

М.Г.Владимирова, М.И.Таутс, О.И.Феоктистова, В.Е.Семененко:

НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВОДОРΟΣЛЕЙ  
CHLORELLA В СВЯЗИ С ИХ ДЛИТЕЛЬНЫМ ИНТЕНСИВНЫМ  
КУЛЬТИВИРОВАНИЕМ

(Из Института физиологии растений им.  
К.А.Тимирязева АН СССР, Москва, СССР)

В результате многочисленных исследований большого числа ученых разных стран в настоящее время уже не вызывает сомнений перспективности использования для тех или иных практических целей таких автотрофных фотосинтезирующих организмов как одноклеточные зеленые водоросли. Изучение фотосинтетической продуктивности такого типа водорослей как *Chlorella*, *Scenedesmus* и др. позволяет создавать методы получения в больших масштабах биомассы этих организмов (Тамиа, 1957; Муерз, 1953; Чесноков, 1962; Пяневич, 1961; Ничипорович, 1961 и др.).

При этом сейчас уже намечаются и получают развитие два типа промышленного культивирования водорослей:

1 - возделывание водорослей под открытым небом, так называемое массовое культивирование водорослей, и

2 - индустриальный метод высокопродуктивного культивирования водорослей в специальных аппаратах: танках, ферментерах и пр. по типу современных микробиологических производств, но с введением источников света.

Последний способ является перспективным для промышленного производства, прежде всего, ценных метаболитов и препаратов (см. Клячко-Гурвич, Семененко, 1965), а также при разработке биологических систем обеспечения жизни людей в условиях длительных космических полетов (Муерз, 1954; Still, 1960; Семененко, Владимирова, Ничипорович, 1962; Biget, 1962; Ничипорович, 1953). Кроме того, он представляет особый интерес тем, что впервые открывает пути введения процесса фотосинтеза в промышленное инженерно-биологическое производство, то-есть в условия, где до сих пор используются только гетеротрофные микроорганизмы.

Названные два типа культивирования водорослей характеризуются различными способами получения больших количеств биомассы.

В массовых культурах под открытым небом высокие выходы биомассы получают, в основном, за счет использования больших площадей и расчет продуктивности культуры ведется на единицу поверхности (на  $m^2$ ); при выращивании же в закрытых помещениях, в специальных культиваторах или реакторах, существенной оценкой продуктивности культуры является расчет на единицу объема суспензии (на 1 л). В первом случае, при расчете продуктивности культуры не учитываются такие факторы как глубина слоя, общий объем суспензии и, следовательно, реальное количество клеток водорослей, определивших полученную с одного метра поверхности продукцию. При этом продуктивность таких культур под открытым небом в расчете на единицу объема суспензии оказывается весьма незначительной (не выше 0,2 г/л в сутки, см. таблицу), что свидетельствует о низких коэффициентах размножения водорослей в этих условиях, и, по существу, об экстенсивном ведении культур. В то же время для промышленных условий перспективной может быть высокоинтенсивная культура водорослей, именно культура: 1 - обеспечивающая высокую скорость размножения и, при относительно небольшом количестве одновременно культивируемых организмов, дающая за короткий срок высокие выходы биомассы, и 2 - способная длительно функционировать в заданном режиме, сохраняя при этом высокие показатели продуктивности. +)

Вместе с тем, исследователи еще далеко не всегда создают условия для интенсивного роста водорослей и не используют их потенциальные возможности.

В таблице 1 приведены для примера данные по продуктивности культур водорослей, полученные разными авторами при выращивании под открытым небом и в лаборатории, но в пересчете на 1 л суспензии. Как показывают данные, продуктивность в расчете на 1 л суспензии у культур, выращенных под открытым небом очень низкая, а лабораторные культуры различного масштаба

+) Вопросы КПД утилизации лучистой энергии, которые особенно важны, когда речь идет о применении искусственных источников света, являются предметом специального рассмотрения и здесь не затрагиваются.

Таблица 1

Сравнительная характеристика продуктивности водорослей при различных методах культивирования в расчете на единицу объема суспензии (на основании данных различных авторов)

Культура	Условия культивирования	Среднесуточная продуктивность культуры (г сух. в-ва/л. в сутки)	Длительность культивирования (в сутки)	Автор - год
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	<u>Культивирование под открытым небом</u> В полиэтиленовых трубах	0,10	40	Фирма Little, 1953
<i>Chlorella ellipsoidea</i>	В бассейнах	0,20	60	Kanazawa, 1958
<i>Chlorella vulgaris</i>	В бассейнах	0,07-0,14	-	Русина, 1961
<i>Chlorella vulgaris</i>	В бассейнах	0,07-0,20	-	Чесноков, 1962
<i>Chlorella</i> "Стр 5"	В бассейнах	0,15-0,24	60	Пиневич, 1961
<i>Chlorella vulgaris</i>	<u>Лабораторное культивирование</u> В колбах непрерывное освещение 18-21.10 <sup>3</sup> лк, барботаж воздухом с 5% CO <sub>2</sub>	0,067 <sup>+</sup>	15	Pratt, 1940
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	В кольцевых камерах на прямом солнечном свете, барботаж воздухом с 5% CO <sub>2</sub>	2,70	20	Myers, 1951
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	В сосудах на прямом солнечном свете, барботаж воздухом с 5% CO <sub>2</sub>	0,71 <sup>+</sup>	42	Davis, 1953
<i>Scolecodesmus obliquus</i>	В плоских камерах, освещенность 10.10 <sup>3</sup> лк, барботаж воздухом с 5% CO <sub>2</sub>	0,035	20	Krauss, 1954

Продолжение таблицы 1

Культура	Условия культивирования	Среднесуточная продуктивность (г сух. в-ва/л) или (в сутки)	Длительность культивирования (в сутки)	Автор - год
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	<u>Лабораторное культивирование</u> В сосудах, освещенность 10.10 <sup>3</sup> лк, барботаж воздухом с 1% CO <sub>2</sub>	0,34	10	Владимирова, Семеновко, Ничипорович 1962
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	- " -	1,2	10	- " -
<i>Chlorella</i> sp. K	- " -	1,3 <sup>+</sup>	7	- " -
<i>Chlorella</i> sp. K	В реакторе ротационного типа, освещенность 10.10 <sup>3</sup> лк, барботаж воздухом с 1% CO <sub>2</sub>	3,60 <sup>+</sup>	3	- " -
<i>Chlorella</i> sp. K	<u>Специальные условия</u> В реакторе ротационного типа	9,0-10,0 <sup>++</sup>	-	Семеновко, Владимирова, Ничипорович 1962
<i>Chlorella</i> sp. K	Прочная культура с автоматической стабилизирующей чистотой и состава питательной среды	26,0	15	Оригинальные данные
<i>Chlorella</i> sp.	В герметической установке с замкнутым воздушным колупром при начальной высокой (4 млрд/мл) плотности суспензии	20,5 <sup>++</sup>	2	Мелешко, 1964

<sup>+</sup>) Пересчет на сухой вес по плотности суспензии

<sup>++</sup>) Пересчет на сухой вес по количеству поглощенной CO<sub>2</sub>

(включая и приближающиеся к полупроизводственным) могут обладать различной степенью интенсивности роста и биосинтеза биомассы. Наиболее высокая степень интенсификации процесса отмечена у Майерса и др. (Muehr, 1951). В таблице приводятся также некоторые результаты, полученные нами у различных культур водорослей и в различных условиях интенсивной лабораторной культуры (данные частично оригинальные, частично уже использованные в литературе ранее, но при пересчете с плотности суспензии на количество биомассы по соответствующему для каждой культуры коэффициенту). Кроме того, в таблице приведены также наши данные по продуктивности водорослей в условиях непрерывного управляемого проточного культивирования, а также данные, полученные с применением высоких (искусственно сконцентрированных) исходных плотностей суспензии (Мелешко, 1964).

Следует указать, что наиболее правильной характеристикой степени интенсификации процесса культивирования, очевидно, был бы коэффициент размножения, или коэффициент удвоения числа клеток в культуре, так как в противном случае могут быть сделаны неправильные выводы, однако в большинстве работ не приводятся данные, которые позволили бы сделать подобный расчет.

Во всяком случае из таблицы видно, что в определенных условиях может быть получена достаточно интенсивная культура водорослей, обеспечивающая высокие выходы биомассы с 1 л суспензии. Однако, с практической точки зрения, естественно, наибольший интерес представляют не кратковременные опыты, а длительная интенсивная культура. В связи с этим в таблице приведены данные по длительности того или иного эксперимента, из которых видно, что водоросли хотя и подвергались длительному культивированию, однако в условиях мало интенсивного роста.

Вместе с тем, как уже указывалось ранее (Владимирова, Семеновенко, 1962; Владимирова, Семеновенко, Ничипорович, 1962) физиологические характеристики культур оказываются совершенно различными в зависимости от условий культивирования. Более того, в ряде случаев, например при отборе штаммов по продуктивности, при оценке фотосинтетической активности культур, при подборе оптимальной среды были получены прямо противоположные результаты при выращивании водорослей в условиях интенсивной культуры и в условиях, не обеспечивающих их активный рост.

Поэтому при изучении тех или иных вопросов длительной

культуры мы учитывали возможность изменения физиологических свойств водорослей при различных методах культивирования.

Известно, что длительная культура может быть организована в виде проточного культивирования (Phillips, Myers, 1954; Myers, 1959; Семенов, Владимиров, Ничипорович, 1962; Málek, 1964 и др.) методом ресуспензирования клеток в свежую питательную среду (Tamiya, 1957) и методом внесения в ту же культуральную жидкость дополнительного количества питательных солей (Krauss, 1954; Kanazawa et al., 1958) при частичном отборе прирастающей биомассы.

В нашей работе изучение физиологических особенностей водорослей в условиях длительной культуры проводилось при выращивании водорослей в условиях интенсивной лабораторной культуры с дальнейшим пересевом части суспензии, отобранной в период активного роста, на свежую питательную среду (или культуральную жидкость из под культуры от предыдущего цикла выращивания) и последующим выращиванием ее до заданной плотности. Таким образом водоросли многократно повторяли типичную кривую роста обычной непроточной культуры.

Выращивание проводили в сосудах, камерах, реакторах на среде Тамия с нитратным азотом и тройной дозой железа (Кузнецов, Владимиров 1964) при круглосуточном освещении различными источниками света и продуванием воздухом, обогащенным до 1,5-2 %  $\text{CO}_2$  (см. Владимиров, Семенов, 1962).

В опытах использовались различные виды *Chlorella* из коллекции водорослей лаборатории фотосинтеза ИФР АН СССР.

При разработке длительной интенсивной культуры помимо вопросов стабилизации условий освещения, температуры, правильного сочетания этих факторов, снабжения  $\text{CO}_2$  и т.д. существенное значение приобретает также изучение тех условий, которые естественным образом складываются непосредственно в суспензии-состоянии среды, эндогенные изменения в клетках, состояния самой культуры. Поэтому, каким бы методом ни велась длительная культура в любом случае необходимо изучение таких явлений как сезонная периодичность в развитии культуры, появление и воздействие на клетки прижизненных выделений, состав питательного раствора и т.д.

Естественно, прежде всего возникает общий вопрос: могут

ли водоросли в силу своих биологических особенностей длительное время функционировать в таком напряженном темпе, который задается им условиями интенсивной культуры.

Была проведена серия опытов различной длительности, на ряде культур хлореллы при различных вариантах интенсивной культуры. Некоторые из результатов приведены на рис. 1, из которого видно, что при периодическом пересеве на свежую питательную среду культур *Chlorella sp. K*, *Chlorella rupeoidosa* 82, *Chlorella sp. 19H/B* могут культивироваться, интенсивно размножаясь, длительное время, не требуя какого-либо периода покоя.

Другой стороной вопроса о биологических свойствах культур водорослей, возможно несущественных в кратковременных опытах, но которые могут оказаться серьезным препятствием при длительном культивировании, является отмечаемая многими авторами сезонная ритмика в развитии водорослей (Горьнова, Неснова, 1958; Kessler et al., 1962, 1963).

Поскольку в большинстве случаев проявление сезонной периодичности связывают с действием экологических факторов (изменения состава вод, температуры, освещенности), то естественно было бы ожидать снятия этого фактора при выращивании водорослей в константных условиях. Действительно, в только что появившейся работе В.Н.Шапошникова с сотр. (Шапошников, Пшенинова, Максимова и др., 1964) при постоянных условиях среды, света и температуры в интенсивной культуре ряда протококковых водорослей не было обнаружено сезонных изменений продуктивности. В то же время, как уже упоминалось, С.В.Горьнова, выращивая водоросли в колбах на слабом свете в довольно стабильных условиях, получила четкую зависимость интенсивности роста и продуктивности водорослей от времени года. Таким образом вопрос о сезонной периодичности в лабораторных культурах водорослей остался нерешенным. Кроме того, остается полностью неясным, проявляется ли это свойство водорослей в условиях непрерывного ряда последовательных пассажей культуры, поскольку все названные исследования были проведены при ежемесячном взятии в опыт культуры из коллекции.

Для изучения возможных сезонных изменений в длительной культуре хлореллы сравнивали в течение года продуктивность

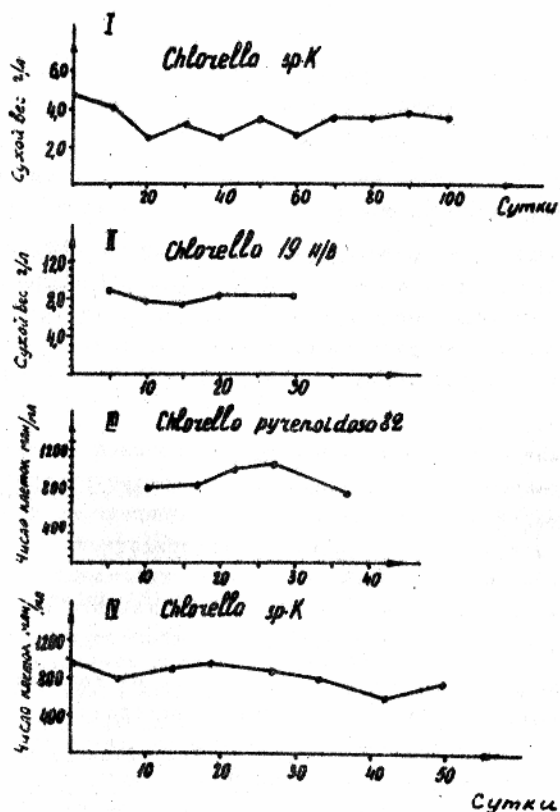


Рис. 1

Характеристика устойчивости продуктивности различных штаммов хлореллы при длительном интенсивном культивировании (по данным анализа на 5-е сутки культивирования в каждом цикле)

I - выращивание в камере,  
 II, III, IV - выращивание в реакторе ротационного типа.

водорослей при выращивании, как и в выше рассмотренных опытах, циклами в условиях интенсивной и неинтенсивной культур.

Инокулятом для каждого последующего цикла служила культура из предыдущего. В условиях интенсивной культуры каждый цикл составлял 7 дней, за этот период накапливалось в среднем 3-4 г

сухой биомассой/л, в условиях неактивной культуры цикла составлял 14 дней, при этом накапливалось не более 0,2 г биомассы/л. Всего было проведено 36 циклов в условиях интенсивной культуры и 20 циклов культура находилась в условиях не обеспечивающих активного роста.

В качестве контроля периодически в тех же условиях выращивали культуру того же штамма, взятую из коллекции с косяка.

Культивирование проводили в кондиционированной камере на Станции искусственного климата ИФР АН СССР, обеспечивающей в течение всего года постоянные температурные условия окружающей среды, при круглосуточном постоянном освещении, стабильном продувании или встряхивании (в зависимости от варианта) культуры.

Проводили изучение двух культур водорослей *Chlorella* sp. K культуры, сравнительно длительное время поддерживаемой в лаборатории и культуры *Chlorella vulgaris* - природного штамма, специально выделенного из природы, непосредственно перед началом исследования, поскольку можно было предполагать потерю сезонной чувствительности водорослей в результате селекции штамма и длительного поддержания его в лаборатории.

Основные результаты приведены на рис. 2. Как видно из рисунка, сезонная ритмика в темпе роста и накопления биомассы, несмотря на постоянство условий, совершенно четко проявилась у обеих культур в условиях неинтенсивного роста, в то же время в условиях интенсивной культуры сезонная периодичность оказалась полностью снятой как у лабораторного, так и у природного штамма. В контрольном варианте (периодический высеv из коллекции) были получены аналогичные результаты (Феохтистова, 1965).

Таким образом, эти данные с одной стороны еще раз подтвердили вывод о том, что в зависимости от условий культивирования могут проявляться различные физиологические свойства культур, а с другой стороны полученные результаты, свидетельствуют о том, что наличие сезонной ритмики в развитии водорослей определяется не изменчивостью или стабильностью внешних условий, а внутренними эндогенными процессами и при длительном культивировании ее можно избежать, обеспечивая условия для интенсивного размножения культуры.

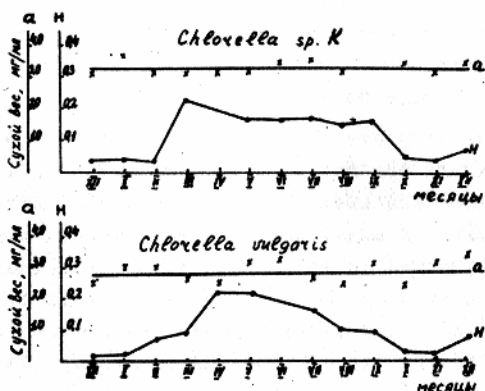


Рис. 2

Характеристика сезонных изменений в продуктивности культур *Chlorella* sp. K (лабораторного штамма) и *Chlorella vulgaris* (природного штамма) при длительном их выращивании (в течение года) в условиях, обеспечивающих активный (а) и слабый (Н) неактивный рост водорослей.

Помимо сезонных изменений в длительной культуре могут проявляться и такие свойства водорослей как самоингибирование, которое может определяться двумя факторами: с одной стороны - вызванным жизнедеятельностью водорослей накоплением физико-химических изменений самой среды по составу солей и рН, приводящих к избыточному содержанию какого-либо из компонентов среды, нарушению ионного равновесия и в результате появления эффекта самоингибирования; с другой стороны - накоплением прижизненных выделений, подобных описанным Р.Праттом (Pratt, 1940 а, б; 1942; 1943) и рядом других авторов.

Ни в том, ни в другом виде явление самоингибирования не могло быть обнаружено в приведенных выше опытах, поскольку культура задолго до выхода на плато, в состоянии активного роста пересевалась на свежую питательную среду. Не обнаружился эффект самоингибирования и в обычной культуре при однократном снятии кривой роста до выхода на плато. При применяемых условиях культивирования торможение роста и выход культуры на плато определялись не накоплением какого-либо элемента в избытке, а напротив, истощением необходимых элементов мине-

реального питания при использовании обычной среды Тамия: железа и азота (Кузнецов, Владимирова, 1964; Владимирова, Кузнецов, 1964). После внесения этих элементов в суспензию наблюдался дальнейший рост водорослей.

Возобновление роста водорослей при внесении недостающих элементов (а также при внесении полного набора солей среды Тамия) указывает одновременно и на отсутствие ингибирующего действия прижизненных выделений. Отметим однако, что при рассматриваемых условиях по ходу роста водорослей происходит некоторое накопление в среде органических веществ (до 200-250 мг/л за цикл культивирования) и проявляется бактерицидные свойства водорослей (Тауто, 1964; Владимирова, 1961; Владимирова, Бавантова, 1961). Аналогичные данные для культур водорослей получены многими другими исследователями.

В отличие от кратковременных опытов при длительном выращивании водорослей до высоких плотностей суспензии и особенно при многократном использовании одной и той же культуральной жидкости наблюдающиеся, возможно в небольших количествах, и не удаляющиеся в кратковременных опытах изменения могут постепенно оказаться в такой концентрации, которая будет оказывать ингибирующее действие на рост водорослей.

Действительно, в первых опытах по длительному выращиванию в камерах культур *Chlorella rupeoides* 82, *Chlorella* ар. 1-14 в одном объеме среды при периодическом частичном отборе биомассы к моменту выхода культуры на плато и некотором разбавлении среды с внесением навесок, соответствующих полному набору солей среды Тамия, водоросли уже после 10-15 дней культивирования заметно замедлили рост и после очередного внесения солей вышли на плато при значительно более низких плотностях суспензии (500 - 600 млн/мл), чем в обычных условиях, а среда к этому времени приобрела яркую буро-желтую окраску. Выращивание на фильтрате из-под такой длительной культуры водорослей, взятых из коллекции, показало, что и в этом случае происходит ингибирование роста: культура также рано прекратила рост и вышла на плато уже при плотности 370 млн/мл против плотности 1100 млн/мл, при которой вышла на плато культура в контрольном варианте на свежей питательной среде.

В дальнейшем анализ, проведенные в специально поставлен-

них длительных опытах по выращиванию *Chlorella* sp. K на фильтрате многократно используемой центрифужной жидкости, полученной от предыдущих циклов культивирования, показали, что основным фактором ингибирования, возникающим в длительной культуре при обогащении среды солями, соответствующими по составу и концентрации полной среде Тамкиля, является совокупность таких факторов, как накопление высоких концентраций иона  $K^+$  и высокое значение рН среды. Хорошо известно, что рН в пределах до 11 не действует угнетающе на рост водорослей. В наших же опытах рН не поднимался выше 9,50. В то же время опыт показал, что культура нормально развивается при высоком содержании калия в среде, но при рН близком к нейтральному, и только сочетание этих двух факторов оказывается ингибирующим для роста водорослей (Таутс, 1964). Следует отметить, что в проведенных опытах не была исключена возможность того, что ингибирующее действие ионов калия при высоком значении рН среды является следствием его физиологического действия на водоросли в том смысле, что в результате неблагоприятных условий среды водоросли выделяют в среду ингибирующие рост продукты жизнедеятельности.

После соответствующей корректировки сред было проведено 11 циклов выращивания хлореллы на одной и той же культуральной жидкости без какого-либо видимого изменения в темпе прироста биомассы и было получено с 1-го литра среды при ее периодическом обогащении элементами питания более 100 г сухого веса биомассы водорослей. При этом, как и в кратковременных культурах в среде шло медленное постепенное нарастание органического вещества, которое, тем не менее не угнетало роста культуры.

На рис. 3 полученные результаты представлены в виде  $K_{инг} = \frac{K_{контр}}{K_{опит}}$ . Кривая 1, идущая на уровне  $K_{инг}$  равной единице, указывает на отсутствие фактора ингибирования. Кривая 2 указывает на резкое возрастание фактора ингибирования в рассмотренных выше опытах при разбалансе среды, достигшем критической величины на 5-ом цикле культивирования. Кривая 3 указывает на другой случай аутоингибирования роста водорослей, рассматриваемый ниже. В опытах, результаты которых отражены на кривых 1 и 2 (рис. 3) также как и при выращивании водорослей в длительной культуре на свежей питательной среде, пересевы из цикла в цикл проводились в период активного роста культуры. В тех же слу-

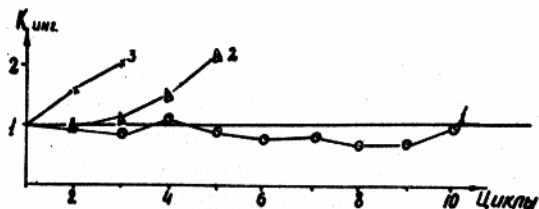


Рис. 3

Зависимость эффекта самонигбирования у водорослей от длительности и условий культивирования (объяснение см. в тексте).

чаях, когда водоросли выращивали на фильтрах из под культур, выведенных на плато, быстро уже на 2-м цикле появлялся ингибирующий фактор, что отражает кривая 3 на рис. 3. Поскольку при этом не наблюдалось разбаланса элементов минерального питания, можно считать, что в таких стареющих культурах накапливается выделяемые водорослями вещества, вызывающие в последующем эффект самонигбирования у водорослей.

Следовательно, при изучении прижизненных выделений при длительном культивировании водорослей, как и в случае сезонной ритмики, мы обнаруживаем полное отсутствие ингибирующего фактора в том случае, когда обеспечен нормальный интенсивный рост водорослей. В тех же случаях, когда интенсивный рост водорослей по каким-либо причинам прекращается (замедление роста при выходе на плато, неблагоприятное воздействие элементов среды) наблюдается эффект самонигбирования у водорослей.

В свете полученных данных особенно важным представляется изучение физиологии минерального питания водорослей с целью поддержания на оптимальном уровне состава среды и pH. В связи с этим было проведено изучение выноса элементов минерального питания из среды при различных условиях культивирования водорослей и в зависимости от состояния культуры.

В настоящем сообщении остановимся на результатах, полученных при изучении закономерности выноса азота. Опыты, проведенные на двух культурах хлореллы *Chlorella pyrenoidosa* 82 и *Chlorella* sp. К показали, что в одних и тех же условиях культивирования закономерности выноса азота одинаковы и обе

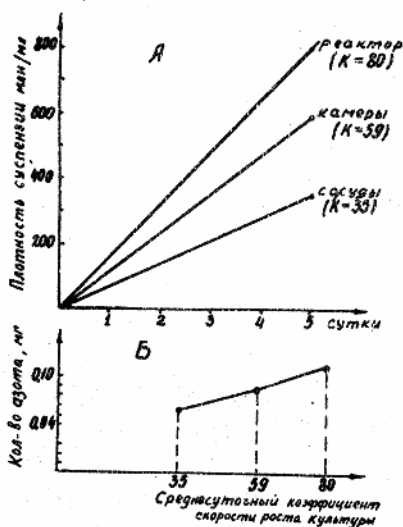


Рис. 4

Зависимость выноса азота из среды клетками *Chlorella* sp. K от степени интенсификации роста культуры.

- А - продуктивность водорослей при различных условиях культивирования  
 Б - вынос азота из среды в расчете на 100 млн клеток  
 К - среднесуточный коэффициент скорости роста культуры

культуры в расчете на клетку потребляли одинаковое количество азота. В то же время вынос азота из среды в расчете на клетку у одной и той же культуры имеет разную величину в зависимости от условий культивирования, что видно на рис. 4. На рисунке представлены результаты 3-х вариантов культивирования *Chlorella* sp. K с различной степенью интенсификации процесса роста, которая может быть охарактеризована как  $\frac{N_t}{N_0 \cdot t} = K_d$ , где  $N_t$  - число клеток на данный момент,  $N_0$  - число клеток в начальный период (засев),  $t$  - число суток от начала опыта,  $K_d$  - коэффициент, характеризующий среднесуточную скорость роста культуры. Наименьшей скоростью роста характеризуется культура, выращенная в сосудах, где  $K_d$  было равно 35, в этом случае за 5 дней

число клеток оказалось равным 350 млн/мл и потребление азота в расчете на 100 млн клеток составило 0,06 мг, тогда как в более интенсивных условиях плотность за этот срок достигла 800 млн/мл,  $K_0 = 80$ , а потребление азота составило 0,111 мг на 100 млн клеток.

Таким образом и в данном случае в зависимости от степени интенсификации физиологическая характеристика культуры, проявляющаяся в особенностях потребления азота, оказывается различной, что может указывать на отличия по направленности метаболизма у культур при длительном их выращивании с разной степенью интенсификации.

Рассмотрение характера потребления азота из среды по ходу роста культуры водорослей показало, что периоду линейного роста культуры соответствует линейный участок потребления азота (рис. 5). Как известно, по ходу роста культуры существенно меняются физико-химические условия среды — убывающий режим минерального питания, повышение плотности суспензии, и связанные с этим изменения светового режима. Тем не менее, потребление азота на клетку на стадии логарифмического роста культур остается величиной постоянной и присущей данным условиям культивирования. По всей видимости, те изменения условий, которые происходят в растущей культуре водорослей, не могут быть сравнены с изменением того комплекса факторов, который определяет

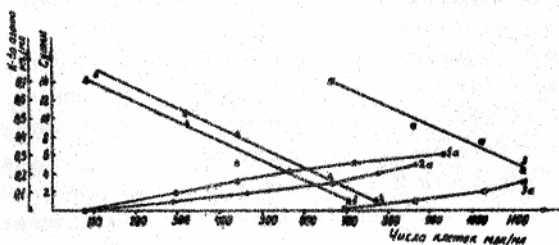


Рис. 5

Характеристика роста и потребление азота культурой *Chlorella* sp. K

- 1, 2, 3 — изменение содержания азота в среде в процессе роста культуры  
 1а, 2а, 3а — изменение числа клеток в процессе роста культуры

степень интенсивности роста культуры и выноса азота на клетку при различных условиях выращивания.

Тот факт, что при данных условиях культивирования по ходу роста культуры практически не меняется характер выноса азота, является весьма существенным при разработке длительной культуры, поскольку во-первых, имеется возможность в процессе длительного культивирования водорослей не проводить постоянный анализ среды, а обогащать ее с достаточной точностью необходимым количеством элементов по расчету, зная лишь исходное количество азота и количество клеток (или биомассы) в суспензии на данный момент времени, что естественно, облегчает ведение длительной культуры, особенно в производственных условиях. Такого рода методика применяется, например, Каназава и др. (Kana-zawa et al., 1958). Во-вторых, линейный вынос азота на значительном участке кривой роста культуры является существенным и потому, что позволяет вести длительное выращивание практически при любой плотности, при всех остальных неизменных параметрах, без опасения, что при этом изменится режим минерального питания культуры. В этом отношении существенно, что на линейном участке роста потребление азота на клетку остается величиной стабильной не только в ходе естественного роста культуры, при убывающем режиме минерального питания по мере увеличения числа клеток в культуре, но и при искусственном доведении концентрации солей до немалой в среде Тамия на высоких плотностях суспензии (рис. 5, кривая 3). Это особенно важно для организации проточного культивирования водорослей.

Предварительное изучение, наряду с другими вопросами, явлений, описанных в данном сообщении, позволило разработать оптимальные режимы длительного высокоинтенсивного непрерывного проточного культивирования с выходом биомассы более 25 г на литр суспензии в сутки (см. таблицу), при этом с применением невысоких (от 200 до 700 млн/мл) плотностей культуры.

Таким образом, вся совокупность рассмотренных данных позволяет сделать вывод о возможности длительной интенсивной культуры хлореллы, обеспечивающей высокий темп размножения клеток и равномерные и достаточно высокие выходы биомассы. Однако при исследовании продуктивности культур и определении оптимальных режимов их культивирования необходимо учитывать физиологические особенности культуры (и отличие данных куль-

турами ответных реакций на различные воздействия) в зависимости от условий культивирования и постановки физиологических экспериментов.

Рассмотренные результаты изучения сезонной периодичности процессов автоингибирования и закономерностей потребления азота в культурах *Chlorella* при различных, отличающихся степени интенсификации роста, условиях культивирования, равно как и ранее приводившиеся нами данные (Владимирова, Семененко, Ничипорович, 1962) о различных физиологических особенностях водорослей в зависимости от условий культивирования вскрывают общую закономерность: явления физиологической разнокачественности культуры в зависимости от степени интенсификации ее развития.

Это явление физиологической разнокачественности скорее всего повидимому, может быть объяснено тем, что с увеличением степени интенсификации развития культур водорослей (темпа их размножения) средний возраст клеток в культуре закономерно уменьшается и популяция оказывается состоящей, хотя и из разновозрастных, но из все более молодых жизнеспособных клеток с присущим им метаболизмом и содержащих минимум продуктов вторичного обмена.

Помимо обще-биологического интереса, выявление у культур водорослей физиологической разнокачественности, стоящей в зависимости от условий культивирования, имеет, как указывалось выше, существенное значение для разработки принципов и режимов высокоинтенсивного культивирования водорослей.

## Л и т е р а т у р а

- Владимирова М.Г. (1961): Микробиология 30, 3: 431
- Владимирова М.Г., Базаитова Л.В. (1961): Микробиология 30, 4: 593
- Владимирова М.Г., Семененко В.Е. (1962): Интенсивная культура одноклеточных водорослей. Изд. АН СССР, Москва
- Владимирова М.Г., Семененко В.Е., Ничипорович А.А. (1962): Проблемы космической биологии, 2: 314
- Владимирова М.Г., Кузнецов Е.Д. (1964): Физиология растений, 2, 5: 827
- Горюнова С.В., Насонова М.В. (1958): Микробиология 27, 2: 193
- Клячко-Гурвич Г.Л., Семененко В.Е. - см. настоящий сборник
- Кузнецов Е.Д., Владимирова М.Г. (1964): Физиология растений 2, 4: 615
- Мелешко Г.И. (1964): Проблемы космической биологии, 3: 410
- Ничипорович А.А. (1961): О производственной культуре одноклеточных водорослей. М., изд. "Знание"
- Ничипорович А.А. (1963): Изд. АН "Космос", 1: 25
- Пиневич В.В. (1961): Всесоюзное совещание по культивированию одноклеточных водорослей. Тезисы докладов.
- Русина О.Н. (1961): Всесоюзное совещание по культивированию одноклеточных водорослей. Тезисы докладов.
- Семененко В.Е., Владимирова М.Г., Ничипорович А.А. (1962): Проблемы космической биологии, 2: 326
- Таутс М.И. (1964): Физиология растений, 2, 2: 247
- Феоктистова О.И. (1965): Физиология растений, 12
- Чесноков В.А. (1962): Вестник ЛГУ, 9, сер. биол., 113
- Шапошников В.Н., Пшенинова М.Н., Максимова И.В. и др. (1964): Микробиология, 33, 2: 221
- Burlew G.S. (1953): Algal culture, from laboratory to pilot plant. Carn. Inst. Wash. Publ. No. 600
- Bigot P.L.: Les systemes biologiques regeneratifs d'oxygene. J. Pysiol. 54, 1: 153-197
- Davis E.A., Dedrick J., French et al. (1953): Carn. Inst. Wash. Publ., No. 600: 105

- Kanazawa G., Fuita Ch. et al. (1958): J. Gen. Appl. Microbiol.  
4: 135
- Kessler E., Langner W. (1962): Die Naturwissensch., 14: 331
- Kessler E., Czygan F.C. (1963): Experientia, 19, 2: 89
- Krauss R.W., Thomas W.H. (1954): Plant Physiol., 29: 205
- Málek et al. (1964): Kontinuální kultivace mikroorganismů.  
Praha
- Myers J., Phillips J.N Jr., Graham J. (1951): Plant Physiol.  
26: 539
- Myers J. (1953): Carn. Inst. Wash. Publ. No. 600, 37
- Myers J. (1954): J. Aviat. Med., 25: 407
- Myers J. (1959): Plant Physiology, 34: 345
- Phillips J.N., Myers J. (1954): Plant Physiology, 29, 2: 148
- Pratt R. (1940): Amer. J. Bot., 27: 52
- Pratt R., Fong J (1940): Amer. J. Bot., 27: 431
- Pratt R. (1942): Amer. J. Bot., 29: 142
- Pratt R. (1943): Amer. J. Bot., 30: 32
- Still E.W. (1960): J. British Interplanetary Soc., 17: 239
- Tamiya H. (1957): Ann. review of plant physiology, 8: 309