

Р. П. ТРЕНКЕНШУ, А. С. ЛЕЛЕКОВ

ПРОСТЕЙШИЕ МОДЕЛИ РОСТА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ 3. ПОТРЕБНОСТЬ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В ЭЛЕМЕНТАХ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Предложен простейший подход для математического описания потребности микроводорослей в элементах питания. Модель основана на наличии одного лимитирующего компонента, т.е. синтез биомассы определяется одним элементом среды. Введено понятие истинного и наблюдаемого экономического коэффициента культуры. Рассматривается динамика азота в накопительной культуре *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl.

В основе предложенных ранее простейших моделей роста микроводорослей [5, 6] лежат основные кинетические характеристики культуры: удельная скорость роста, продуктивность и удельная скорость дыхания. При построении этих моделей не учитывалось лимитирование роста минеральными компонентами среды. Поэтому подобный подход не может быть использован при анализе экспериментальных данных субстратзависимого роста культуры.

Основополагающее звено используемых в литературе моделей – априори полное использование внесенного в питательную среду субстрата (для накопительных культур) [4]. В реальности мы имеем дело с потерями какого-либо минерального элемента, обусловленными наличием дыхания культуры, которое ведет к распаду биомассы и снижает скорость роста. Моделирование процессов субстратзависимого роста обычно сводится к применению кинетики Михаелиса-Ментена без детального рассмотрения механизмов процесса [8, 9].

Минеральные элементы влияют как на динамику биохимических составляющих, так и на ограничение роста в целом. Поэтому знание потребности культуры в субстрате позволит оценить содержание биохимических компонентов [2].

Целью данной работы является построение простейшей модели, позволяющей определить потребность культуры в каком-либо лимитирующем элементе питания.

Понятие потребности. Как показано в предыдущих работах [5, 1], введенные кинетические характеристики позволяют описать динамику роста культуры как на каждой фазе роста по отдельности, так и всю накопительную кривую в целом. Следующим шагом является определение количества субстрата, необходимого для синтеза единицы биомассы. Подобная задача приводит к понятию "потребности" микроводорослей в субстрате. В литературе [7] это понятие получило название "экономический коэффициент", которое определяется как количество биомассы синтезируемой (B_S) за счет единицы субстрата (S):

$$Y = -\frac{dB_S}{dS}. \quad (1)$$

Потребность (Y_S^0), по определению, равна отношению количества потребленного субстрата (dS) к синтезируемой за счет этого субстрата биомассе (dB_S):

$$Y_S^0 = \frac{1}{Y} = -\frac{dS}{dB_S}. \quad (2)$$

Здесь знак «минус» отражает противоположную направленность изменений концентраций субстрата и биомассы. Для небольших изменений субстрата и биомассы

бесконечно малые приращения мы можем записать как конечные, что позволяет по экспериментальным данным рассчитать величину потребности:

$$Y_S^0 = -\frac{\Delta S}{\Delta B_S} \quad (3)$$

Понятие наблюдаемого и истинного экономического коэффициента. В общем случае, рост и биосинтез компонентов клетки является результатом двух процессов: собственно фотосинтеза и дыхания, связанного с поддержанием структуры (темновое дыхание) [5]:

$$P_r = \mu_r \cdot B$$

где μ_r – удельная скорость дыхания; P_r – скорость дыхания (количество биомассы dB_r : белки, жиры, углеводы и пр., – распадающейся в единицу времени dt).

Наблюдаемая скорость роста (P) будет равна разности скоростей «чистого» фотосинтеза и дыхания:

$$P = P_0 - P_r = \frac{dB_S}{dt} - \frac{dB_r}{dt} = \frac{1}{dt} \cdot (dB_S - dB_r) = \frac{dB}{dt}$$

Следовательно, выражение для потребности преобразуется к виду:

$$Y_S = -\frac{dS}{dB} \quad (4)$$

где Y_S – наблюдаемая потребность культуры в субстрате.

Таким образом, мы получили две величины, характеризующие потребность культуры в субстрате: наблюдаемая (Y_S) и истинная (Y_S^0).

Общий случай субстратного обмена. Распад биомассы за счет дыхания культуры приводит к снижению скорости роста и увеличению коэффициента потребности. При этом распавшаяся биомасса посредством ее минерализации служит источником минерального питания. Минеральные элементы могут либо повторно использоваться в биосинтезе, либо безвозвратно теряться, переходя в нерастворимые соединения, которые не могут быть задействованы биосинтетическим аппаратом клетки. Также возможен вариант, когда только часть минерализованного субстрата повторно вовлекается в биосинтез.

Оценим скорость возвращения субстрата (dS_r/dt). Очевидно, что эта величина будет прямопропорциональна количеству распавшейся за счет дыхания биомассы, а, следовательно, для скоростей справедливо равенство:

$$\frac{dS_r}{dt} = \alpha \cdot Y_S^0 \cdot \frac{dB_r}{dt} \quad (5)$$

где α – безразмерный коэффициент возврата субстрата в биосинтетические процессы.

Скорость распада биомассы равна произведению удельной скорости дыхания (μ_r) на саму биомассу (B), получим:

$$\frac{dS_r}{dt} = \alpha \cdot Y_S^0 \cdot \mu_r \cdot B \quad (6)$$

Итак, балансовое уравнение для динамики субстрата имеет вид:

$$\frac{dS}{dt} = -Y_S^0 \cdot \frac{dB_S}{dt} + \frac{dS_r}{dt}. \quad (7)$$

Оно отображает, что концентрация субстрата падает за счет расхода на синтез биомассы и одновременно происходит возврат субстрата из распавшейся биомассы.

Используя (6), найдем выражение для наблюдаемой потребности, предварительно преобразовав уравнение (7):

$$\frac{dB_S}{dt} = \mu_0 \cdot B, \quad (8)$$

$$\frac{dS}{dt} = -Y_S^0 \cdot \mu_0 \cdot B + \alpha \cdot Y_S^0 \cdot \mu_r \cdot B, \quad (9)$$

$$\frac{dS}{dt} = (\alpha \cdot \mu_r - \mu_0) \cdot Y_S^0 \cdot B. \quad (10)$$

Подставляя выражение (10) в выражение (4), получим:

$$Y_S = -\frac{dS}{dB} = -\frac{\frac{dS}{dt}}{\frac{dB}{dt}} = -\frac{(\alpha \cdot \mu_r - \mu_0) \cdot Y_S^0 \cdot B}{\mu \cdot B},$$

$$Y_S = Y_S^0 \cdot \frac{\mu_0 - \alpha \cdot \mu_r}{\mu}. \quad (11)$$

Учитывая, что удельная скорость биосинтеза (μ_0) есть сумма удельных скоростей роста (μ) и дыхания (μ_r), получим:

$$Y_S = Y_S^0 \cdot \frac{\mu + \mu_r \cdot (1 - \alpha)}{\mu}. \quad (12)$$

Анализируя выражение (12), можно рассмотреть следующие крайние случаи:

1. Происходит полное возвращение субстрата в среду, т.е. $\alpha = 1$. Потеря субстрата за счет дыхания не будет, а наблюдаемая и истинная потребности будут равны:

$$Y_S = Y_S^0. \quad (13)$$

2. Субстрат не возвращается в среду, т.е. $\alpha = 0$. В этом случае наблюдаемая потребность будет выше истинной, так как происходит потеря субстрата, а единица биомассы не образуется:

$$Y_S = Y_S^0 \cdot \frac{\mu + \mu_r}{\mu}. \quad (14)$$

Расчет величины потребности для различных фаз роста.

Экспоненциальная фаза. Экспоненциальная фаза характеризуется постоянством удельной скорости роста, причем здесь эта величина максимальна и равна μ_m . Уравнение роста культуры в дифференциальной форме имеет вид:

$$\frac{dB}{dt} = \mu_m \cdot B = (\mu_0 - \mu_r) \cdot B.$$

Скорость синтеза биомассы определяется как:

$$\frac{dB_S}{dt} = \mu_0 \cdot B.$$

Преобразуем уравнение (12):

$$\frac{Y_S^0}{Y_S} = \frac{\frac{dB}{dt}}{\frac{dB_S}{dt}} = \frac{(\mu_0 - \mu_r) \cdot B}{\mu_0 \cdot B} = \frac{\mu_0 - \mu_r}{\mu_0}$$

Т.е. истинная потребность определяется отношением удельных скоростей роста и биосинтеза:

$$Y_S^0 = Y_S \cdot \frac{\mu_m}{\mu_0} \quad (15)$$

Линейная фаза. Эта фаза роста характеризуется постоянством продуктивности культуры ($P_m = const$):

$$\mu = \frac{1}{B} \cdot \frac{dB}{dt} = \frac{P_m}{B}.$$

Полученную величину подставим в выражение (12):

$$Y_S = Y_S^0 \cdot \frac{\mu + (1 - \alpha) \cdot \mu_r}{\mu} = Y_S^0 \cdot \left(1 + \frac{(1 - \alpha) \cdot \mu_r}{\mu} \right),$$

$$Y_S = Y_S^0 \cdot \left(1 + \frac{(1 - \alpha) \cdot \mu_r \cdot B}{P_m} \right). \quad (16)$$

На данной фазе биомасса растет по линейному закону:

$$B = B_l + P_m \cdot (t - t_l), \quad (17)$$

где B_l – величина биомассы в момент начала линейного роста t_l .

В этом случае уравнение (16) преобразуется к следующему виду:

$$Y_S = Y_S^0 \cdot \left(1 + (1 - \alpha) \cdot \mu_r \cdot \frac{B_l + P_m \cdot (t - t_l)}{P_m} \right). \quad (18)$$

Стоит отметить, что наблюдаемая потребность линейно зависит от времени культивирования.

Используя предложенные выше модельные представления в рамках линейной фазы роста культуры, мы можем получить зависимость ассимиляции субстрата от времени. Учитывая (4), запишем (18) в следующем виде:

$$Y_S = -\frac{dS}{dB} = -\frac{\frac{dS}{dt}}{\frac{dB}{dt}} = -\frac{dS}{P_m} = Y_S^0 \cdot \left(1 + (1-\alpha) \cdot \mu_r \cdot \frac{B_l + P_m \cdot (t-t_l)}{P_m} \right).$$

Полагая $t_l = 0$ и перенося P_m в правую часть, получаем дифференциальное уравнение ассимиляции субстрата, интегрирование которого при заданных начальных условиях даст нам искомую функцию:

$$\frac{dS}{dt} = -P_m \cdot Y_S^0 \cdot \left(1 + (1-\alpha) \cdot \mu_r \cdot \frac{B_l + P_m \cdot t}{P_m} \right). \quad (19)$$

Разделим переменные, раскроем скобки и перегруппируем слагаемые:

$$\begin{aligned} dS &= -P_m \cdot Y_S^0 \cdot \left(1 + (1-\alpha) \cdot \mu_r \cdot \frac{B_l + P_m \cdot t}{P_m} \right) \cdot dt, \\ dS &= -P_m \cdot Y_S^0 \cdot dt - Y_S^0 \cdot (1-\alpha) \cdot \mu_r \cdot (B_l + P_m \cdot t) \cdot dt, \\ dS &= -P_m \cdot Y_S^0 \cdot dt - Y_S^0 \cdot (1-\alpha) \cdot \mu_r \cdot B_l \cdot dt - Y_S^0 \cdot (1-\alpha) \cdot \mu_r \cdot P_m \cdot t \cdot dt, \\ dS &= -Y_S^0 \cdot (P_m + (1-\alpha) \cdot \mu_r \cdot B_l) dt - Y_S^0 \cdot (1-\alpha) \cdot \mu_r \cdot P_m \cdot t \cdot dt. \end{aligned}$$

Последнее уравнение проинтегрируем при начальных условиях $S = S_0$ при $t = t_l$:

$$\begin{aligned} \int_{S_0}^S dS &= -Y_S^0 \cdot (P_m + (1-\alpha) \cdot \mu_r \cdot B_l) \int_{t_l}^t dt - Y_S^0 \cdot (1-\alpha) \cdot \mu_r \cdot P_m \int_{t_l}^t t \cdot dt, \\ S - S_0 &= -Y_S^0 \cdot (P_m + (1-\alpha) \cdot \mu_r \cdot B_l) \cdot (t-t_l) - \frac{1}{2} \cdot Y_S^0 \cdot (1-\alpha) \cdot \mu_r \cdot P_m \cdot (t-t_l)^2. \end{aligned}$$

Переноса S_0 в правую часть, получаем искомую зависимость ассимиляции субстрата от времени в рамках линейной фазы роста культуры:

$$S = S_0 - Y_S^0 \cdot (P_m + (1-\alpha) \cdot \mu_r \cdot B_l) \cdot (t-t_l) - \frac{1}{2} \cdot Y_S^0 \cdot (1-\alpha) \cdot \mu_r \cdot P_m \cdot (t-t_l)^2. \quad (20)$$

Рассмотрим крайние случаи:

1. Происходит полное возвращение субстрата в среду, $\alpha = 1$. Получаем линейную зависимость для динамики субстрата от времени. Угол наклона прямой к оси абсцисс равняется произведению максимальной продуктивности культуры P_m на истинную потребность, что подает возможность для ее оценки:

$$S = S_0 - Y_S^0 \cdot P_m \cdot (t-t_l). \quad (21)$$

2. Субстрат не возвращается в среду, $\alpha = 0$:

$$S = S_0 - Y_S^0 \cdot (P_m + \mu_r \cdot B_l) \cdot (t-t_l) - \frac{1}{2} \cdot Y_S^0 \cdot \mu_r \cdot P_m \cdot (t-t_l)^2, \quad (22)$$

$$S = S_0 - a \cdot t - b \cdot t^2, \quad (23)$$

где $a = Y_S^0 \cdot (P_m + \mu_r \cdot B_l)$, $b = \frac{1}{2} \cdot Y_S^0 \cdot \mu_r \cdot P_m$.

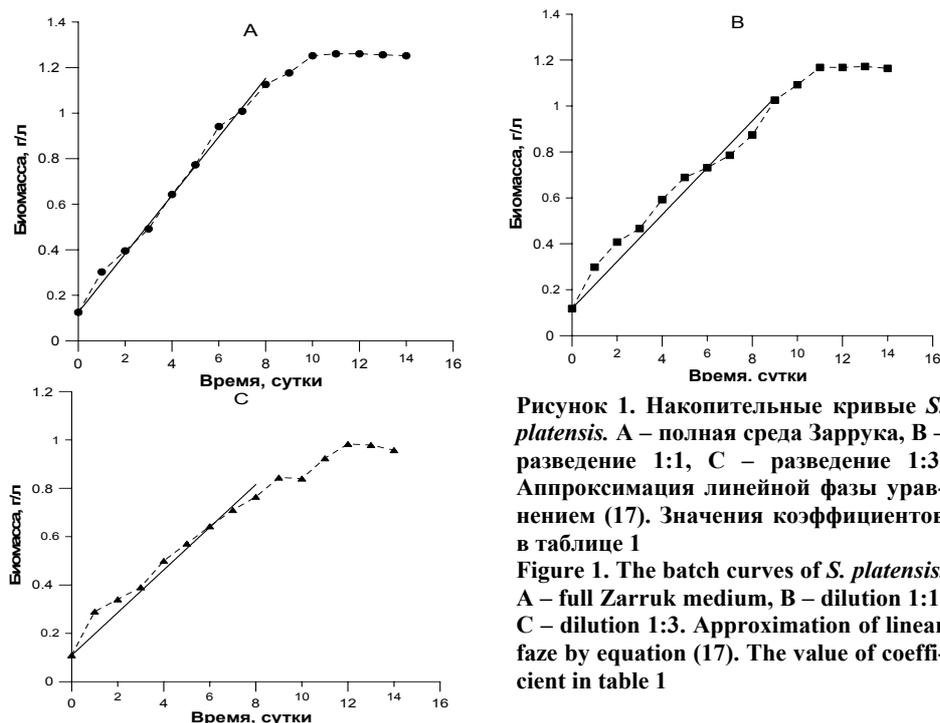


Рисунок 1. Накопительные кривые *S. platensis*. А – полная среда Заррука, В – разведение 1:1, С – разведение 1:3. Аппроксимация линейной фазы уравнением (17). Значения коэффициентов в таблице 1
 Figure 1. The batch curves of *S. platensis*. А – full Zarruk medium, В – dilution 1:1, С – dilution 1:3. Approximation of linear phase by equation (17). The value of coefficient in table 1

Аппроксимация экспериментальных данных уравнением (23) при $t_l = 0$ позволяет рассчитать величины удельной скорости дыхания и истинной потребности. Для этого решаем систему (24), подставляя полученные при аппроксимации значения обобщенных коэффициентов.

$$\begin{cases} a = Y_s^0 \cdot (P_m + \mu_r \cdot B_l) \\ b = \frac{1}{2} \cdot Y_s^0 \cdot \mu_r \cdot P_m \end{cases} \quad (24)$$

Экспериментальная часть. В качестве экспериментального материала используем данные из работы [3]. Эксперименты проведены со *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. (см. рис. 1 - 3). Расчет P_m аппроксимацией линейной фазы накопительных кривых представлен на рис.1 и в табл. 1.

В предположении полного возврата субстрата из распавшейся биомассы в питательную среду ($\alpha = 1$) рассчитаны истинные потребности культуры (см. рис. 2 и табл. 1).

Таблица 1. Характеристики культуры при полном возврате субстрата ($\alpha = 1$)
 Table 1. Characteristics of the culture: full nutrient use ($\alpha = 1$)

Разведение среды	P_m , г/сут	Y_s^0 , мг N / г АСВ
Полная среда	0,128	140,47
1:1	0,102	138,63
1:3	0,088	110,23

Результаты расчетов потребности, представленные в табл. 1, показывают, что ассимиляция субстрата (азота) не соответствует линейному закону (т.е. полному возврату субстрата). Используя коэффициент пересчета 6,25 количества ассимилированного азота на общий белок [2], получаем завышенное содержание белка в биомассе: 140,47 мг

$N / \text{г АСВ} * 6,25 = 878 \text{ мг белка} / \text{г АСВ}$, т.е. 87.8 %. К аналогичному выводу пришли авторы работы [3].

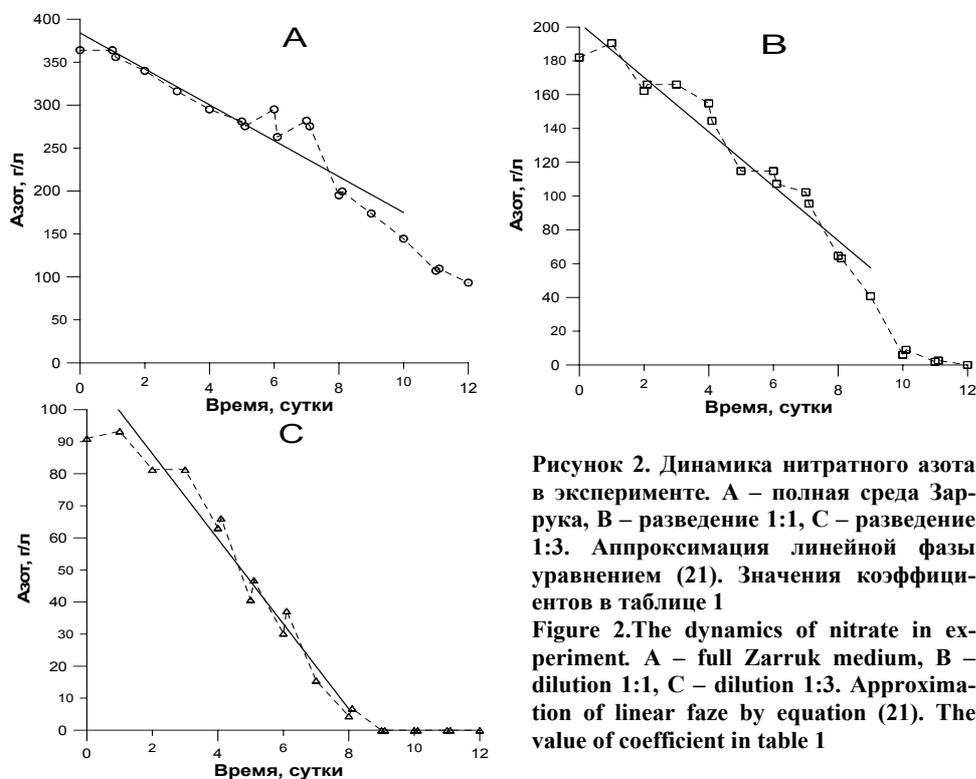


Рисунок 2. Динамика нитратного азота в эксперименте. А – полная среда Заррука, В – разведение 1:1, С – разведение 1:3. Аппроксимация линейной фазы уравнением (21). Значения коэффициентов в таблице 1

Figure 2. The dynamics of nitrate in experiment. А – full Zarruk medium, В – dilution 1:1, С – dilution 1:3. Approximation of linear phase by equation (21). The value of coefficient in table 1

Для рассмотрения другого крайнего случая – возврат субстрата не происходит – аппроксимируем данные уравнением (23) (см. рис. 3). Рассчитанные, используя (24), величины потребностей и удельных скоростей дыхания представлены в таблице 2.

Таблица 2. Характеристики культуры – возврат субстрата не происходит ($\alpha = 0$)
Table 2. Characteristics of the culture – the nutrient don't return in medium ($\alpha = 0$)

Разведение среды	Y_s^0 , мг N / г АСВ	μ_r , сут ⁻¹
Полная среда	81,54	0,15
1:1	68,45	0,23
1:3	67,66	0,215

Таблица 3. Соответствие экспериментальных и расчетных значений содержания белка в биомассе *S. platensis*
Table 3. Experimental and calculated accordance of protein value in biomass of *S. platensis*

Разведение среды	Экспериментальное значение, % АСВ [3]	Расчетное значение, % АСВ
Полная среда	53	52
1:1	42	43
1:3	45	42

Умножая значения Y_s^0 табл. 2 на коэффициент пересчета 6,25, получим расчетные величины содержания белка в биомассе *S. platensis* (см. табл. 3.), которые достаточно близки к экспериментальным, что свидетельствует об адекватности предложенного подхода – возврат субстрата не происходит ($\alpha = 0$).

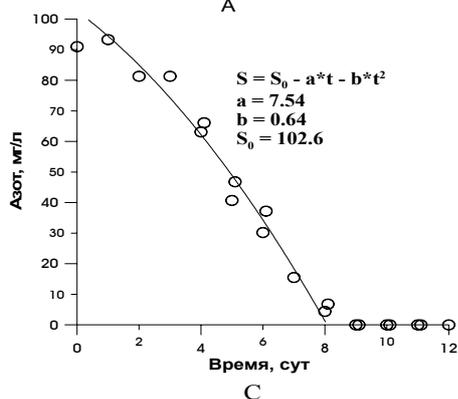
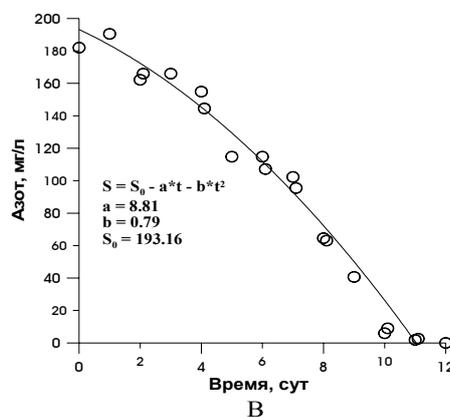
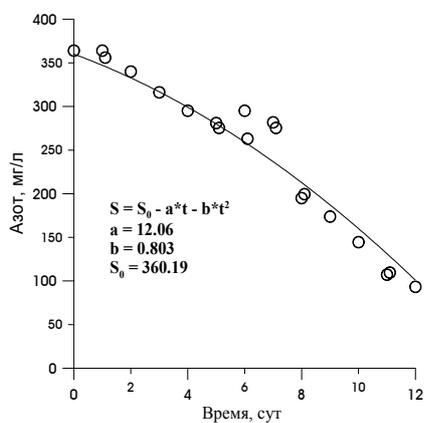


Рисунок 3. Аппроксимация экспериментальных данных уравнением (23) с обобщенными коэффициентами
Figure 3. Approximation of experimental data by equation (23) with generalized coefficient

Заключение. Основываясь на представлениях о простейших механизмах субстратзависимого роста (биосинтеза) микроводорослей, введены понятия истинной и наблюдаемой потребности в субстрате. Разработана модель, которая позволяет рассчитывать значение истинной потребности для различных фаз накопительной культуры.

1. Геворгиз Р. Г., Лелеков А. С. Применение простейших моделей роста микроводорослей для определения основных параметров накопительных кривых. // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 38 – 43.
2. Добрынина В. И., Свейникова Е. А. Руководство к практическим занятиям по биологической химии. // М.: Медгиз – 1958. – С. 165.
3. Дробецкая И. В. Влияние условий минерального питания на рост и химический состав *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl.: дис. канд. биол. наук. – Севастополь, 2005. – С. 188.
4. Левич А. П., Ревкова Н. В., Булгаков Н. Г. Процесс "потребление — рост" в культурах микроводорослей и потребности клеток в компонентах минерального питания // Экологический прогноз. М.: Изд-во МГУ. – 1986. – С. 132 – 139.
5. Тренкениц Р. П. Простейшие модели роста микроводорослей 1. Периодическая культура. // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 89 – 97.
6. Тренкениц Р. П. Простейшие модели роста микроводорослей 2. Квазинепрерывная культура. // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 98 – 110.

7. *Droop M. R.* Some thoughts on nutrient limitation in algae // *J. Phycol.*, – 1973. – Vol. 9. – P. 264 – 272.
8. *Flynn K. J.* Do we need complex mechanistic photoacclimation models for phytoplankton? // *Limn. Oceanogr.*, – 2003. – Vol. 48, no. 6, P. 2243 –2249.
9. *Mark E. B. et al.* Modelling the interacting effects of nutrient uptake, light capture and temperature on phytoplankton growth. // *Journal of plankton research*, – 2001. – Vol. 23, no. 3. – P. 829-840.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г. Севастополь

Получено 07.10.2005

R. P. TRENKENSU, A. S. LELEKOV

A SIMPLEST MODELS OF MICROALGAE GROWTH
3. THE REQUIREMENT OF MICROALGAE IN
NUTRION MINERAL ELEMENTS

Summary

Simplest mathematical approach for exposition of requirement of microalgae in nutrition element are offered. The model means that there is only one limitative component: synthesis of biomass depends on single medium element. Conception of observed and real economic coefficient of culture are injected. The nitrate dynamics in a batch culture are observed.