

К ВОПРОСУ О ВЫРАЩИВАНИИ КУЛЬТУРЫ *CHLORELLA PYRENOIDOSA* В УСЛОВИЯХ ОСВЕЩЕНИЯ ИМПУЛЬСНЫМ СВЕТОМ

В. Е. СЕМЕНЕНКО, М. Г. ВЛАДИМИРОВА, М. А. ПОПОВА

Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева, Москва

В работах Эмерсона и Арнольда [1, 2] посредством изучения фотосинтеза в прерывистом свете с различным соотношением интервалов «свет: темнота» впервые в прямом опыте была измерена длительность световых фотохимических и темновых ферментативных реакций фотосинтеза. Было показано, что при расчете количества ассимилируемой CO_2 или выделяемого кислорода на единицу энергии света последняя используется наиболее эффективно в том случае, когда свет дается прерывисто с длительностью световых вспышек 0,00001 сек. и с темновым интервалом около 0,1 сек. Эти опыты были повторены и детализированы рядом исследователей [3—6] с различной интерпретацией полученных данных. Но в общей сложности в настоящее время экспериментально установлено, что фотосинтез складывается из сопряженно действующих фотохимических и темновых реакций.

С другой стороны, при изучении индукционного периода фотосинтеза и фотопериодизма [7—9] показано, что как интенсивность фотосинтеза, так и рост растений (высших и водорослей) оказываются минимальными при длительности световых и темновых периодов порядка 1 мин. и увеличиваются не только при увеличении, но и при дальнейшем уменьшении продолжительности световых и темновых периодов. Однако в опытах с выращиванием растений в прерывистом свете частота и длительность вспышек не уменьшались до величин, которые бы соответствовали длительностям световых и темновых реакций фотосинтеза.

Исходя из этого, представлялось интересным изучение возможности выращивания водорослей при освещении импульсным светом с длительностями световых и темновых периодов, соответствующими длительностям фотохимических и темновых реакций фотосинтеза.

Наша работа в этом направлении с культурой *Chlorella* привела нас к ряду фактов, отражающих сложную реакцию водоросли на импульсное освещение, которая меняется со временем, свидетельствуя о наличии хорошо выраженного процесса адаптации.

Объектом исследования служила культура *Chlorella pyrenoidosa* (Pringh).

В качестве источника импульсного света использовали 200- и 500-джуулевые трубчатые газонаполненные ксеноновые импульсные лампы типа ИФП-200 и ИФП-500 [10]. Цветовая температура этих ламп порядка 6000—7000°, и распределение энергии по спектру близко к солнечному свету. Лампы подключались к электронному блоку питания и работали с частотой 10 гц при длительности вспышки порядка 25 мксек*.

Водоросли выращивали в специальных стеклянных сосудах, емкостью на 250 мл среды (рис. 1), при постоянном продувании воздухом, обогащенным углекислотой. Культивирование проводилось на среде, использованной Тамияя [11] для выращивания

* Импульсные лампы и блок питания были нам любезно представлены И. С. Маршаким и под его руководством налажены В. Орловым, за что приносим им искреннюю благодарность.

массовой культуры водорослей. Количество клеток после посева варьировало в разных опытах от 0,5 до 1,5 млн. на 1 см³ среды. О развитии культуры судили по числу клеток, подсчитываемому в камере Тома или нефелометрически. Температура во всех опытах была 23—24°. Рост культуры *Chlorella* на импульсном свете сравнивался с ее ростом в обычных условиях культивирования на непрерывном свете с освещением люминесцентными лампами при освещенности на поверхности культуральных сосудов 6—7 тыс. лк.

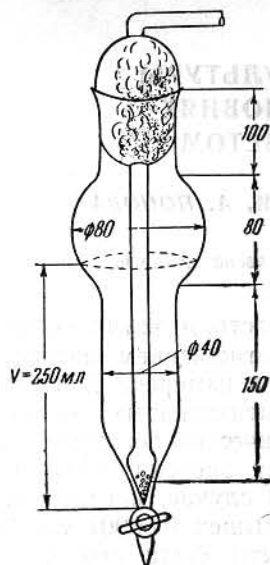


Рис. 1. Культуральный сосуд

Поскольку оптимальная интенсивность импульсного света была неизвестна, то в первых опытах, поставленных с целью выяснения принципиальной возможности роста *Chlorella pyrenoidosa* в условиях импульсного освещения, получаемого от данного типа ламп, было поставлено одновременно несколько вариантов, в которых культуральные сосуды располагали на различном расстоянии от источника света, а именно:

№ культурального сосуда	Расстояние от источника света (в см)
4, 5, 6, 7	50
8	35
9	20,5
10	10
11	8
12	3

При рассмотрении результатов этого опыта, представленных на рис. 2, отчетливо видно, что во всех случаях на импульсном свете развитие водорослей идет очень слабо. При этом ход нарастания числа клеток имеет два характерных периода. Первый период, длящийся 9—11 дней после посева, — период депрессии и медленного нарастания числа клеток; второй период — начало относительно интенсивного роста. Кроме того, несмотря на общий, одинаковый характер хода всех кривых, все же заметно выделяются культуры, выращиваемые на наиболее близком расстоянии от лампы (см. кривую 12).

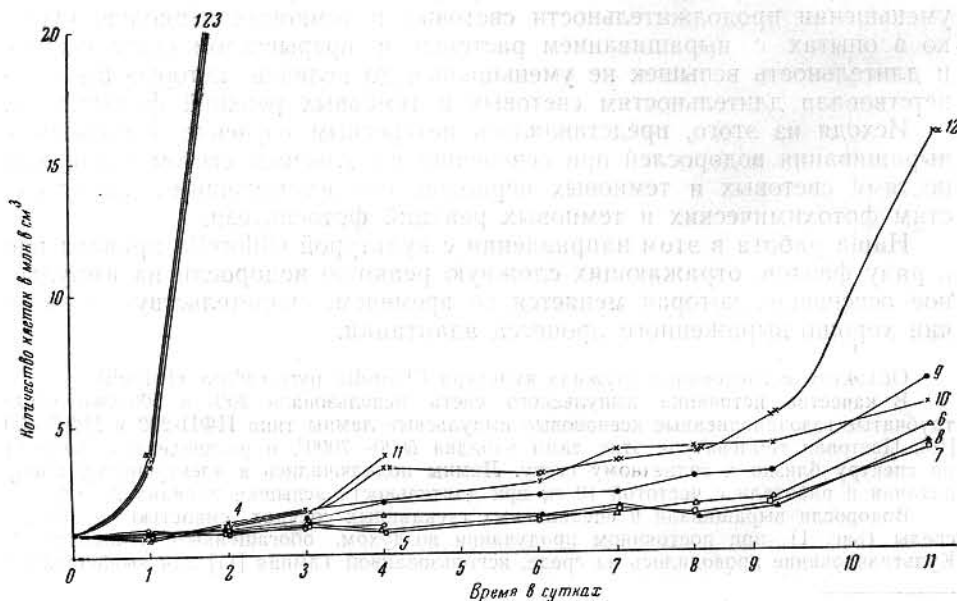


Рис. 2. Рост *Chlorella pyrenoidosa* в условиях импульсного освещения:

1—3 — рост *Chlorella* на непрерывном свете люминесцентных ламп; 4—12 — в зависимости от расстояния культуральных сосудов от источника импульсного света

Аналогично ведет себя культура на импульсном свете при высокой плотности посева ($130 \cdot 10^6 \text{ см}^3$) (рис. 3).

Однако во время первого периода развития водорослей на импульсном свете, когда не наблюдается сколько-нибудь заметного роста числа клеток, культура все же остается вполне жизнеспособной. Это видно из того, что при перенесении культуры, находившейся четыре дня под импульсной лампой, на свет люминесцентных ламп, наблюдается быстрое ее развитие, как и при обычном посеве (рис. 4).

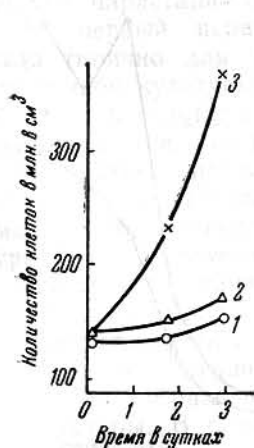


Рис. 3. Рост *Chlorella rupeoidosa* в условиях импульсного освещения при плотном засеве

1, 2 — рост культуры на свете импульсных ламп;
3 — на свете люминесцентных ламп

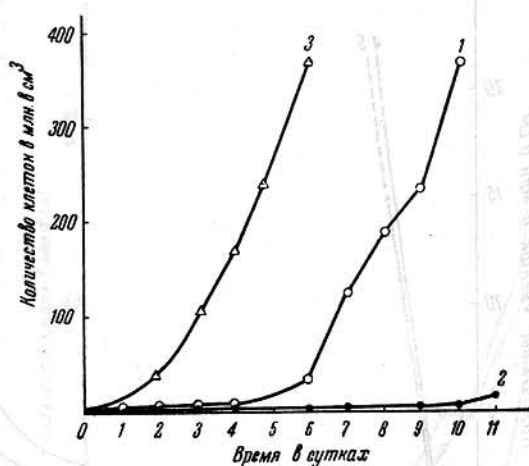


Рис. 4. Рост культуры *Chlorella rupeoidosa*

1 — при перенесении ее с импульсного света на непрерывный свет люминесцентных ламп; 2 — на импульсном свете; 3 — на люминесцентном свете

Обнаруженные особенности поведения *Chlorella* на импульсном свете и ход кривых нарастания числа клеток трудно объяснить недостаточностью света при использовании импульсных источников, так как кривая нарастания числа клеток во времени оказалась не линейной, а имеет резко выраженный перелом, что по всей видимости характеризует качественное изменение состояния культуры. Это заставило предположить, что здесь имеет место адаптация клеток *Chlorella* к условиям освещения импульсным светом, длящаяся примерно в течение восьми-десяти дней (I период), после чего уже адаптированная к импульсному освещению культура начинает расти (II период).

Предположение об адаптации казалось вероятным, поскольку, облучая импульсным светом культуру *Chlorella*, мы ставим ее в трудные условия в том отношении, что в клетках должны строго синхронизироваться ферментативная деятельность, биохимические реакции, возможно даже такие сложные физиологические процессы, как развитие и размножение клеток. Естественно, что такая перестройка не может проходить моментально — необходимо какое-то время для адаптации.

Для проверки этого был поставлен ряд опытов. При этом предполагалось, что если *Chlorella* действительно адаптируется к условиям освещения импульсным светом, то при повторном посеве торможение роста, связанное с периодом адаптации, должно уменьшаться. Быстрый рост культуры должен наблюдаться, если не с первого же дня после посева, то с более коротким периодом запаздывания, и кривая нарастания числа клеток при выращивании культуры в условиях импульс-

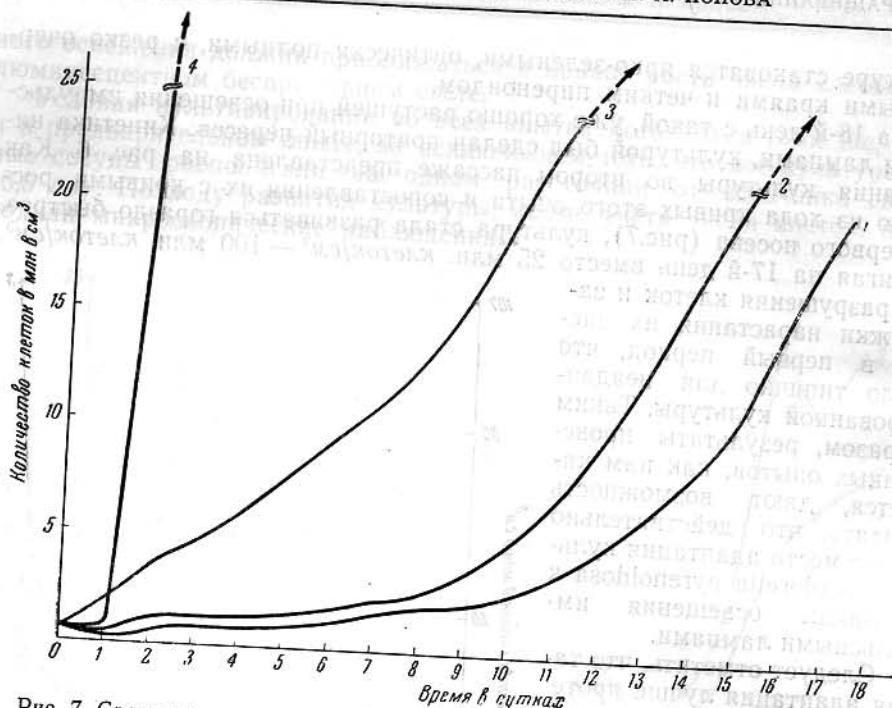


Рис. 7. Сравнительная характеристика роста *Chlorella pyrenoidosa* в условиях импульсного освещения

1 — неадаптированная к импульсному свету; 2 — адаптированная при выдерживании на импульсном свете колонии выращенной на косяке агара (плотность клеток на 17-й день 75 млн/см³); 3 — адаптированная при выращивании в условиях импульсного освещения на жидкой среде (плотность клеток на 17-й день 100 млн/см³); 4 — на непрерывном свете люминесцентной лампы

Результаты этих измерений, представленные в таблице, показывают, что как у адаптированной, так и у неадаптированной культуры интенсивность фотосинтеза практически одинакова*. Это привело к заклю-

Таблица

Определение интенсивности фотосинтеза *Chlorella pyrenoidosa* при освещении непрерывным и импульсным светом в зависимости от адаптации культуры к импульсному освещению по выделению O₂

Характер культуры	Выделение O ₂ в мг на 1×10 ⁶ клеток в час×10 ⁻⁶	
	на непрерывном свете	на импульсном свете
Выращена на непрерывном свете люминесцентных ламп (не адаптирована к импульсному свету)	9,3	2,25
Выращена в условиях импульсного освещения (адаптирована к импульсному свету)	12,65	2,3

чению о том, что задержка нарастания культуры *Chlorella* в начальные периоды после помещения ее в условия импульсного освещения определяется тем, что в этих условиях оказываются подавленными и требуют времени для адаптации именно ростовые процессы и процессы деления клеток. Фотосинтетический же аппарат, состоящий из сопряженно действующих систем фотохимических и темновых реакций, не нуждается в перестройке при перенесении водорослей с непрерывного света в условия импульсного освещения.

* Разница в интенсивности фотосинтеза при освещении импульсной лампой и люминесцентной связана с тем, что, к сожалению, мы не имели возможности выравнять по энергиям источники света.

Сопоставление как интенсивности фотосинтеза, так и максимального числа клеток, достигаемого за определенный период времени культурой *Chlorella*, в условиях освещения импульсной и люминесцентной лампами показывает, что скорость нарастания числа клеток и интенсивность фотосинтеза под люминесцентными лампами значительно выше, чем на импульсном свете. Объясняется ли это меньшим количеством энергии, которую получала культура от импульсной лампы, или менее благоприятным спектральным составом света импульсных ламп, или, наконец, каким-то специфическим влиянием на реакции размножения импульсности света как таковой,— пока неясно. Однако и при этом условии очень хорошо обнаружился факт четкой адаптации водорослей к импульсному свету с частотой и длительностью вспышек, соответствующих длительностям световых и темновых реакций фотосинтеза.

Приносим искреннюю благодарность профессору А. А. Ничипоровичу, по чьей инициативе и под руководством которого проводилась работа.

ВЫВОДЫ

1. Культура *Chlorella pyrenoidosa* способна расти в условиях освещения импульсным светом при длительности вспышки около 25 мксек с темновым интервалом 0,1 сек. и достигает на 17-й день плотности порядка $100 \cdot 10^6$ клеток в $см^3$.

2. Для того, чтобы культура водорослей могла развиваться в условиях импульсного освещения, требуется определенный период времени для адаптации. При этом адаптируются ростовые процессы и процессы развития, а не фотосинтетический аппарат, поскольку интенсивность фотосинтеза у адаптированной к импульсному освещению и неадаптированной культуры *Chlorella* остается одинаковой.

ЛИТЕРАТУРА

- Emerson R. and Arnold W. J. Gen. Physiol., 15, 391, 1932.
- Emerson R. and Arnold W. J. Gen. Physiol., 16, 191, 1932.
- Pratt R. and Trelease S. F. Amer. J. Bot., 25, 133, 1938.
- Weller S. and Franck J. J. Phys. Chem., 45, 1366, 1941.
- Tamiya H. Analysis of Photosynthetic Mechanisms by the Method of Intermittent Illumination, Studies from Tokugawa Institute, Vol. VII, N 2, 132, 1949, Tokyo.
- Rabinowitch E. Photosynthesis and Related Processes, V. II, Part 2, 1956, New York.
- Aufdemgarten H. Planta, 29, 643, 1939.
- Garner W. W. and Allard H. A. J. Agr. Research, 42, 629, 1931.
- Iggena M. S. Arch. Mikrobiol., 9, 129, 1938.
- Маршак И. С. Ж. Радио, № 1, 1958.
- Tamiya H., Hase E., et al. *Carnegie Inst. Wash. Publ. 600, 1953*. Поступила в редакцию 17.VIII.1959

ON CULTURE OF CHLORELLA PYRENOIDOSA UNDER CONDITIONS OF FLASH ILLUMINATION

V. E. SEMENENKO, M. G. VLADIMIROVA, M. A. POPOVA

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

The possibility of mass culture of algae under conditions of flash illumination in which the light and dark periods correspond to those of the photochemical and dark periods of photosynthesis was studied. Thus an attempt was made to use for practical purposes well known facts regarding the mechanism of photosynthesis. The light sources were special pulsed lamps which flashed on 10 times per second and produced a flash of 25 μ sec duration.

It is shown that *Chlorella pyrenoidosa* can grow under flashing light of 25 μ sec duration and 0.1 sec dark time interval. After 17 days the cell density was of the order of $100 \cdot 10^6$ cells per cc.

However growth of the alga can take place under flashing light only if the cells are adapted during a certain period of time. Growth processes and developmental processes, but not the photosynthetic apparatus became adapted in this case since the photosynthetic rate was the same in *Chlorella* adapted and not adapted to flash illumination.