивности света). В установившемся режиме выращивания на светонезависимой стадии развития (в возрастном интервале от T_c до T) будет находиться часть клеток, относительное количество которых можно определить из соотношения [7]:

$$n_{T_c-T} = \frac{e^{\mu T} - e^{\mu T_c}}{e^{\mu T_c} (e^{\mu T} - 1)}, \quad (1)$$

где e — основание натурального логарифма.

Через 4 ч, т. е. через время, равное длительности светонезависимой стадии развития, эти клетки в пробе разделятся и образуют автоспоры, число которых будет равно

$$n_0 = \frac{e^{\mu T} - e^{\mu T_c}}{e^{\mu T_c}}. \quad (2)$$

В выбранном нами примере образуется 1,62 N автоспор (N — численность популяции в момент взятия пробы). Общая численность клеток в пробе увеличится в 2,62 раза и, что самое важное, произойдет качественное изменение культуры. В результате величины фотосинтеза в расчете на клетку и на единицу хлорофилла при измерениях сразу после взятия пробы и после 4-часового периода пребывания суспензии вне культиватора будут существенно различны.

Подобные же расхождения могут возникать в случае взятия проб на разных стадиях роста культур при накопительном режиме выращивания или при взятии проб одной и той же культуры, выращиваемой в разных условиях.

В меньшей степени структура популяций и изменение величины фотосинтеза в зависимости от возраста клетки оказывают воздействие на параметры культур. Возникает чисто практическая задача повышения фотосинтетической продуктивности микроводорослей посредством управления возрастным составом. Важность постановки такой задачи определяется перспективностью применения микроводорослей в фармацевтической промышленности, для нужд сельского хозяйства, для производства витаминов, меченых соединений, ряда ценных метаболитов и в биологических системах жизнеобеспечения.

При проточном культивировании в популяции всегда находятся клетки с разной степенью фотосинтетической активности. Для повышения

продуктивности культур относительная численность малоактивных клеток должна быть уменьшена и за счет этого при постоянной концентрации биомассы в культиваторе может быть увеличена доля клеток, обладающих максимальной фотосинтетической активностью. При этом необходимо выполнение важного для массового культивирования условия непрерывности процесса.

Рассмотрим, какова должна быть оптимальная возрастная структура популяции, обеспечивающая условие непрерывности.

В установившемся режиме выращивания возрастное распределение клеток имеет вид, представленный на рис. 1, а относительная численность клеток в разных возрастных состояниях описывается соотношением

$$n(\tau) = \frac{N_0 e^{-\mu\tau}}{\int_0^T N_0 e^{-\mu\tau} d\tau} = \frac{\mu e^{-\mu\tau}}{1 - e^{-\mu T}}, \quad (3)$$

где τ — возрастной параметр, $n(\tau)$ — функция изменения численности клеток по возрастам, N_0 — численность автоспор.

Проток выносит из культиватора клетки разных возрастов пропорционально их относительной численности в культуре. По мере увеличения возраста уменьшается число выносимых в урожай клеток. В результате при непрерывном культивировании обеспечивается постоянство во времени числа делящихся клеток и постоянство численности всей популяции.

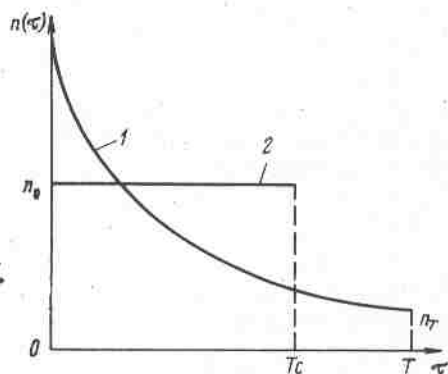


Рис. 1

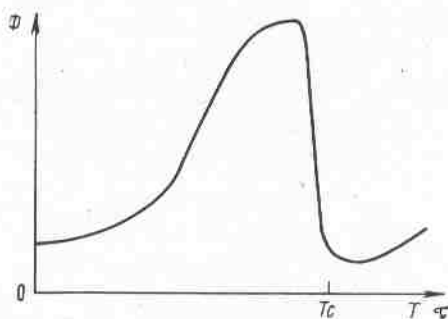


Рис. 2

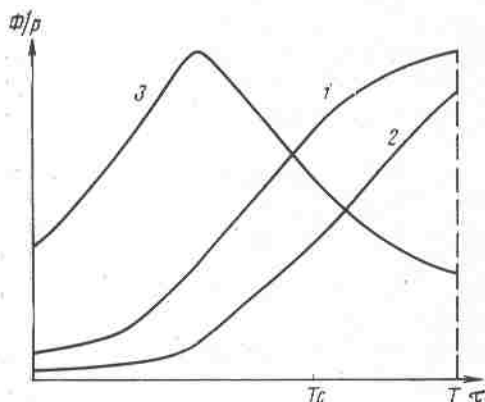


Рис. 3

Рис. 1. Возрастное распределение клеток культур микроводорослей в установившемся режиме при проточном выращивании

1 — без управления возрастным составом, 2 — при формировании оптимальной возрастной структуры

Рис. 2. Динамика фотосинтеза клетки *Chlorella pyrenoidosa* (по [8])

Рис. 3. Изменение функциональных характеристик клетки *Chlorella* sp. К в процессе онтогенеза

1 — динамика фотосинтеза клетки, 2 — рост сухой биомассы клетки, 3 — значение фотосинтеза в расчете на единицу сухой биомассы клетки

Если же в урожай отбирать лишь клетки, находящиеся на светонезависимой стадии развития, то популяция будет иметь равновероятную возрастную структуру, а возрастным интервал сузится до значения $\tau = T_c$ (рис. 1). Такая селекция может быть легко осуществлена, например, непрерывным сепарированием суспензии, поскольку клетки на светонезависимой стадии развития имеют несколько большую удельную плотность, чем все остальные. Для поддержания непрерывности процесса в культиватор необходимо возвращать часть биомассы в виде автоспор, число которых определяется значением n_0 (рис. 1).

Степень влияния структуры популяций на параметры культур и возможность повышения их продуктивности зависят от динамики изменений основных функциональных характеристик клетки в онтогенезе. По этим вопросам, несмотря на многочисленность исследований, в научной литературе нет единого мнения даже для одних и тех же форм водорослей. Общим для всех изучавшихся форм является то, что фотосинтетическая активность единицы биомассы не остается постоянной на протяжении всего цикла развития, а меняется в широких пределах. Отсюда следует, что для всех этих форм существует возможность повышения продуктивности при оптимальном формировании возрастного состава.

Наиболее достоверные данные о динамике изменений функциональных параметров клетки по циклу развития приводятся в работе [8] для штамма *Chlorella rupeoidosa* (рис. 2). Аналогичный характер носит изменение фотосинтеза у *Scenedesmus quadricauda* и у некоторых других культур [9—13]. На световой стадии развития величина фотосинтеза клетки этих форм растет по закону, близкому к экспоненциальному (т. е. сохраняется постоянной активность единицы биомассы), а на светонезависимой стадии происходит почти полное выключение фотосинтеза. Однако у *Chlorella* sp. К., по нашим данным, изменение активности единицы биомассы клетки носит иной характер с ярко выраженным максимумом в первой половине цикла (рис. 3)¹.

Данные, приведенные на рис. 1—3, достаточны для расчета продуктивности культур при управлении возрастной структурой популяций. В более простом случае, представленном на рис. 2, динамика фотосинтеза и рост клетки могут быть выражены в виде зависимостей от параметров онтогенеза и могут быть получены соотношения, пригодные для любых условий культивирования.

С некоторым приближением [7] примем

$$\begin{aligned} P(\tau), \Phi(\tau) &= e^{\frac{\tau}{T_c} - \mu\tau} & 0 \leq \tau \leq T_c & \quad \Phi_0 = 1 \\ \Phi(\tau) &= 0 & T_c < \tau \leq T & \quad P_0 = 1 \\ P(\tau) &= P_{T_c} & T_c < \tau \leq T & \end{aligned} \quad (4)$$

Здесь введены следующие обозначения: $\Phi(\tau)$ и $P(\tau)$ — функции величины фотосинтеза и массы клетки в зависимости от возраста, Φ_0 и P_0 — величина фотосинтеза и вес автоспоры (в расчете приняты равными 1), P_{T_c} — вес клетки в конце световой стадии развития.

Значение фотосинтеза популяции при культивировании без управления возрастной структурой равно:

$$\Phi_n = \int_0^{T_c} n(\tau) \Phi(\tau) d\tau = \frac{T}{T - T_c} \frac{e^{\mu T} (e^{\mu(T - T_c)} - 1)}{e^{\mu T} - 1} \quad (5)$$

¹ Исследования проводили на синхронной культуре с непрерывной записью газообмена по кислороду на протяжении всего клеточного цикла. Степень синхронности в экспериментах колебалась от 0,94 до 0,97 по Энгельбергу [15]. Интенсивность света составляла $60 \cdot 10^3$, $200 \cdot 10^3$ и $350 \cdot 10^3$ эрг·см⁻²·с⁻¹. На рис. 3 представлены кривые, соответствующие интенсивности света, равной $350 \cdot 10^3$ эрг·см⁻²·с⁻¹.

Количество биомассы в культиваторе можно найти из аналогичного соотношения

$$P_n = \int_0^T n(\tau) P(\tau) d\tau = \int_0^{T_c} n(\tau) P(\tau) d\tau + \int_{T_c}^T n(\tau) P_{T_c} d\tau = \frac{T}{T-T_c} \frac{e^{\mu T} (e^{\mu(T-T_c)} - 1)}{e^{\mu T} - 1} \quad (6)$$

При оптимальной возрастной структуре суммарная биомасса клеток в культиваторе равна

$$P_{n(y)} = n_{(y)} \int_0^{T_c} P(\tau) d\tau = n_{(y)} \frac{T_c}{T\mu} (e^{\mu T} - 1), \quad (7)$$

где $n_{(y)} = n_v(\tau) = \text{const}$, $0 \leq \tau \leq T_c$.

Примем, что в режиме выращивания с управлением возрастным составом в культиваторе сохраняется такое же количество биомассы, как и при обычном проточном методе. Тогда, из равенства $P_{n(y)} = P_n$ находим $n_{(y)}$:

$$n_{(y)} = \frac{T^2 \mu e^{\mu T} (e^{\mu(T-T_c)} - 1)}{T_c (T - T_c) (e^{\mu T} - 1)^2} \quad (8)$$

Значение фотосинтеза культуры при оптимальной возрастной структуре популяции равно

$$\Phi_{n(y)} = \int_0^{T_c} n_{(y)} \Phi(\tau) d\tau = \frac{T}{T-T_c} \frac{e^{\mu T} (e^{\mu(T-T_c)} - 1)}{e^{\mu T} - 1} \quad (9)$$

И наконец, повышение эффективности культивирования при управлении структурой популяции определится как отношение $\Phi_{n(y)}$ к Φ_n :

$$K_o = \frac{\Phi_{n(y)}}{\Phi_n} = \frac{T}{T_c} \quad (10)$$

Полученный результат свидетельствует о пропорциональности в установленном режиме выращивания биомассы клеток на световой и светонезависимой стадиях жизненного цикла длительностям этих стадий.

Увеличение продуктивности культуры приведет к росту скорости потока (D):

$$D = \mu \frac{T}{T_c} \quad (11)$$

Поскольку часть биомассы для обеспечения непрерывности процесса возвращается в культиватор в виде автоспор, то суммарная скорость отбора биомассы из культиватора должна быть равна

$$D + n_{(y)} P_0 = \mu \frac{T}{T_c} \left(1 + \frac{T}{T-T_c} \frac{e^{\mu T} (e^{\mu(T-T_c)} - 1)}{(e^{\mu T} - 1)^2} \right), \quad P_0 = 1. \quad (12)$$

Для приведенных в работе [10] данных ($T=15$ ч, $T_c=10$ ч) из соотношения (10) получается $K_o=1,5$. Отсюда видно, что формирование оптимальной возрастной структуры в культиваторе при непрерывном режиме выращивания способно значительно повысить продуктивность микрородорослей.

Динамику фотосинтеза и роста клетки *Chlorella* sp. K не удается аппроксимировать какими-либо функциями, зависящими от общепринятых параметров онтогенеза (удельной скорости роста μ , T и T_c). Это затрудняет разработку общих соотношений, пригодных для всех условий культивирования. Расчет K_0 , проведенный для случая, представленного на рис. 3, показал, что при управлении возрастной структурой культуры *Chlorella* sp. K продуктивность ее может быть повышена в 1,47 раза, т. е. в несколько меньшей степени, чем отношение T/T_c у этого штамма в данных условиях выращивания ($T=11$ ч, $T_c=7$ ч).

Характер изменений функциональных параметров клетки в процессе ее развития по жизненному циклу и представленные расчеты свидетельствуют о высокой степени влияния возрастной структуры популяций на физиологические параметры культур и о необходимости учета популяционных явлений в экспериментальной работе с применением микроводорослей.

Изменение удельной плотности клеток на разных стадиях развития может быть использовано для управления возрастной структурой при непрерывном культивировании, что существенно повысит фотосинтетическую продуктивность культур.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гинзбург Л. Р. Бюл. научно-техн. информ. по агроном. физ., 13, 23, 1969.
2. Гинзбург Л. Р. Проблемы кибернетики, 23, 261. «Наука», 1970.
3. Гимельфарб А. А., Гинзбург Л. Р., Полуэктов Р. А., Пых Ю. А., Ратнер В. А. Динамическая теория биологических популяций. «Наука», 1974.
4. Leslie P. H. Biometrika, 35, 237, 1948.
5. Leslie P. H. Biometrika, 33, 183, 1945.
6. Williams F. M. In: Systems Analysis and Simulation in Ecology, 1, 197. Ed. Patten B. C., Acad. Press, New York — London, 1971.
7. Поглин Л. Н. Физиол. растений, 20, 532, 1973.
8. Döhler G. Planta, 60, 158, 1963.
9. Berková E., Doucha J., Kubín St., Zachleder V., Setlík I. II International Congr. on Photosynthesis, 2619. Stresa, 1971.
10. Setlík I., Berková E., Doucha J., Kubín St., Vendlová J., Zachleder V. Arch. Hydrobiol., sup. 41, Algological Studies, 7, 172, 1972.
11. Kanazawa T., Kanazawa K., Kirk M. R., Bassam J. A. Plant and Cell Physiol., 11, 149, 1970.
12. Shibata K., Morimura J., Tamiya H. Plant and Cell Physiol., 5, 315, 1964.
13. Nichei T., Sasa T., Miyachi S., Suzuki K., Tamiya H. Arch. Mikrobiol., 21, 155, 1954.
14. Поглин Л. Н., Сорокин Е. М. В сб.: Математическая теория биологических систем, 196. Калининград, 1976.
15. Engelberg J. Exptl Cell Res., 23, 218, 1961.

Поступила в редакцию
25.IX.1976

THE EFFECT OF AGE STRUCTURE OF POPULATIONS ON PHYSIOLOGICAL PARAMETERS AND PRODUCTIVITY OF MICROALGAL CULTURES

L. N. TSOGLIN, V. A. BAKULIN

K. A. Timiriázev Institute of Plant Physiology, USSR Academy of Sciences, Moscow

Microalgae are being extensively used for studying biophysical and physiological properties of plants. However, the heterogeneous age composition of populations is often neglected. The functional characteristics of cells change in the course of ontogenesis; therefore, the physiological parameters of cultures and the results of measurements depend on the structure of populations. This complicates the comparison and interpretation of data obtained in different experiments. Photosynthesis also depends on the age structure of populations making it possible therefore to increase the productivity of cultures, by forming the optimum age distribution of cells of microalgae, by 1.4—1.6 times without interrupting a continuous growth process. The value of K_0 which defines the effectiveness of the controlled process has been found to depend on the ratio between the durations of the light-dependent and light-independent stages in the microalgal growth under the specified conditions of cultivation.