

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ им. А.О. КОВАЛЕВСКОГО

БОРОВКОВ
АНДРЕЙ БОРИСОВИЧ



УДК 579:582.26/27:591.176:573.7:574.6

ДИНАМИКА ПИГМЕНТОВ И РОСТА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ
В ХЕМОСТАТЕ НА ПРИМЕРЕ *DUNALIELLA SALINA* TEOD.

03.00.17 – гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание научной степени
кандидата биологических наук

Севастополь - 2008

579:582.24.27 : [591.176 + 591.134]

Диссертация является рукописью

Работа выполнена в Институте биологии южных морей
им. А.О. Ковалевского НАН Украины, г. Севастополь

Научный руководитель: кандидат биологических наук
старший научный сотрудник
Тренкеншу Рудольф Павлович
Институт биологии южных морей НАН Украины,
заведующий отделом биотехнологий и фиторесурсов

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Паршикова Татьяна Викторовна
Киевский национальный университет им. Т. Шевченко,
заведующая кафедрой физиологии и экологии растений

доктор биологических наук, профессор, член-корр. НАНУ
Егоров Виктор Николаевич
Институт биологии южных морей НАН Украины,
заведующий отделом радиационной и химической биологии

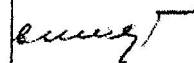
2 2008 г. в 14 часов

Д 50.214.01

ины

Института биологии южных морей
росп. Нахимова, 2.

2008 г.



Гаевская А.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Определяется двумя аспектами:

теоретическим - в настоящее время отсутствуют общепринятые представления о механизмах, определяющих содержание пигментов в клетках микроводорослей при воздействии факторов внешней среды. Существуют лишь отдельные работы, позволяющие количественно описать содержание пигментов для непрерывных культур микроводорослей. Поэтому построение математической модели на основе нового механизма светозависимого содержания пигментов крайне актуально для более качественного и обоснованного описания литературных и оригинальных данных;

практическим - микроводоросли являются источником уникальных биологически ценных веществ, большинство из которых являются пигментами (фикобилины, каротиноиды и т.д.). Определение оптимальных условий для синтеза тех или иных пигментов является основой биотехнологии их массового производства, в том числе получения природного β -каротина и ряда других биологически активных веществ из *D. salina*.

Связь работы с программами, темами, планами. Диссертационная работа выполнена в отделе биотехнологий и фиторесурсов ИнБЮМ НАНУ в рамках исследований по следующим темам: «Разработка научных основ биотехнологий воспроизводства и использования морских ресурсов» (№ 0101U001448, 2003-2005 гг.), «Разработка промышленной технологии интенсивного выращивания морских галообных микроводорослей» (№ 0105U007493, 2005г.), хозяйственному «Разработка промышленной технологии производства галообных микроводорослей» (№ 0105U007493, 2004-2005 гг.). В перечисленных темах диссертант был ответственным исполнителем.

Цель и задачи исследования. Цель работы - теоретически и экспериментально исследовать динамику пигментов и роста морских микроводорослей в хемостате. В соответствии с поставленной целью решали следующие задачи:

- предложить механизм, объясняющий изменение содержания пигментов в клетках морских микроводорослей;
- исследовать влияние интенсивности света на содержание пигментов в клетках морских микроводорослей различных систематических групп в хемостате;
- разработать модель светозависимого содержания пигментов в микроводорослях, адекватно описывающую экспериментальные данные для хемостатных культур;
- исследовать динамику роста микроводорослей в условиях интенсивной культуры на примере *D. salina*.

Объект исследования - альгологически чистая культура *Dunaliella salina* Teod. (штаммы IBSS-1, IBSS-2, IBSS-3) из коллекции отдела биотехнологий и фиторесурсов ИнБЮМ НАН Украины.

Институт биологии
южных морей НАН Украины
Севастополь

Предмет исследования – ростовые и биохимические показатели *D. salina* в зависимости от условий выращивания.

Методы исследования. В работе применяли фотоколориметрические и спектрофотометрические методы определения оптической плотности культур микроводорослей, содержания хлорофиллов и суммарных каротиноидов в биомассе, объемно-весовой метод определения плотности культуры, общепринятые расчетные методы определения скоростей роста культур микроводорослей, методы математической статистики и математического моделирования, экспериментального культивирования.

Научная новизна полученных результатов. Предложен механизм, объясняющий изменение содержания пигментов в клетках морских микроводорослей. Разработана модель светозависимого содержания пигментов в клетках морских микроводорослей. Сделана оценка количества энергии, необходимой для деструкции одной молекулы хлорофилла.

Впервые установлены закономерности роста *D. salina* в периодической, квазинепрерывной и непропорционально проточной культурах при выращивании в открытых культиваторах в лабораторных и промышленных условиях. Разработаны математические модели прогностического типа для определения динамики биомассы и величины урожая для непрерывных культур.

Практическое значение полученных результатов. По результатам экспериментов разработанная модель рекомендуется как составной элемент математических моделей, прогнозирующих первичную продукцию океана в зависимости от условий среды. Также полученные экспериментальные данные важны для оптимизации условий роста микроводорослей и максимизации выхода пигментов в производственных условиях их массового выращивания.

Результаты исследований стали основой для разработки промышленной технологии интенсивного культивирования морских галообных микроводорослей. Данная технология внедрена в практику ООО «Кайлас».

Личный вклад соискателя. Диссертационная работа является самостоятельным научным исследованием. Разработка задач и выбор методов исследований, основной комплекс экспериментальных работ (постановка экспериментов, определение ростовых характеристик культур, динамики содержания хлорофиллов и каротиноидов в биомассе, изменений pH и температуры, статистическая обработка данных), обобщение, анализ и интерпретация полученных данных выполнены автором самостоятельно. В работах, опубликованных в соавторстве, вклад соискателя состоял в постановке научных задач, обосновании актуальности исследований, обосновании методических аспектов исследований, обработке, анализе и интерпретации материала.

Из статей, опубликованных в соавторстве, в диссертации использованы данные, полученные автором самостоятельно. Права соавторов публикаций не нарушены.

Апробация работы. Материалы диссертации были доложены на семинарах отдела биотехнологии и фиторесурсов ИнБИОМ НАНУ (2004 - 2006 гг.), III Международной конференции по актуальным проблемам современной альгологии (г. Харьков, 2005 г.), Научной конференции «Ломоносовские чтения» 2005г. и Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2005» (г. Севастополь, 2005 г.), IV Всеукраинской научно-практической конференции молодых ученых по проблемам Чёрного и Азовского морей «Понт Эвксинский – IV» (г. Севастополь, 2005 г.), XII съезде украинского ботанического общества (г. Одеса, 2006 г.), Международной научной конференции, посвященной 135-летию Института биологии южных морей: Проблемы биологической океанографии XXI века (г. Севастополь, 2006 г.), Международной конференции молодых ученых-ботаников: Актуальные проблемы ботаники и экологии (г. Киев, 2007), V Всеукраинской научно-практической конференции молодых ученых по проблемам водных экосистем «Понт Эвксинский – V» (г. Севастополь, 2007 г.), Международной конференции молодых ученых: Биология: от молекулы до биосферы (г. Харьков, 2007).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 19 научных работ (две без соавторов), из которых: статьи в специализированных научных изданиях, рекомендованных ВАК Украины – 10, работы в сборниках статей, материалах и тезисах национальных и международных конференций – 9.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 160 страницах машинописного текста, состоит из введения, шести разделов, выводов, списка литературы (216 наименований), иллюстрирована 17 таблицами и 36 рисунками.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В разделе представлен анализ опубликованных данных о видах и функциях пигментов микроводорослей, обсуждается влияние различных факторов среды (освещенность, обеспеченность элементами минерального питания, температура, pH и др.) на содержание пигментов в клетках микроводорослей. Отражены различные адаптации пигментного аппарата к варьирующим условиям среды. Приводятся наиболее известные математические модели, описывающие зависимость относительного содержания хлорофилла в клетках микроводорослей от факторов среды и дается их анализ.

Большая часть разработанных на сегодняшний день моделей имеет эмпирический характер, а для лучшего понимания путей адаптации пигментной

системы необходимо построение моделей на основе физиологических механизмов, учитывающих влияние различных факторов окружающей среды и их комбинаций.

Первым шагом в создании комплексной теории, учитывающей взаимодействия факторов внешней среды, влияющих на содержание пигментов в клетках микроводорослей, является построение математической модели, рассматривающей в качестве ведущего фактора световое обеспечение клеток.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Методы и условия выращивания. Экспериментальные работы выполняли на базе отдела биотехнологий и фиторесурсов ИнБИОМ НАНУ и предприятия «Кайлас» (Крым). В работе использовали модифицированные питательные среды Тренкеншу и Ben-Amotz. В зависимости от поставленных задач выращивание дуналиеллы осуществляли методами накопительной, квазинепрерывной и непропорционально проточной культуры. В качестве инокулята использовали штаммы *D. salina* IBSS-1, IBSS-2 и IBSS-3 из коллекции ИнБИОМ НАНУ. Инокулят вносили в культиваторы с таким расчетом, чтобы начальная плотность во всех вариантах опыта была одинаковой ($\approx 0,2$ г АСВ/л).

В процессе выращивания культура *D. salina* непрерывно снабжалась газовой смесью с концентрацией углекислоты, обеспечивающей оптимальную pH среды (8 - 9 ед.). Эксперимент проводился на люминистатах с лампами ЛБ-40, ЛБ-80, ДРЛ-700 которые позволяли устанавливать освещенность рабочей поверхности культиваторов от 4 до 31 кЛк (от 12 до 95 Вт/м²). Температура стабилизировалась на заданном уровне скоростью потока охладителя в водяной рубашке фотобиореакторов.

В условиях производства культиваторами служили прямоугольные бассейны 2 × 2,5 м из пищевой полиэтиленовой пленки толщиной 150 мкм, уложенной на выравненную поверхность грунта и закрепленной на ограждающих конструкциях с помощью деревянных планок. Водоросли выращивали при естественном освещении. Максимальная освещенность в географический полдень (12:30) достигала 110 кЛк. Суточная температура колебалась в пределах 24–36 °C и 16–28 °C. Объем культуры в каждом культиваторе составлял 250 л, при высоте слоя раствора 5 см. Культуры постоянно перемешивали с помощью электронасоса «Струмок». Суспензии микроводорослей барботировали газовой смесью с помощью компрессора «Maxima».

Методы измерений и анализов. Рост культур регистрировали фотометрическим методом по оптической плотности суспензии микроводорослей в области 750 нм, измеряемой на фотоэлектроколориметре КФК-2. Число клеток определяли в камере Горяева. Освещенность на поверхности культуры регистрировали при помощи люксметра Ю-116. pH среды контролировали при помощи иономеров pH-150.

Определения содержания в среде нитратов, нитритов и фосфатов производили в соответствии со стандартными гидрохимическими методиками. Содержание абсолютно сухого вещества (АСВ) определяли объемно-весовым методом. Содержание пигментов определяли спектрофотометрическим методом. Пигменты экстрагировали из клеток 100 % ацетоном. Спектры экстрактов пигментов промеряли на регистрирующем спектрофотометре СФ-2000 в диапазоне длин волн 400 – 800 нм с шагом 0,1 нм. Полученные данные усредняли с шагом 1 нм и сглаживали по методу Савицкого-Галлея. Расчет концентраций пигментов проводили по формулам, предложенным Holm и Wettstein по значениям оптической плотности на длинах волн, соответствующих максимумам поглощения соответствующими пигментами.

МОДЕЛЬ СВЕТОЗАВИСИМОГО СОДЕРЖАНИЯ ПИГМЕНТОВ

Модель основана на следующем положении. Фотосинтетический пигмент способен поглотить определенное количество квантов света – летальную дозу (или Дж энергии, так как кванты могут нести различное количество энергии) после чего разрушаются. Параллельно в клетках идет постоянный синтез новых пигментов. Доля разрушенных пигментов к наблюдаемому будет определяться отношением времени нахождения в культиваторе ко времени, необходимому для получения летальной дозы одним пигментом. Время нахождения в культиваторе обратно пропорционально скорости потока, а доза поглощенной энергии определяется поверхностной освещенностью культуры и временем нахождения в культиваторе.

Таким образом, летальную дозу можно представить, как произведение интенсивности света, полученной одной молекулой пигмента, на время, в течение которого происходило поглощение. Интенсивность света, приходящаяся на одну молекулу пигмента, будет определяться концентрацией пигмента.

По причине лимитирования роста культуры только одним фактором и относительной простоты математического описания происходящих процессов используем теорию хемостата. Хемостат – система культивирования организмов с постоянным объемом рабочей области и скоростью потока среды. Рост водорослей детерминирован только одним фактором, находящимся в лимите. В нашей модели таким фактором является свет. Скорость потока в такой системе определяется отношением объема потока ко времени. Соответственно, среднее время вытеснения, в течении которого клетки находятся под действием света в культиваторе, обратно пропорционально скорости потока. Соответственно, чем меньше скорость роста (потока), то есть чем дольше пигменты находятся под воздействием света, тем большее их количество разрушится.

При стационарном процессе (непрерывная культура) величина относительного содержания пигмента в биомассе водоросли определяется отношением установившихся концентраций пигмента и биомассы. Отношение содержания пигмента к максимально возможному (без процесса деструкции) определяется отношением концентраций пигментов: наблюдаемых и максимальных. Наблюдаемая концентрация определяется балансом синтезированных и разрушенных пигментов. Сведение математических форм записи происходящих процессов в единое целое приводит к следующей математической модели светозависимого содержания пигментов в клетках микроводорослей с учетом скорости роста:

$$\beta = \beta_{\max} \frac{\mu \cdot F_d}{\mu \cdot F_d + I_a},$$

где β – относительное содержание пигмента в биомассе (%), $\beta_{\max}$ – коэффициент, максимальное содержание пигмента в биомассе (%), μ – удельная скорость роста (сут^{-1}), F_d – коэффициент, летальная (деструктивная) доза световой энергии для пигмента, I_a – интенсивность освещения (Вт/м^2).

Применение данной модели ограничивается плотностью непрерывной культуры микроводорослей, при которой хеостат стабилен: $B \in (B_b; B_H)$, с соответствующим ограничением по удельной скорости роста $\mu \in (\mu_b; \mu_H)$, и освещенностями превышающими компенсационный пункт фотосинтеза: $I_a \in (I_{\min}; I_{\max})$.

где B_b – плотность культуры микроводорослей в начале линейной фазы накопительной культуры, B_H – плотность культуры микроводорослей в конце линейной фазы накопительной культуры, μ_b – удельная скорость роста культуры в конце линейной фазы, μ_H – удельная скорость роста в начале линейной фазы накопительной культуры, $I_{\min}$ – освещенность, соответствующая компенсационному пункту фотосинтеза, $I_{\max}$ – освещенность, соответствующая пределу жизнедеятельности клеток микроводорослей.

Таким образом, разработанная математическая модель светозависимого содержания пигментов в клетках микроводорослей описывает всё множество стационарных состояний системы в вышеотмеченных пределах, что составляет 100% случаев для хеостатной культуры.

СВЕТОЗАВИСИМОЕ СОДЕРЖАНИЕ ПИГМЕНТОВ

Описание экспериментальных данных (применение модели). Используя литературные данные по содержанию хлорофилла в микроводорослях при различных интенсивностях освещения и удельных скоростях роста с помощью метода наименьших квадратов, можно рассчитать коэффициент F_d и $\beta_{\max}$ для различных видов водорослей (табл. 1).

Таблица 1

Коэффициенты максимального содержания и летальной дозы энергии для хлорофилла-а культур микроводорослей различных отделов

Вид	$\beta_{\max}$, % ACB	F_d , Дж· $86400^{-1} \cdot \text{м}^{-2}$	F_d , Дж· м^{-2}	R^2
<i>Platymonas viridis</i>	1,35	198,10	17115840	0,50
<i>Synechococcus elongatus</i>	2,18	1600,10	138248640	0,86
<i>Chlorella vulgaris</i>	3,82	578,67	49997088	0,91
<i>Skeletonema costatum</i>	0,06	7,43	641952	0,90

* 86400^{-1} – нормирующий коэффициент, позволяющий использовать в расчетах удельную скорость роста микроводорослей, выраженную в единицах сут^{-1} .

Подставив расчетные коэффициенты в уравнение математической модели, получим в графическом виде некоторую поверхность, демонстрирующую зависимость β от интенсивности освещенности и удельной скорости роста (рис. 1). Графики демонстрируют, что с ростом освещенности содержание хлорофилла в клетках падает. Уменьшение удельной скорости роста водорослей (удельной скорости потока в хеостате) вызывает такой же эффект, так как время воздействия света на пигменты при этом увеличивается. Из приведенных данных следует, что с помощью модели можно прогнозировать содержание пигментов не только в морских микроводорослях (*P. viridis*, *S. elongatus*, *Sk. costatum*), но и в пресноводных (*Ch. vulgaris*).

Светозависимое содержание пигментов в клетках *Dunaliella salina* в хеостате. Природная среда обитания характеризуется неоднотипностью и постоянно изменяющимися световыми условиями, как интенсивности света, так и спектрального состава. Тем не менее, растения живут в различных световых условиях благодаря их способности адаптироваться. В результате адаптации к свету происходит структурно-функциональная перестройка фотосинтетического аппарата, направленная на более эффективное использование энергии светового потока. Концентрация пигментов в клетках является важнейшим показателем, который характеризует способность растительных клеток поглощать световую энергию.

Литературные данные по содержанию пигментов в *D. salina* получены при различных условиях разными исследователями и не сравнимы между собой. Исследования, которые бы проводились с плотными («светопоглощающими») культурами *D. salina* при освещенностях близких к компенсационному пункту фотосинтеза, в литературе не представлены. Такого рода работы представляют практический интерес для прогнозирования первичной продукции

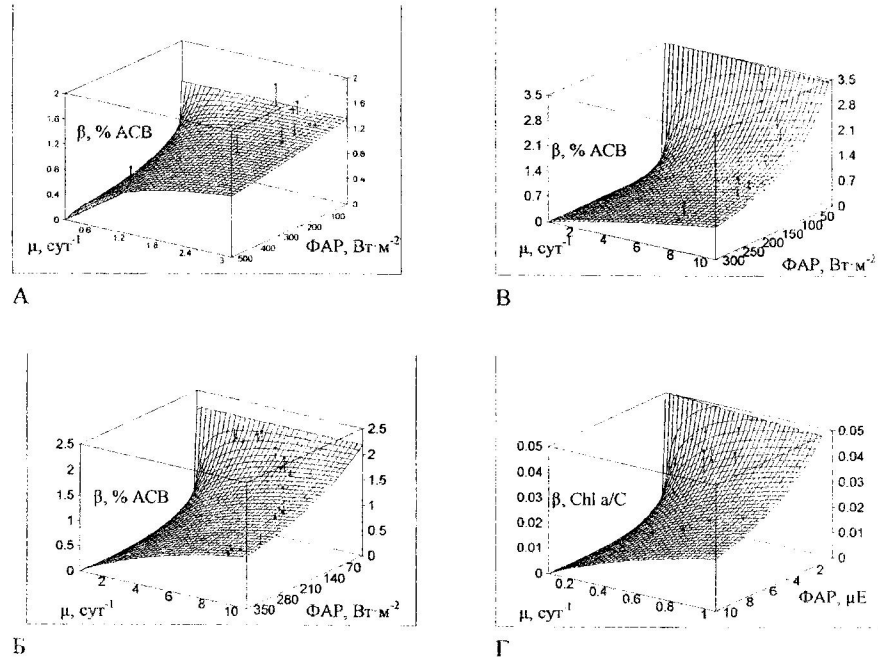


Рис. 1. Зависимость содержания хлорофилла-а от интенсивности освещения и удельной скорости роста в хемостатной культуре микроводорослей различных отделов: А - *Platymonas viridis*, Б - *Synechococcus elongatus*, В - *Chlorella vulgaris*, Г - *Skeletonema costatum*. Поверхность – расчет, точки – эмпирические данные.

водосмов, для получения максимальных количеств пигментов хлорофильной природы и повышения КПД утилизации световой энергии микроводорослями. Для получения повышенного количества каротиноидов, напротив, требуются условия высокой освещенности. Градиент освещенности и был создан в опыте для оценки потенциальных возможностей накопления пигментов клетками дуналиеллы. Полученное минимальное и максимальное относительное содержание пигментов (1,74 и 5,06 % ОВ хлорофилла-а; 2,07 и 5,47 % ОВ суммарных каротиноидов) свидетельствует о возможности получения в промышленных условиях следующих количеств пигментов: 0,15 - 0,16 г·м⁻²·сут⁻¹ хлорофилла-а и 0,05 - 0,25 г·м⁻²·сут⁻¹ суммарных каротиноидов (табл. 2).

Работы по светозависимому содержанию пигментов проводятся обычно исследователями при удельных скоростях роста микроводорослей, превышающих 1 сут⁻¹, когда влияние фактора скорости роста незначительно и может маскироваться ошибками измерений. В природных популяциях такие высокие скорости роста представлены крайне редко и в течение коротких временных отрезков вследствие лимитирования роста водорослей нехваткой биогенных элементов или световой энергии.

Таблица 2

Динамика содержания пигментов в клетках *Dunaliella salina* в зависимости от освещенности и удельной скорости роста

№ культ.	ФАР ₀ , Вт/м ²	μ, сут ⁻¹	β _{chl a} , % ОВ	β _{chl b} , % ОВ	β _{chl a+b} , % ОВ	β _{sum karot} , % ОВ	В, г/л
1	94,53	0,4	3,73 ± 0,13	1,02 ± 0,07	4,75 ± 0,14	2,67 ± 0,72	0,26
2	75,62		4,08 ± 0,08	1,12 ± 0,09	5,20 ± 0,15	2,23 ± 0,44	0,27
3	56,72		4,00 ± 0,13	1,14 ± 0,10	5,14 ± 0,22	2,20 ± 0,29	0,29
4	37,81		4,72 ± 0,05	1,26 ± 0,06	5,98 ± 0,07	2,30 ± 0,03	0,26
5	18,91		4,22 ± 0,31	1,19 ± 0,17	5,41 ± 0,47	2,07 ± 0,17	0,25
1	94,53	0,3	2,73 ± 0,34	0,87 ± 0,10	3,60 ± 0,42	5,09 ± 0,28	0,43
2	75,62		3,52 ± 0,44	1,21 ± 0,18	4,73 ± 0,59	5,47 ± 0,18	0,45
3	56,72		3,62 ± 0,44	1,29 ± 0,10	4,91 ± 0,51	5,14 ± 0,16	0,49
4	37,81		3,88 ± 0,22	1,33 ± 0,11	5,21 ± 0,32	3,54 ± 0,05	0,44
5	18,91		5,06 ± 0,36	2,17 ± 0,29	7,23 ± 0,57	3,01 ± 0,36	0,39
1	94,53	0,2	2,19 ± 0,10	0,58 ± 0,07	2,76 ± 0,16	5,43 ± 0,36	0,52
2	75,62		2,30 ± 0,32	0,62 ± 0,10	2,93 ± 0,42	3,98 ± 0,46	0,53
3	56,72		3,10 ± 0,47	0,75 ± 0,09	3,84 ± 0,55	4,24 ± 0,61	0,53
4	37,81		3,73 ± 0,16	1,24 ± 0,12	4,96 ± 0,23	3,57 ± 0,23	0,50
5	18,91		3,77 ± 0,24	1,33 ± 0,11	5,10 ± 0,29	2,52 ± 0,24	0,45
1	94,53	0,1	1,87 ± 0,26	0,43 ± 0,16	2,30 ± 0,29	4,19 ± 0,66	0,71
2	75,62		1,74 ± 0,37	0,47 ± 0,19	2,21 ± 0,67	3,49 ± 0,56	0,68
3	56,72		2,07 ± 0,28	0,53 ± 0,15	2,60 ± 0,39	3,75 ± 0,53	0,54
4	37,81		2,62 ± 0,22	0,48 ± 0,15	3,10 ± 0,36	3,90 ± 0,35	0,38
5	18,91		2,42 ± 0,20	0,49 ± 0,17	2,91 ± 0,36	2,74 ± 0,13	0,24

Использование непрерывных культур с низкими ($\mu < 1 \text{ сут}^{-1}$) удельными скоростями роста, позволяет определить точные закономерности совместного влияния освещенности и скорости роста на содержание пигментов в клетках водорослей.

Определения содержания пигментов в биомассе водорослей проводили при установившемся стационарном динамическом равновесии, когда все удельные скорости равны, в том числе удельные скорости роста и протока, на уровне 0,1; 0,2; 0,3 сут⁻¹. Используя метод наименьших квадратов, определили коэффициенты Fd и $\beta_{\max}$ для хлорофиллов a , b и их суммы. По этим коэффициентам составили прогноз концентрации пигментов для стационарного состояния хемотропной культуры при удельной скорости роста 0,4 сут⁻¹. Изменили скорость протока среды на соответствующую величину и по достижению стационара определили концентрации пигментов. Провели сравнение с расчетными значениями.

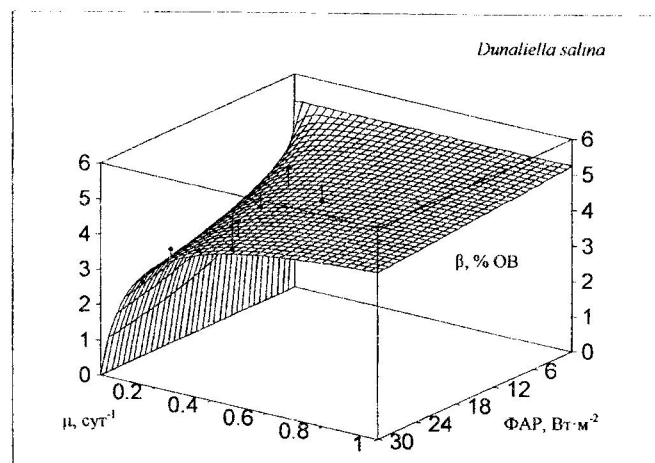


Рис. 2. Зависимость относительного содержания хлорофилла- a от интенсивности освещения и удельной скорости роста в биомассе *Dunaliella salina* в хемотропной культуре. Поверхность – расчет, точки – эмпирические данные.

Коэффициенты максимального содержания пигментов
и летальной дозы энергии для хлорофиллов *Dunaliella salina*

Коэффициент	chl a	chl b	chl $a+b$
$\beta_{\max}$, % OV	$5,95 \pm 0,12$	$2,27 \pm 0,05$	$8,33 \pm 0,16$
Fd , Дж·86400 ⁻¹ ·м ⁻²	$101,6 \pm 1,12$	$24,03 \pm 0,27$	$120,75 \pm 1,33$
Fd , Дж·м ⁻²	8570110	3733697	12303808
fd , Дж (на 1 молекулу)	$10 \cdot 10^{-14}$	$18 \cdot 10^{-14}$	$12 \cdot 10^{-14}$

Анализ приведенных графиков свидетельствует о том, что с увеличением интенсивности освещения содержание пигментов в биомассе уменьшается. Снижение удельной скорости роста оказывает такой же эффект. Повышение скорости роста вызывает повышение доли пигментов в биомассе, так как они меньшее время находятся под воздействием света и, соответственно, меньшее число молекул пигментов получают летальную дозу ФАР и разрушаются. Приведенные эмпирические зависимости содержания пигментов от поглощенной дозы энергии света и скорости роста совпадают с результатами математического анализа разработанной модели.

Математически описать светозависимое содержание каротиноидов в биомассе весьма затруднительно, так как данные пигменты участвуют в неспецифическом клеточном ответе на воздействие стрессовых факторов. Но в управляемых условиях с поддержанием физико-химических факторов среды стабильными оценить влияние света на аккумуляцию клетками каротиноидов представляется более вероятным. Рис. 3 подтверждает это, так как эмпирические данные явно описываются гиперболической зависимостью с интенсивностью света в качестве фактора насыщения, определяющего максимально возможное содержание каротиноидов в данных условиях. Расчеты свидетельствуют, что зеленая (активно растущая) культура *D. salina* способна накапливать до 6 % суммарных каротиноидов.

Разработанная модель позволяет рассчитать ряд параметров процесса фотосинтеза: количество энергии, необходимое для разрушения одной молекулы пигмента; время оборота пигмента – что подтверждает корректность теоретических предположений.

Определяемый при аппроксимации экспериментальных данных коэффициент летальной дозы является показателем энергии, необходимой для разрушения одной молекулы пигмента хлорофилла. Учитывая молекулярную массу молекулы пигмента и число Авогадро, данный коэффициент, вычисленный для определенного количества пигмента, можно легко пересчитать на число молекул и затем привести к энергии, необходимой для разрушения одной молекулы пигмента. Для культуры *D. salina* количество энергии, необходимой для деструкции одной молекулы хлорофилла- a , оказалось равным $10 \cdot 10^{-14}$ Дж. Для проверки истинности расчетов определили летальную дозу энергии для хлорофилла- a культуры *Platymonas viridis* по литературным данным. Коэффициент также был равен $10 \cdot 10^{-14}$ Дж.

Оценить распределение между молекулами пигментов поглощенной энергии света довольно проблематично в связи с процессами её перераспределения между этими молекулами и рассеяния в виде тепла и флуоресценции.

Установлено, что интегральный удельный показатель поглощения света для взвеси микроводорослей при поверхностных концентрациях хлорофилла, не

превышающих $0,2 \text{ г/м}^2$, мало зависит от вида источника света и приблизительно равен $2,8 \text{ м}^2/\text{г}$. Так как в эксперименте интегральный удельный показатель поглощения света не превышает $0,2 \text{ г/м}^2$, а вероятность пребывания отдельных клеток на различных глубинах плоскопараллельного слоя взвеси *D. salina* одинакова вследствие барботажной культуры, то можно найти среднюю пространственную освещенность хлорофилла. Применение данного метода расчета поглощенной энергии света даёт при расчетах значение F_d для хлорофиллов *a* и *b* *D. salina* равное $292 \text{ Дж} \cdot 86400^{-1} \cdot \text{м}^{-2}$ ($3,74 \text{ Дж}$ на 1 усредненную молекулу хлорофиллов *a* и *b* или $1,31 \text{ Дж}$ на 1 молекулу хлорофилла *a* и $3,4 \text{ Дж}$ на 1 молекулу хлорофилла *b*) и $R^2=0,92$ при $P=0,95$ с более точным описанием теоретическими кривыми экспериментальных точек.

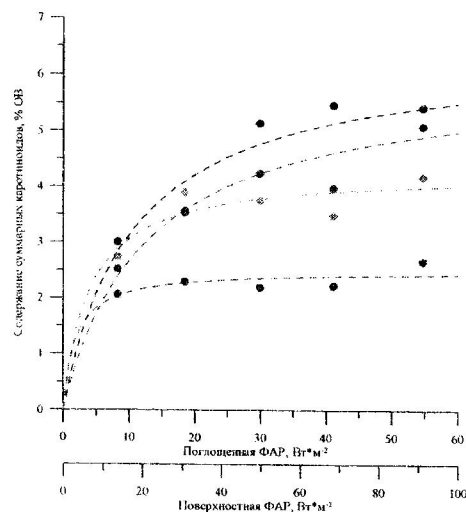


Рис. 3. Зависимость относительного содержания суммарных каротиноидов в клетках *Dunaliella salina* от освещенности при различных значениях удельной скорости роста. Линии – расчет, точки – эксперимент.

Применяемая модель позволяет рассчитать также время оборота пигмента – время распада и синтеза заново из пизкомолекулярных соединений. Из литературных данных, полученных для высших растений, известно, что время оборота хлорофилла составляет 5–10 суток. Для непрерывной культуры дуналиеллы в пределах условий эксперимента получен диапазон времени оборота хлорофилла от 5 до 20 суток в зависимости от удельной скорости роста.

Полученный график демонстрирует соответствие расчетных (линии) и эмпирических (точки) значений относительного содержания пигментов в клетках *D. salina* при различных значениях величин интенсивности освещения и удельной скорости роста. Поиск коэффициентов математической модели показал высокие значения коэффициентов детерминации ($R^2=0,92$ при $P=0,95$) найденных коэффициентов F_d и β_{max} (табл. 3) эмпирическими данными. Определенное высокое соответствие расчетных и экспериментальных значений позволяет утверждать о работоспособности предложенной математической модели и верности представлений, заложенных в её основу.

ЗАКОНОМЕРНОСТИ РОСТА *DUNALIELLA SALINA* В УСЛОВИЯХ КУЛЬТУРЫ

Рост в смешанной культуре. Условия стерильности при промышленном открытом способе культивирования обычно не соблюдаются, что приводит к постоянному внесению в культиваторы других микроводорослей. Это обстоятельство вынуждает исследовать рост смешанной культуры и управление им для приведения культуры к альгологически чистой. Цель эксперимента состояла в изучении возможности культивирования зеленой галобной микроводоросли *D. salina* в смешанной культуре. Повышение солёности среды до 120 г/л , понижение суточной температуры от оптимальных $25-35^\circ\text{C}$ до $18-28^\circ\text{C}$, применение непропорционально-проточного метода культивирования обеспечивают поддержание культуры *D. salina* альгологически чистой. Снижение стрессового воздействия какого-либо из факторов к оптимальному значению позволит получить стабильное сообщество из культур *D. salina*, цианобактерий и диатомей.

Потребление азота и фосфора микроводорослью *Dunaliella salina* при различных режимах культивирования. Важным показателем использования питательных субстратов является экономический коэффициент, позволяющий оценить потребности биологического объекта в субстрате.

Во всех опытных образцах рост культуры *D. salina* на накопительном этапе имел типичную S-образную форму. Величина максимальной продуктивности в среднем составляла $0,5 \text{ г ОВ} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$, а стационарная плотность – $4-4,3 \text{ г ОВ} \cdot \text{л}^{-1}$. На квазинепрерывном этапе плотность культуры падала, и достигала стационарного динамического равновесия в зависимости от заданных скоростей протока.

В течение экспоненциальной фазы роста происходило незначительное уменьшение концентрации азота, а на линейной фазе концентрация азота интенсивно снижалась до нулевого значения. Рост культуры продолжался еще четыре дня, что свидетельствует об использовании внутриклеточных запасов азота. С началом квазинепрерывного режима происходило систематическое внесение биогенов в

культуру, и, в зависимости от скорости потока, концентрация азота в среде увеличивалась и достигала стационарного уровня.

В первые сутки концентрация фосфора в суспензии резко упала, далее наблюдалось линейное снижение до нулевого значения. На квазинепрерывном этапе концентрация фосфора увеличивалась и фактически достигла первоначального уровня.

Величины экономического коэффициента для культуры *D. salina* по азоту и фосфору на линейной фазе роста и соответствующем ей по плотности квазинепрерывном режиме составили 16,6 г ОВ / г N и 166,6 г ОВ / г P, соответственно. Таким образом, величина отношения поглощения N:P равняется 10 на линейной фазе роста и квазинепрерывном режиме и 5 – в целом, при накопительном культивировании.

Рассчитанный экономический коэффициент для азота и фосфора свидетельствует о возможности получения 4,3 г органического вещества *D. salina* с 1 л питательной среды Тренкеншу.

Dunaliella salina Teod. IBSS-2 – перспективный штамм для промышленного культивирования. Для осуществления биологического синтеза ценных химических соединений на основе промышленного культивирования одноклеточных водорослей важнейшую роль играет параметрическое управление процессами жизнедеятельности продуцентов.

Принцип управления биохимическим составом базируется не только на создании оптимальных условий культивирования, но и на различных способах разобщения (в основном, химического) клеточных функций деления и фотосинтеза. Физиологической основой этого метода является различная чувствительность (устойчивость) к экстремальным воздействиям функции хлоропласта и процессов, связанных с прохождением митотического цикла клеток. 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. Это приводит к переключению альтернативных путей преобразования продуктов восстановления углерода в сторону накопления запасных веществ (триглицеридов, полисахаридов, каротинов), природа которых обусловлена генетическими свойствами штамма. От последних также зависит максимально возможное количество запасаемого вещества, например, β -каротина.

Условия индуцирования гиперсинтеза β -каротина вызвали повышение доли каротиноидов у IBSS-2 на 11 %, у IBSS-1 – в 2 раза и у IBSS-3 – почти в 3 раза по сравнению с исходными. Это свидетельствует о генетической детерминации высокого содержания каротиноидов у IBSS-2 и IBSS-3, по сравнению с IBSS-1, и узкой нормы реакции на воздействия окружающей среды у IBSS-2. Из 3 исследованных штаммов как

зеленая, так и оранжевая форма штамма IBSS-2 отличаются наибольшим содержанием каротиноидов, как в биомассе, так и в пересчете на объем раствора.

Таблица 4

Содержание пигментов в клетках и в объеме культуры *Dunaliella salina* Teod.

Штамм	«Зеленая форма»		«Оранжевая форма»	
	Хлорофилл а	Общие каротиноиды	Хлорофилл а	Общие каротиноиды
	% ACB		% ACB	
IBSS-1	1,40	0,30	-	0,60
IBSS-2	1,48	1,80	-	2,03
IBSS-3	0,10	0,50	-	1,40
	г·л ⁻¹		г·л ⁻¹	
IBSS-1	0,018	0,004	-	0,008
IBSS-2	0,015	0,018	-	0,021
IBSS-3	0,001	0,003	-	0,010

Таблица 5

Выход каротиноидов при двухнедельном накопительном культивировании *Dunaliella salina* Teod. в одно- и двухстадийной системе культивирования.

Штамм	Одностадийный процесс	Двухстадийный процесс
	Содержание каротиноидов, г·л ⁻¹	
IBSS-1	0,008	0,008
IBSS-2	0,036	0,021
IBSS-3	0,006	0,010
	Выход каротиноидов, г·м ⁻² ·сут ⁻¹	
IBSS-1	0,08	0,08
IBSS-2	0,36	0,21
IBSS-3	0,06	0,10

Согласно литературным данным, выход каротина значительно больший из зеленой биомассы при ее активном росте, чем из оранжевой – за счет быстрого прироста клеток. Но штамм IBSS-1, проявив наилучшие ростовые характеристики, по содержанию каротиноидов продемонстрировал наименьшие показатели. По завершении

ростовой стадии культурам микроводоросли *D. salina* требуется неделя для второй стадии — накопления каротиноидов.

При одно- и двухстадийной системе культивирования для штамма IBSS-1 выход каротиноидов одинаковый. При двухстадийной системе количество каротиноидов у штамма IBSS-3 на 40 % выше, чем при одностадийном процессе. Для штамма IBSS-2 одностадийный процесс более выгоден в связи с высокими продукционными характеристиками роста при высоком содержании каротиноидов в зеленой биомассе. Из трех исследованных штаммов выход каротиноидов в абсолютных значениях наибольший у IBSS-2: 0,36 или 0,21 г·м⁻²·сут⁻¹.

Продуктивность микроводорослей *Spirulina platensis* и *Tetraselmis viridis* при использовании различных методов культивирования. В настоящее время на практике применяются следующие методы культивирования: накопительный, непрерывный, непропорционально-проточный, квазинепрерывный. С теоретической точки зрения, перечисленные методы можно рассматривать как частные случаи квазинепрерывного. Это дает возможность использовать в математических расчетах теорию роста микроводорослей. С практической точки зрения важны количество и качество получаемой биомассы, а также рентабельность применяемого метода.

Данные, полученные опытным путем на примере двух видов водорослей при допустимом уровне погрешности измерений (10%), совпадают со значениями, прогнозируемыми математической моделью. Полученные цифры наглядно свидетельствуют о достоверности описания предложенной моделью уровня динамического стационарного равновесия культуры при непрерывном режиме культивирования микроводорослей.

В промышленных условиях большое значение имеет продуктивность применяемого метода культивирования.

**Продуктивность культур микроводорослей
при применении различных методов культивирования**

Метод	Продуктивность культуры, г·л ⁻¹ ·сут ⁻¹	
	<i>S. platensis</i>	<i>T. viridis</i>
Расчетный	2,27	0,90
Накопительный	2,36	0,98
Квазинепрерывный	2,40	0,98
Непропорционально-проточный	3,82	1,24

Таблица 6

Применение периодического и квазинепрерывного методов (табл. 6) даёт близкую продуктивность культур, так как культивирование было организовано в пределах линейного роста, когда этот показатель одинаков и максимален. Превышение теоретических значений продуктивности эмпирическими можно объяснить адаптационным и автоселекционным процессами, которые не учитываются моделью. Непропорционально-проточный режим был организован так, чтобы при таком же протоке среды, как и при квазинепрерывном режиме, вынос биомассы был в два раза большим. Такой подход оправдывает себя при использовании плотных культур, когда фактором, лимитирующим рост, является обеспеченность световой энергией, а не субстратом. Плотные культуры применяются в условиях производства для большей устойчивости культуры к неблагоприятным воздействиям и максимизации урожая, а также в условиях лаборатории — для более точного определения ростовых зависимостей. Для данных условий можно рекомендовать непропорционально-проточный режим культивирования, способный обеспечить в 1,5 раза более высокую продуктивность системы культивирования, чем пропорциональный квазинепрерывный режим.

ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ

Динамика биомассы *Dunaliella salina* в условиях непрерывного культивирования.

Прогностическая оценка — неотъемлемая часть организации интенсивного культивирования микроводорослей в лабораторных и промышленных условиях. На производстве особенно важным является прогноз количества биомассы микроводорослей, которое можно получить при тех или иных режимах культивирования.

Наиболее информативными характеристиками культуры, выращенной в конкретных условиях, являются продуктивность и удельная скорость роста, определение которых является ключевым моментом в построении любых прогностических оценок. Общеизвестным является положение о существовании нескольких фаз роста, хотя формальных определений четких границ фаз роста по экспериментальным данным до сих пор не существует. Наиболее приемлемо применение простейших моделей, описывающих динамику роста микроводорослей на разных участках накопительной кривой. Наиболее простейшей моделью, описывающей линейную фазу роста, является уравнение прямой. В условиях непрерывного культивирования для разной величины удельной скорости протока, динамика биомассы определяется разностью отношения максимальной продуктивности к удельной скорости протока и экспоненциальной зависимости максимальной продуктивности и начальной биомассы:

$$B = \frac{P_m}{\omega} - \left(\frac{P_m}{\omega} - B_p \right) e^{-\omega(t-t_p)},$$

где B — плотность культуры, г·л⁻¹; P_m — продуктивность, г·л⁻¹·сут⁻¹; ω — удельная скорость протока, сут⁻¹; t — время, сут; B_p — плотность культуры в момент включения протока t_p .

В последнем выражении именно отношение величин максимальной продуктивности и удельной скорости протока определяет концентрацию биомассы в пределе. Другими словами, изменяя удельную скорость протока, можно управлять динамикой биомассы в проточной культуре (рис. 4).

Таким образом, используя основные характеристики культуры и различные величины протока и времени его включения можно прогнозировать время достижения и уровень стационарного динамического состояния культуры. Хотя проведенные расчеты не учитывают некоторые факторы, влияющие на рост микроводорослей, к примеру, степень адаптации, они все же оправдывают себя, особенно когда речь идет об экспресс-прогнозах в условиях производства. Применение данной модели также оправдано при описании процесса роста микроводорослей в естественных водоемах при обеспеченности минеральным питанием и определенной динамики выедания фитопланктона.

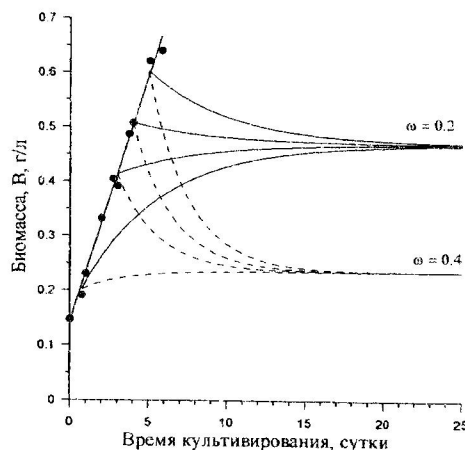


Рис. 4. Семейство кривых, описывающих динамику биомассы *D. salina* при различных режимах непрерывного культивирования

Модель оптимизации режима культивирования микроводорослей в хемостате.

Для выращивания микроводорослей разработано огромное количество установок и рекомендаций по способам культивирования. Такие рекомендации рассчитаны на конкретное производство и при организации нового аналогичного производства всегда требуются доработки и уточнения. При разработке технологий культивирования приходится решать задачи оптимизации по многим критериям, наиболее важным из которых является производительность будущей системы культивирования.

Производительность определяется скоростью роста микроводорослей. В свою очередь, скорость роста зависит от биологических особенностей вида водоросли и физико-химических условий среды культивирования. Для определения основных характеристик роста микроводорослей в конкретных условиях необходимо проследить динамику роста водорослей в накопительной культуре. По полученным характеристикам и заданной удельной скорости протока среды можно определить скорость выноса биомассы в непрерывной культуре, то есть урожай за определенный промежуток времени.

Для теоретического определения величины урожая нами выведено общее уравнение.

$$Y = \int_{t_0}^{t_f} \left\{ P_m - \left[P_m - \omega \cdot B_0 \right] \cdot e^{-\omega(t-t_0)} \right\} dt = (t_f - t_0) \cdot P_m - \left(\frac{P_m}{\omega} - B_0 \right) \cdot [1 - e^{-\omega(t_f-t_0)}]$$

Из данного уравнения можно найти оптимальные значения времени включения протока среды и величину удельной скорости протока среды для получения максимального урожая. Решение уравнения свидетельствует, что оптимальное время включения протока среды находится за пределами линейной фазы роста и в пределах этой фазы функция урожай от времени убывает. Следовательно, момент включения протока среды, соответствующий максимальному урожаю, совпадает с началом линейного роста водорослей. Необходимо также отметить, что величина урожая прямопропорционально зависит от удельной скорости протока среды.

Расчеты проведены по данным, полученным в производственных условиях, при интенсивном культивировании *D. salina*. Установлено, что величина урожая при неограниченном времени культивирования не зависит от плотности культуры и удельной скорости протока. Разработана простейшая математическая модель, позволяющая прогнозировать величину урожая микроводорослей. Предложенная модель позволила разработать рекомендации для получения максимального урожая *D. salina* в условиях производства. Для получения максимального урожая при ограниченном времени культивирования необходимо организовать хемостат: 1) с максимальной величиной удельной скорости протока (в рамках линейного роста), 2) с включением протока в начале линейной фазы роста.

ВЫВОДЫ

1. Предложен механизм, объясняющий изменение содержания пигментов в клетках морских микроводорослей. Механизм основан на предположении, что фотосинтетический пигмент способен поглотить определенное количество световой энергии, после чего разрушается; доля разрушенных пигментов к наблюдаемым определяется отношением времени нахождения в культиваторе ко времени, необходимому для получения летальной дозы одним пигментом.

2. Разработана математическая модель, которая описывает зависимость содержания пигментов в клетках морских микроводорослей от освещенности и удельной скорости роста культуры. Получено высокое соответствие ($R^2=0,92$ при $P=0,95$) расчетных и экспериментальных данных по содержанию пигментов в клетках *D. salina*.

3. Сделана оценка количества энергии, необходимой для деструкции одной молекулы хлорофилла. Показано, что для разрушения одной молекулы хлорофилла-*a*, требуется около $1 \cdot 10 \cdot 10^{-14}$ Дж, для молекулы хлорофилла-*b* примерно $3 \cdot 18 \cdot 10^{-14}$ Дж.

4. На основании эксперимента и математической модели установлена максимальная величина относительного содержания хлорофилла-*a* и хлорофилла-*b* в клетках *D. salina*, которая составляет 5,95 % ОВ и 2,27 % ОВ, соответственно.

5. Экспериментально установлена возможность получения 0,15-0,16 г/м²·сут хлорофилла-*a* и 0,05-0,25 г/м²·сут суммарных каротиноидов в условиях промышленного производства из зеленой (активно растущей) культуры *D. salina*.

6. Экспериментально показано, что содержание каротиноидов в клетках *D. salina* при постоянной скорости роста описывается гиперболической зависимостью от освещенности.

7. Управление ростом *D. salina* в поликультуре микроводорослей рекомендуется осуществлять изменением концентрации NaCl, температуры, pH, удельной скорости потока среды.

8. Монокультуру *D. salina* в культиваторах открытого типа (при систематическом внесении цианобактерий и диатомей) можно поддерживать, используя следующий комплекс факторов: уровень солености – 120 г/л хлорида натрия; непропорционально-проточный режим культивирования; стабилизацию суточной температуры на уровне 18 – 28°C.

9. При организации промышленного производства необходимо учитывать генетические особенности используемых штаммов микроводорослей. Штамм *D. salina* IBSS-2 предложен как перспективный для промышленного культивирования.

10. Для исследованных видов микроводорослей непропорционально-проточный метод культивирования позволяет при прочих равных условиях обеспечить более высокую продуктивность, чем накопительный и квазинепрерывный методы.

11. Для получения максимального урожая при ограниченном времени культивирования необходимо организовать хемостат: 1) с максимальной величиной удельной скорости потока (в пределах линейного роста), 2) с включением потока в начале линейной фазы роста.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Боровков А. Б. Зеленая микроводоросль *Dunaliella salina* Teod. (обзор) / А. Б. Боровков // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 5–17.
2. Боровков А. Б. Рост *Dunaliella salina* в смешанной культуре / А. Б. Боровков, З. Т. Сафиуллин, Н. В. Панченко // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 18–22.
3. Бородин А. В. Потребление азота и фосфора микроводорослью *Dunaliella salina* при различных режимах культивирования / А. В. Бородин, А. Б. Боровков // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 23–26.
4. Геворгиз Р. Г. Динамика биомассы *Dunaliella salina* в условиях непрерывного культивирования / Р. Г. Геворгиз, А. Б. Боровков // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 35–37.
5. Гудвилевич И. Н. Динамика суммарных каротиноидов и хлорофилла-*a* в клетках *Dunaliella salina* в квазинепрерывной культуре / И. Н. Гудвилевич, Н. М. Береговая, А. Б. Боровков // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 52–55.
6. Тренкеншу Р. П. Математическая модель светозависимого содержания пигментов в клетках морских микроводорослей в хемостате / Р. П. Тренкеншу, А. Б. Боровков, А. В. Ширяев // Экология моря. – 2005. – Вып. 69. – С. 58–63.
7. Боровков А. Б. Продуктивность микроводорослей *Spirulina platensis* и *Tetraselmis viridis* при использовании различных методов культивирования / А. Б. Боровков, Р. Г. Геворгиз // Экология моря. – 2005. – Вып. 70. – С. 9–13.
8. Горбунова С. Ю. Динамика азота и фосфора в среде при интенсивном культивировании микроводоросли *Dunaliella salina* / С. Ю. Горбунова, А. С. Лелеков, А. Б. Боровков // Экология моря. – 2007. – Вып. 74. – С. 21–24.
9. Геворгиз Р. Г. Модель оптимизации режима культивирования микроводорослей в хемостате на примере *Dunaliella salina* Teod. / Р. Г. Геворгиз, А. Б. Боровков, А. В. Ширяев // Альгология. – 2007. – Т. 17, № 4. – С. 458–466.
10. Gevorgiz R. G. Optimization model of the regime for cultivation of microalgae in chemostat of *Dunaliella salina* Teod. / R. G. Gevorgiz, A. B. Borovkov, A. V. Shiryayev // Inter Jour on Algae. – 2007. – Vol. 9, № 3. – P. 294–302.
11. Боровков А. Б. *Dunaliella salina* Teod. IBSS-2 – перспективный штам для промыслового культивирования / А. Б. Боровков, И. Н. Гудвилевич, Р. П. Тренкеншу //

- Актуальні проблеми ботаніки та екології [зб. наук. праць / гол. ред. Я. П. Дідух]. – 2008. – Вип. 2. – С. 25–27.
12. Ширяев А. В. Динамика содержания пигментов в микроводорослях (математическая модель) / А. В. Ширяев, А. Б. Боровков, Р. П. Тренкеншу // Науч. конф. «Ломоносовские чтения» 2005г. и междунар. науч. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2005»: тезисы докл. – Севастополь, 2005. – С. 177.
 13. Боровков А. Б. Светозависимое содержание пигментов в клетках микроводорослей (математическая модель) / А. Б. Боровков, А. В. Ширяев, Р. П. Тренкеншу // Понт Эвксинский – IV : IV Всеукр. науч.-практ. конф. молодых ученых по проблемам Чёрного и Азовского морей, 24–27 мая 2005 г. : тезисы докл. – Севастополь, 2005. – С. 17–18.
 14. Боровков А. Б. Прогнозирование поведения биомассы *Dunaliella salina* (Dunal) Teod. в условиях непрерывного культивирования / А. Б. Боровков // Актуальные проблемы современной альгологии : Материалы III Международной конф., 20–23 апр. 2005 г., Харьков / отв. ред. Т. В. Догадина – Х., 2005. – С. 22–23.
 15. Боровков А. Б. Оптимизация роста микроводорослей в хемостате / А. Б. Боровков, Р. Г. Геворгиз, А. В. Ширяев // Матеріали XII з'їзду укр. бот. тов., 15–18 трав. 2006 р., Одеса / відп. ред. К. М. Ситник – Одеса, 2006. – С. 196.
 16. Тренкеншу Р. П. Светозависимое содержание пигментов в клетках микроводорослей (применение математической модели) / Р. П. Тренкеншу, А. Б. Боровков // Проблемы биологической океанографии XXI века : Междунар. науч. конф., посвящ. 135-летию Института биологии южных морей, 19–21 сентября 2006 г., Севастополь : тезисы докл. – Севастополь, 2006. – С. 171.
 17. Боровков А. Б. Светозависимое содержание пигментов в клетках *Dunaliella salina* в хемостате / А. Б. Боровков, И. Н. Гудвилович, Р. П. Тренкеншу // Актуальні проблеми ботаніки та екології : Матеріали міжнародної конф. молодих учених-ботаніків, 17–20 верес. 2007 р., Київ – К., 2007. – С. 6–7.
 18. Боровков А. Б. Сравнительная оценка моделей, описывающих изменение содержания пигментов в клетках микроводорослей / А. Б. Боровков, Р. П. Тренкеншу // Понт Эвксинский – V : V Международная науч.-практ. конф. молодых ученых по проблемам водных экосистем, 24–27 сент. 2007 г. : тезисы докл. – Севастополь, 2007. – С. 11–12.
 19. Borovkov A. B. Dynamics of some pigments and protein in *Dunaliella salina* cells in semicontinuous culture / A. B. Borovkov, N. M. Beregovaya, I. N. Gudvilovitch // Біологія: від молекули до біосфери : Матеріали II Міжнародної конф. молодих учених, 19–21 листоп. 2007 р., Харків, – Х., 2007. – С. 111–112.

АННОТАЦИЯ

Боровков А.Б. Динамика пигментов и роста микроводорослей в хемостате на примере *Dunaliella salina* Teod. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.17 – гидробиология. – Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, 2008.

Предложен механизм, объясняющий изменение содержания пигментов в клетках морских микроводорослей. Разработана математическая модель, которая описывает зависимость содержания пигментов в клетках морских микроводорослей от освещенности и удельной скорости роста культуры. Сделана оценка количества энергии, необходимой для деструкции одной молекулы хлорофилла. Экспериментально показано, что содержание каротиноидов в клетках *D. salina* при постоянной скорости роста описывается гиперболической зависимостью от освещенности.

Разработаны математические модели для прогнозирования динамики плотности культуры и урожая для условий хемостата. Установлено, что непропорционально-проточный метод культивирования позволяет при прочих равных условиях обеспечить более высокую продуктивность, чем накопительный и квазинепрерывный методы. Штамм *D. salina* IBSS-2 предложен как перспективный для промышленного культивирования.

Ключевые слова: механизм, математическая модель, относительное содержание пигментов, прогноз, рост, плотность культуры, хлорофилл, каротиноиды, *Dunaliella salina*.

АНОТАЦІЯ

Боровков А. Б. Динаміка пігментів і росту мікрроводоростей у хемостате на прикладі *Dunaliella salina* Teod. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.17 – гідробіологія. – Інститут біології південних морів НАН України, Севастополь, 2008.

Запропоновано механізм, що пояснює зміну вмісту пігментів у клітинах морських мікрроводоростей. Розроблено математичну модель, що описує залежність вмісту пігментів у клітинах морських мікрроводоростей від освітленості та питомої швидкості росту культури. Зроблено оцінку кількості енергії, необхідної для деструкції однієї молекули хлорофілу. Експериментально показано, що вміст каротиноїдів у клітинах *D. salina* при постійній швидкості росту описується гіперболічною залежністю від освітленості.

Розроблено математичні моделі для прогнозування динаміки щільності культури та урожаю для умов хемостата. Установлено, що непропорційно-проточний метод культивування дозволяє за інших рівних умов забезпечити більш високу продуктивність, чим накопичувальний і квазинепрерывний методи. Штам *D. salina* IBSS-2 запропоновано як перспективний для промислового культивування.

Ключові слова: механізм, математична модель, відносний вміст пігментів, прогноз, ріст, щільність культури, хлорофіл, каротиноїди, *Dunaliella salina*.

SUMMARY

Borovkov A.B. Dynamics of pigments and growth of microalgae in chemostat on example *Dunaliella salina* Teod. - Manuscript.

The dissertation on of scientific degree of a Cand.Biol.Sci. competition at a speciality 03.00.17 - hydrobiology. - Institute of Biology of the Southern Seas, National Academy of Science of Ukraine, Sevastopol, 2008.

The mechanism explaining change of pigments maintenance in cells of sea microalgae is offered. The mathematical model which describes dependence of the pigments maintenance in cells of sea microalgae from light exposure and specific growth rate of culture has been developed. The assessment of energy quantity necessary for destruction of one molecule of chlorophyll has been made. It is shown, experimentally, that the carotenes maintenance in cells of *D. salina* at constant growth rate is described by hyperbolic dependence on light exposure.

Mathematical models have been developed for forecasting of density dynamics of culture and crop for chemostat conditions. It has been established, that the disproportionate-flow method of cultivation allows to provide higher efficiency with other equal things, than batch and semicontinuous methods. Shtam *D. salina* IBSS-2 is offered as perspective for industrial cultivation.

Keywords: the mechanism, mathematical model, the relative maintenance of pigments, the forecast, growth, culture density, chlorophyll, carotenes, *Dunaliella salina*.

Издательство и типография ООО «Рибэст»

Ответственный за издание

Федюшин В.В.

Свидетельство о внесении субъекта издательской
деятельности в государственный реестр

ДК № 190 от 20.09.2000 г.

Подписано в печать 3.10.2008 г.

Формат 84x108/32. Усл. печ. лист. 1,26

Тираж 50 экз. Заказ № 269.

99058, г. Севастополь, ул. Б. Михайлова, 23

Тел/факс (0692) 42 – 84 – 01