

УДК 581.17

**ПАРАМЕТРИЧЕСКОЕ УПРАВЛЕНИЕ БИОСИНТЕЗОМ  
β-КАРОТИНА В КЛЕТКАХ DUNALIELLA SALINA В УСЛОВИЯХ  
ИНТЕНСИВНОЙ КУЛЬТУРЫ****В. Е. СЕМЕНЕНКО, А. А. АБДУЛЛАЕВ***Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева  
Академии наук СССР, Москва*

Исследовали зависимость накопления β-каротина в клетках и валового его выхода в условиях интенсивной культуры *Dunaliella salina* от концентрации NaCl, интенсивности света, температуры, исключения из среды азота или магния. Показана высокая эффективность сочетания факторов «субоптимальная температура + высокая интенсивность света» в отношении скорости накопления в клетках и валового выхода β-каротина, что может быть использовано для параметрического управления биосинтезом этого соединения в условиях интенсивной культуры *D. salina*. С помощью циклогексимида показано, что индуцированный субоптимальной температурой переход клеток *D. salina* к направленному синтезу β-каротина связан с синтезом белка на 80 S рибосомах.

*Водоросли — Dunaliella salina — β-каротин, биосинтез — оптимизация — параметрическое управление.*

Разработка теоретических предпосылок и поиски путей управления качественной направленностью биосинтеза растений и культивируемых фотосинтезирующих клеток является одной из актуальных проблем современной физиологии растений [1]. Подходы к решению этой проблемы зависят от особенностей конкретных объектов и могут основываться как на селекционно-генетических методах, так и на методах параметрического управления биохимической адаптацией растений и течением процессов их онтогенеза.

Одной из удобных моделей для изучения принципиальной возможности параметрического управления биохимической адаптацией и качественной направленностью биосинтеза фотосинтезирующих клеток являются одноклеточные водоросли, отличающиеся высокой пластичностью метаболизма [2—4] и возможностью культивирования их в полностью контролируемых условиях [5].

Для пресноводных зеленых водорослей, выращиваемых в интенсивной культуре, разработан, в частности на примере хлореллы, принцип параметрического управления качественной направленностью биосинтеза одноклеточных водорослей, который обеспечивает переориентацию их биосинтеза в сторону преимущественного накопления или белков, или жиров, или углеводов [3, 4, 6—9]. Этот принцип базируется на различных способах разобщения клеточных функций деления и фотосинтеза и вызываемых таким разобщением явлениях биохимической адаптации фотосинтезирующих клеток. Физиологической основой этого метода является различная чувствительность (устойчивость) к экстремальным воздействиям функции хлоропласта и процессов, связанных с прохождением митотического цикла, развитием и делением клеток [6, 7, 9, 10]. Благодаря этому при определенных сочетаниях напряженности физико-химических факторов внешней среды (температура, свет,

минеральное питание и др.) имеет место блокирование деления клеток при сохранении фотосинтеза, что приводит к переключению альтернативных путей преобразования продуктов восстановления углерода в сторону накопления запасных веществ (триглицеридов, полисахаридов), природа которых обусловлена генетическими свойствами штамма [4, 6, 11]. Показано также, что переориентация биосинтеза фотоавтотрофных клеток водорослей сопровождается сложной цепью внутриклеточных событий и регуляторных актов [9], связанных с активацией протеолитических ферментов [12] на начальных этапах перестройки биосинтеза, с индукцией и синтезом *de novo* белков, необходимых для конденсации продуктов фотосинтеза в запасные вещества [9, 13].

Зеленая галофильная водоросль *Dunaliella salina* давно привлекает внимание исследователей как организм, развивающийся в условиях чрезвычайно высокой солености среды (2—3 М NaCl), что делает интересным выяснение особенностей ее структурно-функциональной организации [14] и использование этого объекта для изучения механизмов осморегуляции, адаптации водорослей к осмотическому действию среды [14, 15], солеустойчивости и солевого обмена растительных клеток [16]. С другой стороны, известно, что *D. salina* в определенных экологических условиях способна переходить к активному (направленному) синтезу  $\beta$ -каротина. Это позволило рассматривать *D. salina* как перспективный продуцент провитамина А [14, 17], и делает ее удобной моделью для изучения способов управления биосинтезом специфических соединений и веществ вторичного обмена в растительных клетках. Исследование биологии *D. salina* и экологических факторов, вызывающих переход ее к активному каротинонакоплению в естественных условиях, показало, что биосинтез  $\beta$ -каротина является приспособительной реакцией этих организмов в ответ на экстремальные условия, характеризующиеся изменением солености, минерального состава среды, температуры и освещенности [14].

Ранее нами [18] была показана возможность введения *D. salina* в интенсивную культуру и осуществлена оптимизация ее роста и фотосинтетической продуктивности. В настоящей работе исследована возможность параметрического управления биосинтезом  $\beta$ -каротина в клетках *D. salina* в условиях интенсивной культуры и приложимость принципа разобщения клеточных функций к управлению биосинтезом веществ вторичного обмена у водорослей.

#### МЕТОДИКА

Объектом исследования служила *D. salina*, штамм 9.

Культивировали водоросли в условиях интенсивной культуры по описанной методике [18, 19] при непрерывном барботировании суспензии газовой смесью с 1,7% CO<sub>2</sub> и круглосуточном освещении. В качестве источников света использовали люминесцентные лампы ЛБ-80 (освещенность 60 тыс. эрг/см<sup>2</sup>·с) и ксеноновую лампу ДКСТВ-6000 мощностью 6 кВт, с помощью которой получали высокие освещенности (160 и 370 тыс. эрг/см<sup>2</sup>·с). Культивирование проводили в термостатированных условиях со стабилизацией температуры на заданных уровнях (22, 28, 34 и 40°) с помощью ультратермостатов. В качестве питательной среды использовали среду с высоким содержанием азота, разработанную для условий интенсивного культивирования *D. salina* [18] следующего состава (г/л): KNO<sub>3</sub> — 5,0, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> — 1,25, MgSO<sub>4</sub> — 50, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O — 0,009, NaCl — 116, ЕДТА — 0,037; 2 мл раствора микроэлементов (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> — 2,86, MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O — 1,81, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O — 0,222 г/л; MoO<sub>3</sub> — 176,4, NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub> — 229,6 мг/10 л). После приготовления и стерилизации среды pH ее доводили до 7,5 с помощью 0,1 н. NaOH.

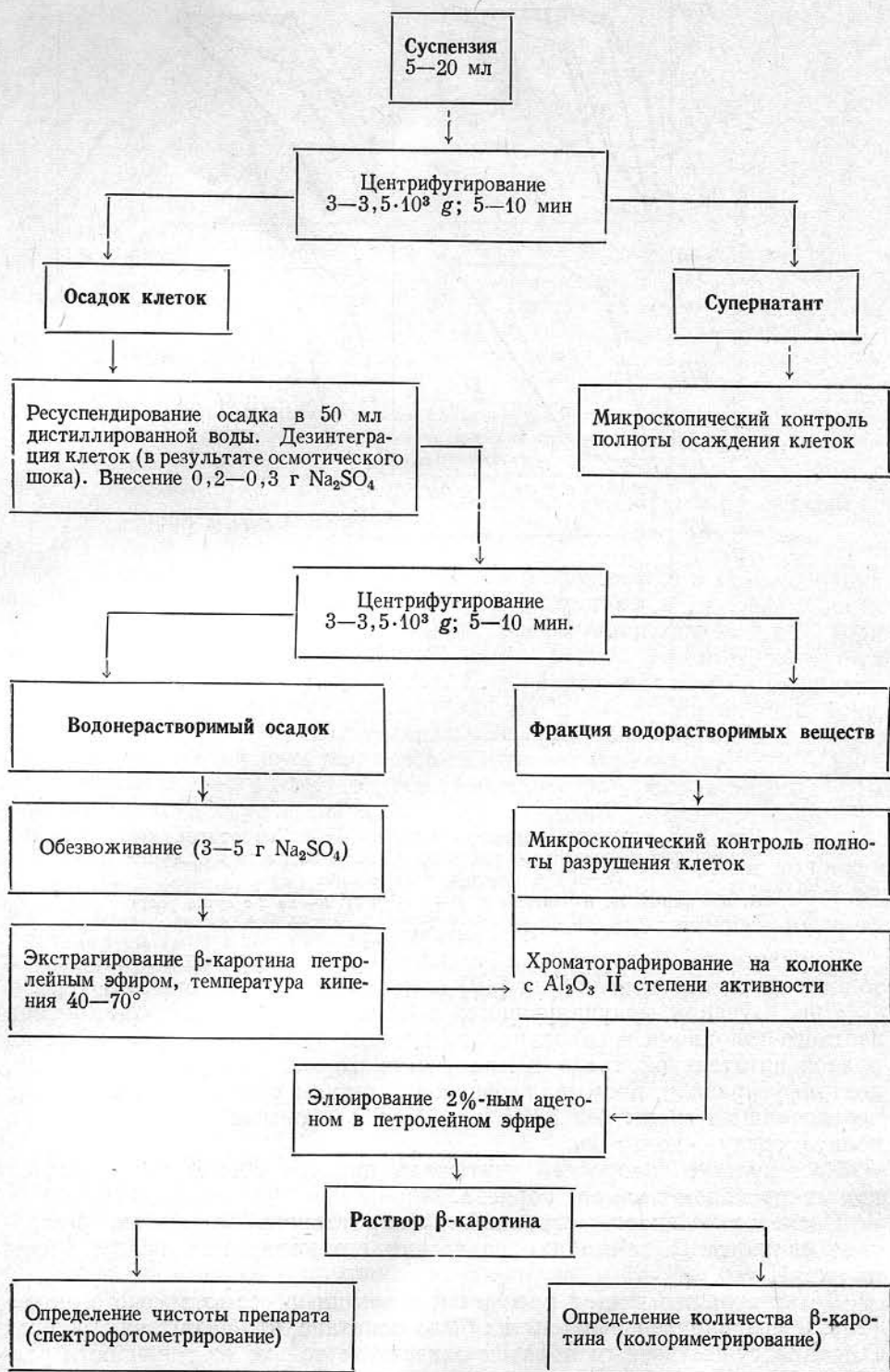


Рис. 1. Схема препаративного выделения β-каротина из клеток *D. salina* и определения его количества

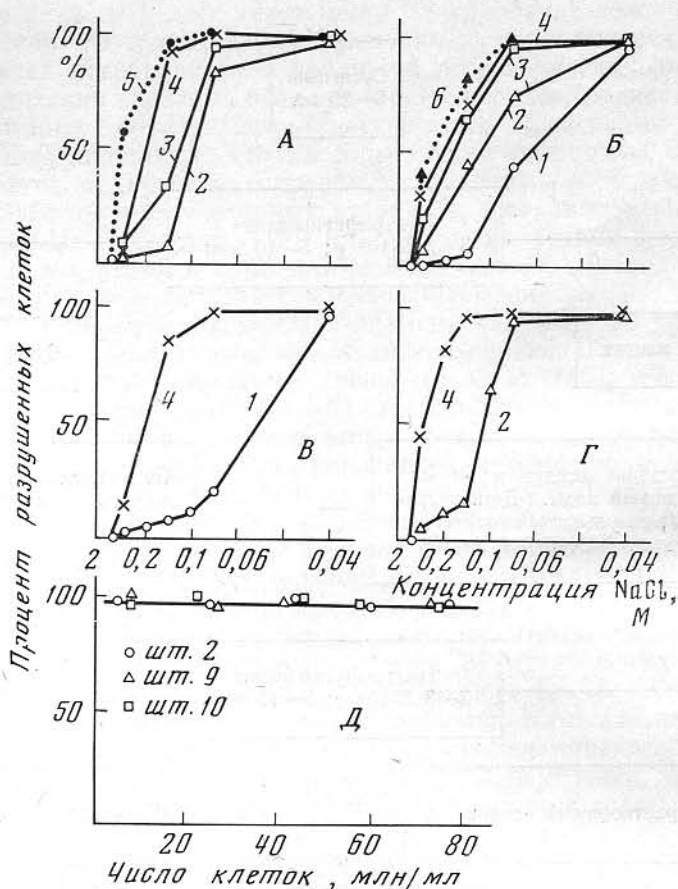


Рис. 2. Зависимость разрушения клеток *D. salina* от концентрации физиологического раствора (NaCl), возраста культуры (А—Г) и плотности суспензии (Д)

А, Б — штамм 10, В — штамм 9, Г — штамм 2; 1 — на 2-е сутки роста культуры, 2 — на 4-е, 3 — на 8-е, 4 — на 15-е, 5 — на 20-е, 6 — на 30-е сутки роста культуры

Выращивали водоросли в стеклянных культуральных сосудах с толщиной слоя суспензии 3 см [19] или (в специальных опытах) 1 см.

При изучении индуцирующего действия на биосинтез  $\beta$ -каротина азотного голодания и голодания по магнию культуры, выращенные на полной питательной среде до плотности 15—20 млн. клеток в 1 мл, центрифугировали, промывали физиологическим раствором и стерильно переносили на среды без  $KNO_3$  или  $MgSO_4$  — опытные варианты, и на полную среду — контроль.

Рост культур водорослей учитывали прямым счетом числа клеток под микроскопом в камере Горяева.

Последовательность операций препаративного выделения  $\beta$ -каротина из клеток *D. salina* и определения его количества представлены на рис. 1.

Дезинтеграцию клеток проводили с помощью «осмотического шока» [20]. В предварительных опытах было показано, что разрушение клеток *D. salina* существенным образом зависит не только от тоничности раствора, но и от физиологического состояния культуры и особенностей штамма. Как видно из рис. 2, клетки *D. salina* из культуры на начальных фазах ее роста (двое суток) более устойчивы к действию осмотического шока. При 25-кратном разбавлении такой культуры дистиллированной водой (при 0,08 М NaCl) разрушается только 18—20% клеток, в то

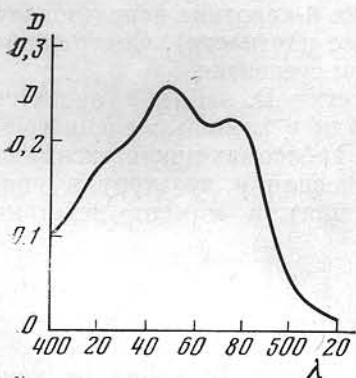


Рис. 3

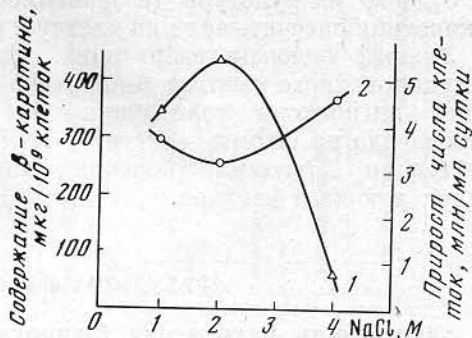


Рис. 4

Рис. 3. Спектральная характеристика раствора  $\beta$ -каротина из клеток *D. salina*, штамм 9, полученного после хроматографической очистки на колонке с  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (II степень активности)

Рис. 4. Зависимость накопления  $\beta$ -каротина (2) и скорости роста (1) культуры *D. salina* от концентрации  $\text{NaCl}$

время как клетки из 15-дневной культуры разрушаются в этих условиях на 97—100%. Полное разрушение всех клеток на всех фазах роста культуры происходит, как видно из рис. 2, при 0,04 М  $\text{NaCl}$  (при 50-кратном разбавлении культур). Этот режим дезинтеграции был использован в последующих опытах. Для разрушения клетки осаждали центрифугированием, ресуспендировали их в дистиллированной воде, получаемый бесклеточный гомогенат снова центрифугировали и осадок обезвоживали безводным сернокислым натрием (см. схему).

Из обезвоженного гомогената пигменты экстрагировали петролейным эфиром (температура кипения 30—70°) до полного извлечения пигментов. Экстракт количественно переносили на абсорбционную колонку.

Хроматографическое разделение пигментов проводили на колонках с окисью алюминия (II степень активности) в инертной атмосфере азота, с использованием для элюции пигментов с колонки 2%-ного раствора ацетона в петролейном эфире.

Спектральные характеристики получаемого с колонок элюата измеряли на спектрофотометре Specord UV VIS. Как видно из рис. 3, спектр имеет полосы поглощения при 426, 450 и 479 нм, характерные для раствора  $\beta$ -каротина в петролейном эфире [21].

Количественное содержание  $\beta$ -каротина рассчитывали, исходя из соотношения  $C = \frac{D}{E_{450,1 \text{ см}}^{1\%}}$  с использованием величины удельного коэф-

фициента экстинкции при 450 нм для раствора  $\beta$ -каротина в петролейном эфире с температурой кипения 40—60°  $E_{450,1 \text{ см}}^{1\%} = 2430$  [21]. При определении количественного содержания  $\beta$ -каротина на фотоэлектродетекторе использовали фильтр с полосой пропускания при 400—500 нм и соответствующие градуировочные кривые или пересчитанный коэффициент, который был определен экспериментально, исходя из соотношения оптической плотности раствора  $\beta$ -каротина при 450 нм и его оптической плотности, определяемой на колориметре с указанным фильтром. Для условий нашего прибора (ФЭКМ 52) этот коэффициент был равен 1,8 и расчет соответственно проводился по соотношению

$$C = \frac{D_{\text{ФЭК}}}{E_{450,1 \text{ см}}^{1\%}} \cdot 1,8.$$

Для определения количественного содержания  $\beta$ -каротина использовали от 5 до 20 мл культуры (в зависимости от ее плотности). Содержание  $\beta$ -каротина рассчитывали на клетку и на объем суспензии.

Участие белоксинтезирующих систем клетки *D. salina* в процессе индуцированного синтеза  $\beta$ -каротина выясняли с помощью специфического ингибитора трансляции на 80 S рибосомах-циклогексимида (производства фирмы «Serva»), который вносили в культуру в концентрации 3 мкг/мл (конечная концентрация) в момент действия индуцирующего фактора.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Зависимость накопления  $\beta$ -каротина в клетках *D. salina* от концентрации NaCl.** Одним из факторов, вызывающих накопление  $\beta$ -каротина в клетках *D. salina* в естественных условиях обитания, является изменение концентрации хлористого натрия в водоемах в особенности при их испарении в летне-осенний период [14]. Оптимальной концентрацией хлористого натрия в среде для роста и развития *D. salina* в культуре является 2 М [14, 18]. Увеличение концентрации NaCl, как показали эксперименты, выполненные с экстенсивной лабораторной культурой *D. salina*, приводит к изменению пигментообразования, характерной чертой которого является повышение содержания  $\beta$ -каротина [14, 17].

Исследование зависимости накопления  $\beta$ -каротина в клетках *D. salina* от концентрации NaCl в интенсивной культуре показало (рис. 4), что и в этих условиях клетки сохраняют типичную для них ответную реакцию, и при увеличении (как и при уменьшении) концентрации хлористого натрия в среде в них увеличивается содержание  $\beta$ -каротина. При этом обращает на себя внимание обратная корреляция между накоплением  $\beta$ -каротина в клетках и скоростью роста культуры. Это характерно, как отмечалось выше, для условий, вызывающих перестройку качественной направленности биосинтеза пресноводных водорослей, и указывает на то, что действие NaCl на биосинтез  $\beta$ -каротина не является специфическим и опосредовано, очевидно, процессами, связанными с нарушением развития и размножения клеток.

**Влияние азотного голодания на накопление  $\beta$ -каротина в клетках *D. salina*.** Нарушение условий минерального питания, в частности исключение азота из питательной среды, является хорошо изученным фактором, который изменяет направленность биосинтеза водорослей (например, хлореллы), вызывая усиленный синтез запасных веществ углеводной или липидной природы [2—4, 9, 11, 13]. Показано также, что недостаток азота приводит к увеличению содержания  $\beta$ -каротина в клетках *D. salina* в условиях экстенсивной культуры более чем в 2 раза [17].

Исследования, проведенные в интенсивной культуре, показывают, что исключение азота из питательной среды действительно приводит к увеличению содержания  $\beta$ -каротина в клетках *D. salina* почти в 3 раза по сравнению с контрольным вариантом (рис. 5, А). При этом увеличение освещенности (освещение с двух сторон по 60 тыс. эрг/см<sup>2</sup>·с) вызывает дополнительное увеличение содержания  $\beta$ -каротина. Однако суммарное количество  $\beta$ -каротина в единице объема суспензии (валовый выход продукта), как видно из рис. 5, Б, оказывается одинаковым как в контрольном, так и в опытных вариантах, что обусловлено большой скоростью роста в условиях интенсивной культуры (увеличения численности клеток) *D. salina* на полной питательной среде (рис. 5, В). В одном случае (опытный вариант) суммарный выход  $\beta$ -каротина обусловлен повышением содержания его в индивидуальной клетке, во

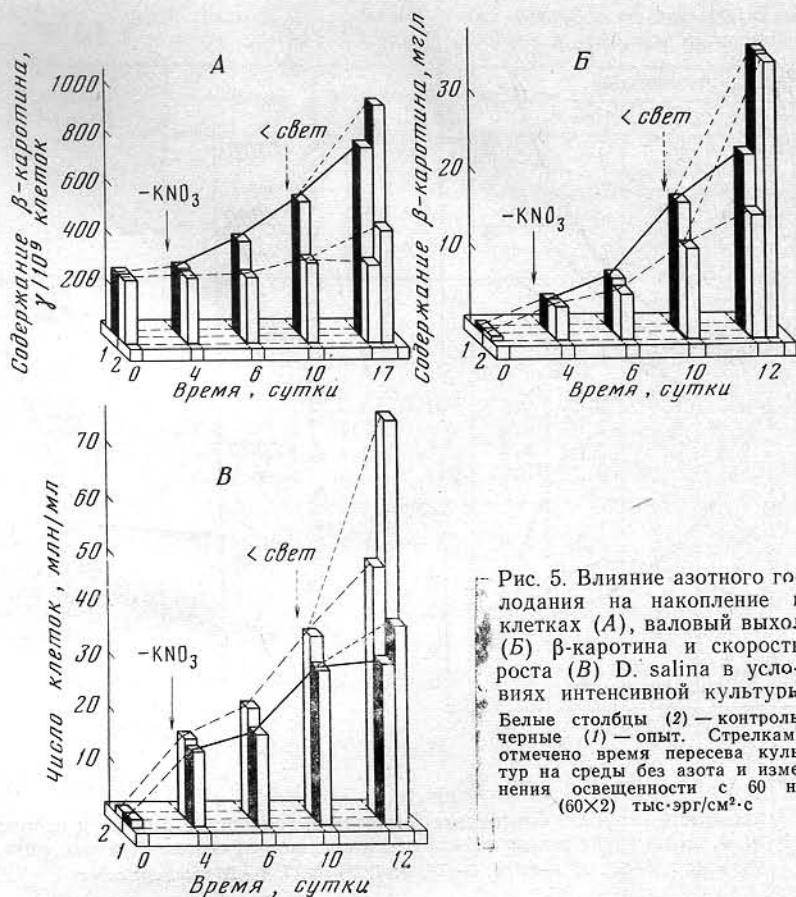


Рис. 5. Влияние азотного голодания на накопление в клетках (А), валовый выход (Б) β-каротина и скорость роста (В) *D. salina* в условиях интенсивной культуры. Белые столбы (2) — контроль; черные (1) — опыт. Стрелками отмечено время пересева культур на среды без азота и изменения освещенности с 60 на  $(60 \times 2)$  тыс. эрг/см<sup>2</sup>·с

втором (контрольный вариант) — достаточно большой скоростью увеличения численности клеток с обычным содержанием в них β-каротина.

Аналогичные результаты были получены и при изучении действия недостатка магния на биосинтез и суммарный выход β-каротина в условиях интенсивной культуры *D. salina* (таблица).

Таким образом, изменение состава питательной среды и условий минерального питания (повышение концентрации NaCl, исключение азота и магния из среды) приводит, как это было показано и ранее [17], к существенному повышению содержания β-каротина в клетках *D. salina*. Однако такой способ управления биосинтезом β-каротина, приемлемый, очевидно, для экстенсивной культуры *D. salina*, оказывается недостаточно эффективным из-за малой скорости процесса для параметрического управления биосинтезом β-каротина у этих организмов в условиях интенсивной их культуры.

**Зависимость биосинтеза β-каротина от интенсивности света и температуры.** Свет является ведущим экологическим фактором в отношении накопления β-каротина в клетках *D. salina* [14, 17].

Выращивание *D. salina* при различных интенсивностях света в достаточно широком диапазоне освещенностей и при различных температурах позволило получить световые и температурные кривые скорости роста культуры *D. salina* и биосинтеза β-каротина (рис. 6). Как видно из этих кривых (рис. 6, А), повышение освещенности в области интенсивностей света, превышающих насыщение световых кривых роста культуры *D. salina* (200 и более тыс. эрг/см<sup>2</sup>·с), вызывает существенное увеличение скорости синтеза (прироста в клетках) β-каротина. При этом максимальные величины суточного прироста β-каротина в клетках

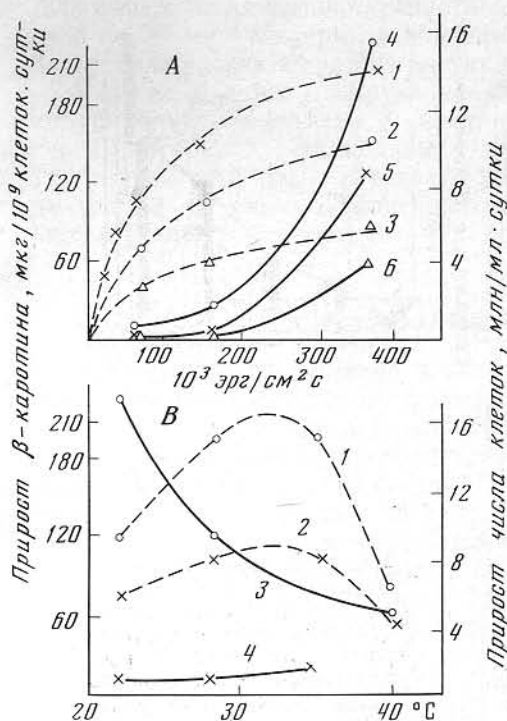


Рис. 6

Рис. 6. Зависимость скорости биосинтеза  $\beta$ -каротина (сплошные линии) и скорости роста культуры *D. salina* (пунктирные линии) от интенсивности света (А) и температуры (Б)  
 А: 1, 5—28°, 2, 4—22°, 3, 6—40°; Б: 1, 3—370, 2, 4—160 тыс.  $\text{эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{с}$

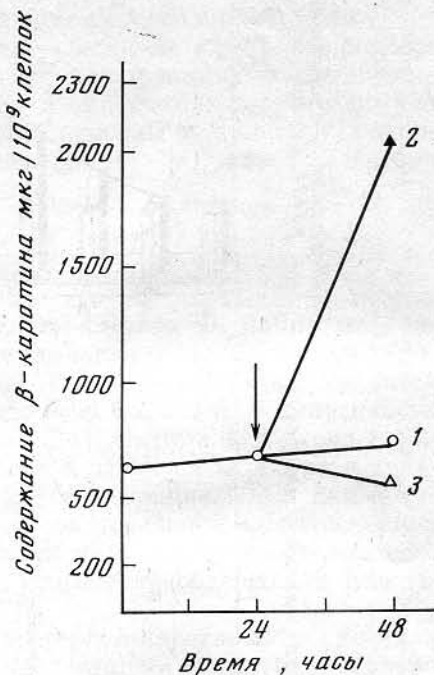


Рис. 7

Рис. 7. Влияние циклогексимида на индуцированный субоптимальной температурой переход клеток *D. salina* к направленному синтезу  $\beta$ -каротина  
 Интенсивность света — 370 тыс.  $\text{эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{с}$ , плотность культуры —  $55 \cdot 10^6$  клеток/мл, толщина слоя суспензии — 1 см; 1—28°, 2—22°, 3—22°+циклогексимид (3  $\text{мкг}/\text{мл}$ ). Стрелкой отмечено время изменения температуры с 28 на 22°

наблюдаются (рис. 6, Б) при субоптимальных температурах и составляют при 22° и освещенности 370 тыс.  $\text{эрг}/\text{см}^2 \cdot \text{с}$  более 220  $\text{мкг}/10^9$  клеток в сутки при плотности культуры 15 млн./мл и толщине слоя суспензии 3 см. Уменьшение толщины слоя суспензии до 1 см способствует дальнейшему увеличению скорости синтеза  $\beta$ -каротина, прирост которого возрастает, как видно из таблицы, до 1370  $\text{мкг}/10^9$  клеток в сутки даже при плотности культуры 55 млн. клеток/мл. При этом и валовый выход  $\beta$ -каротина с единицы объема суспензии в сутки превышает почти в 3 раза выход его при оптимальных для роста культуры условиях и составляет около 90  $\text{мг}/\text{л}$  культуры в сутки.

Таким образом, индуцирующее действие низких субоптимальных температур на фоне высоких освещенностей является, по-видимому, фактором, который может быть, как мы сообщали ранее [22], эффективно использован для параметрического управления биосинтезом  $\beta$ -каротина в условиях интенсивной культуры *D. salina* с применением техники проточного двухфазного культивирования [23] этих водорослей.

**Влияние циклогексимида на индуцированный переход клеток *D. salina* к направленному биосинтезу  $\beta$ -каротина.** Биосинтез  $\beta$ -каротина, индуцируемый на фоне высоких освещенностей низкими субоптимальными температурами, является, по-видимому, приспособительной защитной реакцией клетки *D. salina* и связан с механизмами, в которых

Сравнительная характеристика действия различных факторов на индуцированный переход клеток *D. salina* к направленному синтезу  $\beta$ -каротина в условиях интенсивной культуры

Факторы	Число клеток, млн/мл			Удельный коэффициент раз-множения $\frac{N_t - N_0}{t \cdot N_0}$	Содержание $\beta$ -каротина					
	в нача-ле опы-та $N_0$	в конце опыта $N_t$	средне-суточ-ный прирост $\frac{N_t - N_0}{t}$		мг/л			мкг на $10^9$ клеток		
					в нача-ле опыта	в конце опыта	средне-суточ-ный прирост	в нача-ле опыта	в конце опыта	средне-суточ-ный прирост
1. Контроль ( $I = 60, 28^\circ, l = 3$ см)	15,0	30,0	5,0	0,333	4,5	8,5	1,3	275	275	0,0
2. NaCl (1 M) + MgCl <sub>2</sub> (0,5 M)	13,6	22,0	2,3	0,169	4,0	6,8	0,8	300	309	2,5
3. —MgSO <sub>4</sub>	15,0	35,0	1,5	0,100	4,5	20,3	1,2	300	580	21,6
4. NaCl (1/2 M)	13,8	18,1	1,1	0,079	4,6	6,7	0,6	267	372	26,7
5. —NO <sub>3</sub>	14,5	30,0	2,5	0,172	4,0	16,6	2,10	281	555	45,7
6. —NO <sub>3</sub> + дополни-тельный свет ( $I=60$ )	30,0	38,0	1,1	0,036	16,6	35,9	2,8	555	945	55,7
7. Свет, темпера-тура ( $I=370, 40^\circ$ )	5,0	71,0	7,2	1,440	33,0	58,5	8,5	665	835	56,6
8. Свет ( $I=370, 28^\circ$ , при $l = 1$ см)	55,0	120,0	25,0	0,454	37,3	112,0	28,7	679	938	99,0
9. Свет, темпера-тура ( $I=370^\circ, 34^\circ$ )	15,0	49,5	11,5	0,766	4,5	33,0	9,5	275	665	130,0
10. Свет ( $I=370, 28^\circ$ )	15,0	55,0	13,3	0,886	4,5	37,0	10,8	275	679	134,7
11. Свет, темпера-тура ( $22^\circ$ C, $I=370$ )	15,0	43,5	9,5	0,633	4,5	40,7	12,1	275	940	221,6
12. Свет, темпера-тура ( $22^\circ$ C, $I=370, l=1$ см)	55,0	61,0	6,0	0,109	37,0	125,0	88,0	679	2049	1370,0
13. Синий свет ( $I=41$ )	55,0	70,0	15,7	0,285	37,3	78,9	16,0	679	1127	170,0

Примечание. Приведены максимальные значения скорости синтеза  $\beta$ -каротина, полученные для каждого из индуцирующих факторов.  $l$  — толщина слоя суспензии, см;  $I$  — интенсивность света, тыс. эрг/см<sup>2</sup>·с.

участвуют процессы индуцированного синтеза белка. На это указывают результаты исследований, представленные на рис. 7. Видно, что переход клетки *D. salina* к направленному синтезу  $\beta$ -каротина, вызываемый снижением температуры до  $22^\circ$ , полностью подавляется при внесении циклогексимида — специфического ингибитора синтеза белков на 80 S рибосомах. Участие цитоплазматических 80 S рибосом в синтезе белков, необходимых для образования  $\beta$ -каротина, показано в опытах с *Chlamydomonas* [24]. Представленные результаты действия циклогексимида на индуцированный синтез  $\beta$ -каротина у *D. salina* указывает, очевидно, на участие в этом процессе регуляторных механизмов, действующих на уровне транскрипции и трансляции и затрагивающих, вероятно, также фоторегуляторные механизмы, о чем свидетельствует достаточно высокая эффективность синего света в отношении индукции синтеза  $\beta$ -каротина (таблица) и существенные перестройки ультраструктуры клетки *D. salina*, обнаруженные при рассмотренных выше сочетаниях температурных и световых условий [25].

В таблице представлены суммарные данные, характеризующие эффективность действия различных факторов в отношении перехода клеток *D. salina* к направленному синтезу  $\beta$ -каротина в условиях интен-

сивной культуры. Анализ этих данных показывает, что переход клеток *D. salina* к направленному синтезу  $\beta$ -каротина наблюдается в условиях, задерживающих или блокирующих деление клеток при высоких интенсивностях света, что указывает на возможность использования принципа разобщения клеточных функций [6] для управления биосинтезом  $\beta$ -каротина в клетках *D. salina*. Особенно эффективным в отношении накопления в клетках и валового выхода  $\beta$ -каротина является переход от оптимальной температуры (28°) к субоптимальной (20—22°) на фоне высоких (300—400 тыс. эрг/см<sup>2</sup>·с) освещенностей. Такое сочетание факторов может быть, очевидно, эффективно использовано для параметрического управления биосинтезом  $\beta$ -каротина у *D. salina* в условиях интенсивной ее культуры.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Курсанов А. Л., Семенов В. Е. Физиология растений и ее современный этап. Вестн. АН СССР, вып. 4, 27, 1974.
2. Spöehr, Milner H. The chemical composition of *Chlorella* effect of environmental condition. *Plant Physiol.*, 24, 120, 1949.
3. Клячко-Гурвич Г. Л., Семенов В. Е. Физиолого-биохимические аспекты направленного получения ценных метаболитов в условиях интенсивной культуры водорослей. Тр. Моск. о-ва испыт. прир. (Биология автотрофных микроорганизмов), 24, 154, 1966.
4. Жукова Т. С., Клячко-Гурвич Г. Л., Владимирова М. Г., Курносова Т. А. Сравнительная характеристика роста и направленности биосинтеза различных штаммов хлореллы в условиях азотного голодания. II. Образование углеводов и липидов. *Физиол. растений*, 16, 96, 1969.
5. Семенов В. Е., Владимирова М. Г., Цоглин Л. Н., Таутс М. И., Филипповский Ю. Н., Клячко-Гурвич Г. Л., Кузнецов Е. Д., Кованова Е. С., Райков Н. И. Непрерывное управляемое проточное культивирование водорослей и физиолого-биохимическая характеристика продуктивности и эффективности утилизации лучистой энергии хлореллой при длительном интенсивном ее выращивании. В сб.: *Управляемый биосинтез*, 75. «Наука», 1966.
6. Семенов В. Е. Внутриклеточная регуляция и управление биосинтезом микроводорослей. Автореф. докт. дис., Ин-т физиол. растений им. К. А. Тимирязева АН СССР, М., 1975.
7. Семенов В. Е., Владимирова М. Г., Орлеанская О. Б., Райков Н. И., Кованова Е. С. К физиологической характеристике *Chlorella* sp. К при высоких экстремальных температурах. II. Изменение биосинтеза, ультраструктуры и активности фотосинтетического аппарата хлореллы при разобщении клеточных функций экстремальной температурой. *Физиол. растений*, 16, 210, 1969.
8. Семенов В. Е., Клячко-Гурвич Г. Л., Владимирова М. Г., Цоглин Л. Н. Управление биосинтезом хлореллы и проблема воспроизводства пищи в экологических системах жизнеобеспечения. Материалы V Всес. рабочего совещ. по вопросу круговорота веществ в замкнутой системе, 190. Киев, «Наукова думка», 1968.
9. Semenenko V. E., Rudova T. S. On the mechanisms of byosynthesis reorientation in *Chlorella* under the influence of factors limiting cellular division. *Arch. Hydrobiol.* (suppl. 49). *Algological studies*, 15, 185, 1976.
10. Семенов В. Е., Рудова Т. С. Эндогенная регуляция фотосинтеза и сопряженных процессов. V. Влияние митомицина С на деление, рост, фотосинтетическую продуктивность и направленность биосинтеза клеток хлореллы. Материалы VII Всес. рабочего совещ. по вопросу круговорота веществ в замкнутой системе, 131. Киев, «Наукова думка», 1972.
11. Семенов В. Е., Зверева М. Г. Сравнительное изучение перестройки в направленности фотобиосинтеза у двух штаммов хлореллы при разобщении клеточных функций экстремальной температурой. *Физиол. растений*, 19, 229, 1972.
12. Рудова Т. С., Семенов В. Е. Изменение протеолитической активности в клетках хлореллы при перестройке биосинтеза, вызываемой азотным голоданием. В сб.: *Азотный и белковый обмен растений. Тез. докл. Всес. симп.*, 62. Тбилиси, 1978.
13. Семенов В. Е., Рудова Т. С. Влияние циклогексимида на процесс перестройки биосинтеза клеток хлореллы, вызываемый азотным голоданием. *Физиол. растений*, 22, 958, 1975.
14. Масюк Н. П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Teod. и перспективы его практического использования. Киев, «Наукова думка», 1973.
15. Hellebus J. A. Osmoregulation. *Plant Physiol.*, 27, 485, 1976.
16. Loturella A. H., Vadas R. L. Salinity adaptation by *Dunaliella tertiolecta* I. Increases in carbonic anhydrase activity and evidence for a light dependent Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> exchange. *J. Phycology*, 9, 273, 1973.
17. Милько Е. С. Изучение физиологии и пигментообразования зеленой водоросли *Dunaliella*. Автореф. канд. дис., МГУ, 1963.

18. Абдуллаев А. А., Семенов В. Е. Интенсивная культура *Dunaliella salina* Teod. и некоторые ее физиологические характеристики. Физиол. растений, 21, 1145, 1974.
19. Владимирова М. Г., Семенов В. Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. Изд-во АН СССР, 1962.
20. Абдуллаев А. А., Семенов В. Е. Изучение дезинтеграции клеток *Dunaliella salina* Teod. в результате осмотического шока. В сб. Эколого-флористическое изучение водорослей и грибов, 114. Ташкент, «ФАН», 1978.
21. Стиллер Э. Т. Физические методы определения витаминов. В сб.: Биохимия и физиология витаминов, 143. Изд-во иностр. лит., 1952.
22. Семенов В. Е., Абдуллаев А. А., Владимирова М. Г. Введение в интенсивную культуру и управление биосинтезом *Dunaliella salina* как продуцента  $\beta$ -каротина. Тез. докл. научного симп. XI Научно-координационного совещания «Изучение физиологии культивирования водорослей с высоким коэффициентом использования света», 31. Изд. ЛГУ, 1974.
23. Семенов В. Е., Цоглин Л. Н. К разработке метода непрерывного культивирования хлореллы с направленным изменением химического состава. Материалы VI Всес. рабочего совещания по вопросу круговорота веществ в замкнутой системе на основе жизнедеятельности низших организмов, 94. Киев, «Наукова думка», 1969.
24. Sirevag R., Levine R. P. Transcription and translation for carotenoid synthesis in *Chlamydomonas reinhardi*. Planta, 111, 73, 1973.
25. Владимирова М. Г. Ультраструктурная организация клетки *Dunaliella salina* и ее функциональные изменения в зависимости от интенсивности света и температуры. Физиол. растений, 25, 571, 1978.

Поступила в редакцию  
29.XII.1978

---

**PARAMETRIC CONTROL OF  $\beta$ -CAROTENE BIOSYNTHESIS IN  
*DUNALIELLA SALINA* CELLS UNDER CONDITIONS OF INTENSE CULTURE**

**V. E. SEMENENKO, A. A. ABDULLAEV**

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

A study was carried out of the dependence of  $\beta$ -carotene accumulation and total yield in the intense culture of *D. salina* cells on NaCl concentration, light intensity and temperature when nitrogen or magnesium were removed from the medium. A combination of two factors — «suboptimal temperature — high light intensity» appeared to be most effective in relation to the rate of  $\beta$ -carotene accumulation and total production; therefore, that can be used in parametric control of  $\beta$ -carotene biosynthesis in the intense culture of *D. salina*. By employing cycloheximide it was demonstrated that the suboptimal temperature-induced transition of *D. salina* cells to  $\beta$ -carotene synthesis was associated with protein synthesis on 80 S ribosomes.

---