



УДК 582.26/.27:579:574

Р. П. Тренкеншу, к.б.н., и.о. зав. отд.

Институт биологии южных морей национальной академии наук Украины, Севастополь, Украина

КУЛЬТУРА МИКРОВОДОРΟΣЛЕЙ КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ В ГИДРОЭКОЛОГИИ

Рассматриваются подходы и методы, применяемые для решения задач, связанных с изучением роста микроводорослей в культуре. Приведены примеры решения частных задач биокинетики, микроэволюции, динамики популяций и фотобиосинтеза культур микроводорослей. Подробно рассмотрены характеристики роста микроводорослей в проточной культуре, представляющей собой открытую систему. Приведены примеры анализа экспериментальных данных с использованием величин приведенных значений для лимитирующих факторов и нормированных значений для выходных характеристик. Это позволяет сделать оценку организации лимитирующего звена в цепи биохимических реакций, определяющих рост организма. Введение понятий эффективной скорости и экотенциала позволяет оценить движущие силы и направление эволюции систем, включающих микроводоросли и внешнюю среду. Показана возможность использования такого же понятийного и формального аппарата в гидроэкологических исследованиях.

Ключевые слова: гидроэкология, микроводоросли, лимитирующие факторы, организация «узкого места», динамика популяций, эволюция экосистем

Впечатляющие успехи в изучении водных экосистем, достигнутые в двадцатом веке, во многом связаны с исследованиями организмов, выделенных в культуру. Главным достоинством использования культур является возможность получения воспроизводимых результатов, которые позволяют находить не только закономерности влияния экологических факторов среды на выращиваемые объекты, но и дать количественную оценку этого влияния. Без этих данных невозможно изучение метаболических процессов, происходящих на клеточном, организменном или популяционном уровнях.

Спектр культивируемых гидробионтов довольно широк и обусловлен как требованиями практики, например, аквакультуры, так и фундаментальными научными проблемами. В последнем случае исследования проводят с объектами, удобными для решения конкретных научных задач. Наиболее успешным примером в этом отношении можно назвать микроводоросли. Достаточно сказать, что основные достижения в изучении первичных процессов фотосинтеза получены в экспериментах имен-

но на культурах микроводорослей. Кроме того, работы с культурами микроводорослей незаменимы при оценке первичной продукции водоёмов. Иными словами, культура микроводорослей является прекрасным модельным объектом в гидроэкологических исследованиях.

К настоящему времени накоплен большой опыт работы по введению микроводорослей в культуру, определены основные характеристики роста. Изучены потребности клеток в биогенных макро- и микроэлементах, диапазоны pH, освещённости и температур, условия газообмена. В итоге разработаны техника и питательные среды, обеспечивающие как периодический, так и непрерывный рост водорослей. Особо необходимо указать на хорошее теоретическое обоснование механизмов управления ростом микроводорослей в культуре, которое позволяет не только выявить зависимость характеристик роста от того или иного параметра внешней среды, но и формализовать закономерности с помощью относительно простых математических уравнений. Совокупность достижений в области культивирования

микроводорослей и математического моделирования зависимости роста от гидроэкологических параметров среды позволяют рассматривать культуру микроводорослей в качестве удобного модельного объекта для выявления общих закономерностей роста организмов и популяций. Причем эти закономерности могут выполняться не только для гидробионтов, т.е. могут иметь общеэкологическое значение.

Наиболее широкое применение микроводоросли, как модельные объекты в гидроэкологии, могут найти в кинетических исследованиях, к которым относится поиск зависимости скорости роста организма или популяции от потока питательных веществ из водной среды. Такого рода исследования напрямую связаны с решением задач трофодинамики, т.к. одноклеточные организмы играют существенную, а часто и ключевую роль при энерго- и массообмене в трофических цепях. В общем случае, исходя из клеточной теории, любой организм можно рассматривать как популяцию клеток. Следовательно, должны существовать некоторые общие закономерности, определяющие как рост популяции одноклеточных организмов, так и сложный многоклеточный организм.

Важным моментом при изучении кинетики роста микроводорослей является возможность относительно быстрого достижения динамически равновесных состояний в открытых системах, каковыми являются непрерывные культуры микроводорослей. При этом обеспечивается детальное изучение переходных процессов, позволяющее сделать количественную оценку адаптационных явлений. В этом случае главным достоинством микроводорослей как модельного объекта являются их высокая скорость размножения и малые размеры. Удельная скорость роста как пресноводных, так и морских одноклеточных водорослей может достигать 0.3 – 0.4 1/ч, т.е. время генерации составляет часы [1, 2, 13], а микроскопические размеры клеток позволяют работать с популяциями особей плотностью намного выше млн./мл [1, 20]. Эксперименты с такими по-

пуляциями можно провести в течение нескольких дней, что невозможно с крупными особями, время генерации которых составляет годы.

Принципы управления культурой микроводорослей, которые позволяют реализовать как максимальные скорости роста (плотностат), так и максимизировать коэффициент использования питательных веществ (хемотрат), разработаны хорошо [6, 7, 15, 16, 22]. Кроме того, непрерывные культуры позволяют экспериментально исследовать сукцессионные и автоселекционные процессы. В этой области успешно используется формальный аппарат математического моделирования [3,6,15,19,27].

В данной работе рассматриваются некоторые частные задачи кинетики и динамики роста и фотобиосинтеза микроводорослей, аналогичные задачам для других водных организмов и при решении которых могут быть использованы подходы и методы, применяемые для исследования микроводорослей.

Биокинетика. Исследования в области кинетики роста и динамики популяций в открытых системах можно отнести к актуальным проблемам гидроэкологии. К одной из основных задач относится определение зависимости роста отдельных организмов или популяций от обеспеченности энергией и питательными веществами. Для решения такого рода задач микроводоросли являются уникальным модельным объектом. Это связано с тем, что источником энергии для микроводорослей является свет, который можно мгновенно отключить, не изменяя другие внешние условия среды.

Рассмотрим основную задачу биокинетики на примере микроводорослей. Наиболее часто употребляемой выходной характеристикой роста является удельная скорость, которая не зависит от массы и объема изучаемой популяции. Заметим, что удельная скорость роста является интенсивным параметром.

Введём понятия и обозначения для рассматриваемой величины.

По определению [18], удельная скорость роста (μ) представляет собой величину

скорости роста биомассы (P), нормированную относительно биомассы (B). Т.е. удельная скорость роста показывает, сколько единиц биомассы синтезируется всей растущей биомассой в единицу времени (t):

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

Так как биомасса и скорость роста являются экстенсивными параметрами и зависят от объёма, отнесем эти величины к объёму, не изменяя обозначений. В результате объём сократится, и мы получим величины, определяемые как плотность культуры (B) и продуктивность (P). Биомассу и скорость можно отнести также к освещаемой поверхности системы культивирования.

Культура микроводорослей представляет собой популяцию клеток. Принимая, что в единице объёма (или площади) средний прирост числа клеток dn за бесконечно малый промежуток времени dt пропорционален концентрации клеток n , можно записать дифференциальное уравнение для скорости роста:

$$\frac{dn}{dt} = \mu \cdot n.$$

Здесь μ – коэффициент. Этот коэффициент называют удельной скоростью размножения, темпом деления клеток, удельной скоростью деления, константой размножения и т.д.

Запишем последнюю формулу в виде:

$$\mu = \frac{dn}{n \cdot dt}.$$

Биомассу (плотность культуры) можно представить как сумму масс отдельных клеток (в единице объёма или площади):

$$B = \sum_{k=1}^{k=n} b_k,$$

где: b_k – масса k -й клетки; k – номер клетки, $k=1, 2, \dots, n$; n – концентрация клеток.

Если возрастная структура популяции не изменяется в течение некоторого времени, а, следовательно, не изменяется и средняя масса клетки (b), то удельная скорость деления на этом промежутке времени равна удельной скорости роста:

$$\mu = \frac{dn}{n \cdot dt} = \frac{b \cdot dn}{b \cdot n \cdot dt} = \frac{dB}{B \cdot dt}.$$

Эта формула показывает эквивалентность кинетической характеристики роста биомассы микроводорослей в культуре и популяционной характеристики роста концентрации клеток. Удельная скорость роста зависит от множества факторов внешней среды, но не может превышать некоторого видоспецифического максимального значения (μ_m), поэтому для сравнительных оценок удобно пользоваться нормированной относительно этого значения величиной удельной скорости роста:

$$\mu_{norm} = \frac{\mu}{\mu_m}.$$

Эта величина может принимать значения от 0 до 1.

Максимальная скорость, с которой может синтезироваться биомасса (или максимальная скорость размножения клеток):

$$P_m = \mu_m \cdot B.$$

Т.е. для условий непрерывного стационарного роста:

$$P_{norm} = \frac{P}{P_m} = \frac{\mu \cdot B}{\mu_m \cdot B} = \mu_{norm}.$$

Согласно принципу лимитирующих факторов Либиха, скорость роста определяется тем элементом питания, который находится в минимуме [23]. Принцип был обобщен Ф. Блекманом на другие внешние факторы, не связанные с питанием [17], а Ж. Моно ввел понятие «узкого места» метаболизма, которое в целом ограничивает скорость роста организма [26, 26]. К эквивалентам понятия узкого места можно отнести понятия лимитирующей стадии в химической кинетике или лимитирующего звена в цепи ферментативных реакций [14]. Чтобы избежать двусмысленности терминологии, разделим понятия лимитирующего фактора и лимитирующего звена (узкого места). Под лимитирующим фактором будем понимать внешний поток энергии или вещества, который ограничивает скорость роста организма. Под узким местом будем подразумевать внутреннюю

структуру системы метаболизма, которая ограничивает скорость при полном обеспечении организма энергией или элементами питания. В контексте данной работы кинетической характеристикой узкого места является величина μ_m , определяемая как активность фермента [4] или транспортной системы.

В узком месте контролируется синтез некоторой составляющей биомассы b_{lim} , без которой невозможно полноценное развитие и рост клеток, т.е. концентрация данного вещества в общей биомассе должна быть не ниже некоторой величины:

$$\psi_{min} = \frac{b_{lim}}{B}.$$

Скорость и удельная скорость синтеза этого вещества:

$$P^b = \frac{db_{lim}}{dt},$$

$$\mu = \frac{db_{lim}}{b_{lim} \cdot dt} = \frac{P^b}{b_{lim}} = \frac{P^b}{\psi_{min} \cdot B}.$$

Максимальная скорость синтеза лимитирующей составляющей биомассы будет определяться количеством ферментных, транспортных или аналогичных им структурных образований в клетке, являющихся узким местом, F_0 . Если содержание таких образований в единице биомассы f , то максимальная скорость их синтеза:

$$P_m^b = \mu_m \cdot F_0 = \mu_m \cdot f \cdot B.$$

Скорость синтеза будет прямопропорциональна количеству лимитирующих звеньев, занятых в данный момент времени синтезом лимитирующей составляющей биомассы, F^* :

$$P^b = \mu_m \cdot F^*.$$

Т.е. для условий непрерывного стационарного роста будут выполняться следующие соотношения:

$$P_{norm} = \mu_{norm} = \frac{P^b}{P_m^b} = \frac{\mu_m \cdot F^*}{\mu_m \cdot F_0} = \frac{F^*}{F_0}.$$

Отметим, что эти соотношения будут выполняться при условии, что не будут изменяться значения f и ψ_{min} для сравниваемых величин скоростей.

Для стационарного роста все удельные скорости равны:

$$\frac{dB}{B \cdot dt} = \frac{db_{lim}}{b_{lim} \cdot dt} = \frac{dF_0}{F_0 \cdot dt}.$$

Отсюда вытекают следующие соотношения:

$$\frac{dB}{dt} = \frac{1}{\psi_{min}} \cdot \frac{db_{lim}}{dt},$$

$$\frac{dF_0}{dt} = \frac{f}{\psi_{min}} \cdot \frac{db_{lim}}{dt}.$$

Первое уравнение фактически отражает утверждение о том, что скорость роста определяется скоростью синтеза лимитирующей составляющей биомассы, без которой невозможно полноценное развитие и рост организма. Второе уравнение указывает на то, что скорость синтеза лимитирующих звеньев (узких мест) также прямолинейно зависит от скорости синтеза лимитирующего компонента биомассы.

Если скорость роста определяется внешним лимитирующим фактором, связанным с питанием, то входным параметром будет поток энергии или вещества. В гидрoэкологии чаще всего используют величины концентраций лимитирующих элементов в окружающей среде. С термодинамической точки зрения такой подход не вполне корректен, но опосредованно приемлемо изучать кинетические характеристики в зависимости от концентраций, т.к. потоки, являющиеся интенсивными параметрами, можно выразить через концентрации.

Рассмотрим, как зависит скорость синтеза лимитирующей составляющей биомассы от величины потока элементов питания, поступающего в клетку из внешней среды. При лимитировании роста одним из элементов питания скорость роста будет ниже максимальной, и будет определяться величиной потока этого элемента в клетку. В частности, для микроводорослей удельный поток (на единицу площади поверхности) элементов питания из водной среды (λ_{Ω}) связан с концентрацией этих элементов в среде (S):

$$\lambda_{\Omega} = K_{\lambda} \cdot S,$$

где K_{λ} - коэффициент проницаемости клеточной поверхности для данного элемента.

питания.

Для клетки, имеющей площадь поверхности σ , через которую поступает питание, поток будет равен:

$$\lambda_b = K_\lambda \cdot \sigma \cdot S.$$

Для сравнительных оценок удобнее пользоваться величиной приведённой плотности потока элементов питания, λ . Эта величина показывает количество единиц элементов питания, поступающих на каждую единицу лимитирующего звена, за время, равное времени оборота лимитирующего звена. Учитывая, что время оборота представляет собой величину, обратную активности этой единицы (в нашем случае, μ), для приведённой плотности потока можно записать:

$$\lambda = \frac{\lambda_b}{\mu_m \cdot f \cdot b}.$$

Или:

$$\lambda = \frac{K_\lambda \cdot \sigma}{\mu_m \cdot f \cdot b} \cdot S = \frac{K_\lambda \cdot \sigma \cdot n}{\mu_m \cdot f \cdot b \cdot n} \cdot S = \frac{K_\lambda \cdot \Omega}{\mu_m \cdot f \cdot B} \cdot S.$$

Здесь $\Omega = n \cdot \sigma$ – общая поверхность всех n клеток (составляющих биомассу, $B = n \cdot b$), через которую поступает лимитирующий поток питания. Заметим, что приведённая плотность потока питания является безразмерной величиной.

Эффективность использования потока питания (φ) характеризуется отношением скорости синтеза лимитирующей составляющей биомассы к величине потока субстрата, обеспечивающего этот синтез, т.е. потока на лимитирующее звено:

$$\varphi = \varphi_m \cdot \frac{\mu}{\lambda \cdot \mu_m}.$$

Здесь φ_m – множитель, показывающий минимальное количество единиц питания, необходимое для получения одной единицы биомассы, или истинная потребность в субстрате [3, 12]. Для отдельной клетки это отношение можно представить в виде:

$$\varphi = \varphi_m \cdot \frac{\mu \cdot f \cdot b}{\lambda_b} = \varphi_m \cdot \frac{\mu \cdot f \cdot b}{\lambda \cdot \mu_m \cdot f \cdot b} = \varphi_m \cdot \frac{\mu}{\lambda \cdot \mu_m}.$$

В нормированном виде получим величину, изменяющуюся от нуля до единицы:

$$\varphi_{norm} = \frac{\varphi}{\varphi_m} = \frac{\mu_{norm}}{\lambda}.$$

Отсюда:

$$\mu_{norm} = \varphi_{norm} \cdot \lambda.$$

На рис. 1 приведены типичные кривые зависимости скорости роста популяции клеток (биомассы) от концентрации питательных веществ в водной среде, представленные в нормированном виде. Здесь же показана зависимость эффективности использования потока питательных веществ организмами, вытекающая из последнего уравнения.

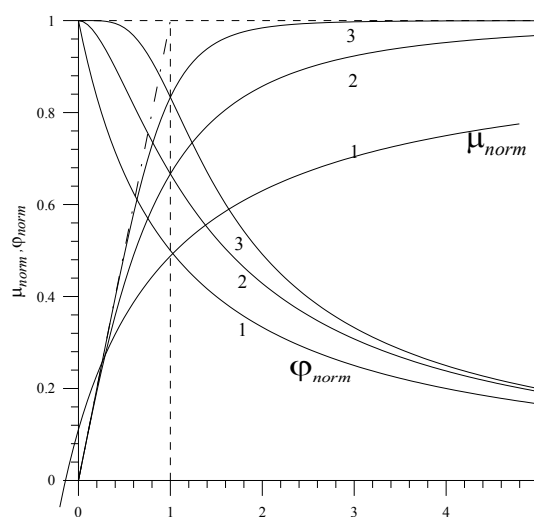


Рис. 1 Типичные формы зависимости скорости роста (μ_{norm}) и наблюдаемого экономического коэффициента для лимитирующего фактора (φ_{norm}) от концентрации пищи (приведенной плотности потока элементов питания, λ) (1, 2, 3 – ёмкость субстратного депо)

Fig. 1 Typical patterns of growth rate dependence (μ_{norm}) and the observed economic coefficient for the limiting factor (φ_{norm}) on food concentration (reduced density of flux of food elements, λ)

Представление кинетических зависимостей в нормированном виде позволяет сделать оценку организации лимитирующего звена (узкого места) по характеру кривых. Теоретический подход к такой оценке дан в [9]. В частности, характер кривых определяется ёмкостью депо элементов питания (или промежуточных продуктов) в метаболической цепи перед лимитирующим звеном. На рис. 1 видно, что клетки с лучшей организацией метаболических

систем (ёмкость депо выше) при равных потоках питания растут быстрее, и с большей эффективностью используют этот поток.

Микроэволюция. Непрерывная культура микроводорослей представляет собой открытую систему, в которую поступает питательная среда с некоторой удельной скоростью, и с такой же скоростью вытекает суспензия клеток. Для динамически равновесных (стационарных) состояний удельная скорость роста равна удельной скорости протока. Если в какой-то момент времени в культуре появятся клетки с более высокой организацией метаболической системы, то при любых величинах плотности потока питания удельная скорость роста этих клеток будет выше, чем у клеток с низкой организацией. Доля более организованных клеток будет возрастать и в конце концов полностью вытеснит клетки с худшей организацией узкого места. Иная картина будет наблюдаться, если в культуре появятся клетки с худшей организацией метаболической системы. Ясно, что такие клетки будут всегда вытесняться из системы культивирования, т.е. в непрерывной культуре происходит автоселекция штаммов с более высокой удельной скоростью роста.

Вернёмся к формуле, связывающей приведённую плотность потока питания в клетку с её геометрией:

$$\lambda = \frac{K_{\lambda} \cdot \sigma}{\mu_m \cdot f \cdot b} \cdot S.$$

Соотношение поверхности клетки и её объёма (выраженного через массу) увеличивается при уменьшении размеров клетки и увеличении её поверхности, что увеличивает поток питания в клетку. Это приводит к увеличению скорости роста, и, соответственно, к автоселекции более мелких клеток или клеток с негладкой поверхностью.

Рассматривая характеристики роста и эффективности при единичном потоке ($\lambda=1$), можно заметить, что при таком потоке наблюдаются наибольшие различия в значениях скорости и эффективности для систем с разной

организацией. Ясно, что микроэволюционные явления будут происходить более быстро при единичных потоках и будут связаны с отбором более организованных систем. Причем стратегия эволюции при единичных потоках будет универсальной, так как отбор будет происходить в сторону оптимального соотношения удельной скорости и эффективности использования субстрата. Это указывает на то, что эти кинетические свойства, рассматриваемые отдельно, не могут служить характеристиками глобальной стратегии эволюции и являются только частными случаями более общей характеристики. Такой универсальной характеристикой может служить величина, равная произведению скорости на эффективность. Эффективная скорость может быть представлена в нормированном виде:

$$\Lambda_{norm} = \mu_{norm} \cdot \varphi_{norm}.$$

Выражение для эффективной скорости можно записать иначе:

$$\Lambda_{norm} = \frac{\mu_{norm}^2}{\lambda},$$

$$\Lambda_{norm} = \varphi_{norm}^2 \cdot \lambda.$$

В математическом отношении полученная функция обладает одним очень важным свойством, а именно: эффективная скорость имеет максимум, т.е. может служить универсальной характеристикой микроэволюционных процессов, связанных с отбором наиболее выгодной организации систем. Кроме того, максимум лямбда-функции расположен в точке, соответствующей единичному потоку, т.е. система для реализации наиболее выгодного отбора будет стремиться к этой точке. Анализ и графическое представление полученной функции более подробно рассмотрены в работе [8].

Фотобиосинтез. Свет как источник энергетического питания для растений обладает уникальным свойством: это – единственный элемент питания, который можно мгновенно выключить.

Используя это свойство в экспериментальных исследованиях, удалось изучить механизмы первичной трансформации световой

энергии и сопряжения фотосинтетических и биосинтетических процессов. В упрощённом виде схему фотобиосинтеза можно представить следующим образом (рис 2). В процессе световой стадии фотосинтеза происходит поглощение света ($h\nu$) пигментами антенны и миграция энергии к реакционному центру. В реакционном центре специфический пигмент (ловушка возбуждения), отдаёт электрон в цепь пигментов – переносчиков заряда и восстанавливается за счёт электрона от воды. При этом выделяется кислород (O_2). В результате переноса электрона происходит фотофосфорилирование с образованием АТФ и НАДФ·Н из фосфора, АДФ и НАДФ⁺. На этом заканчиваются процессы собственно фотосинтеза. Синтез биомассы из минеральных элементов (S) происходит за счёт высокоэнергетических соединений АТФ и НАДФ·Н, которые обеспечивают энергией процессы биосинтеза с образованием АДФ и НАДФ⁺.

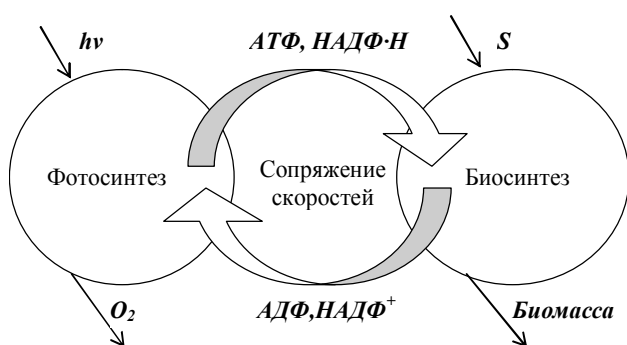


Рис. 2. Схема сопряжения световых (фотосинтез) и темновых (биосинтез) реакций у микроводорослей. Пояснения в тексте.

Fig. 2. The scheme of agreement between light (photosynthesis) and dark (biosynthesis) reactions of microalgae. Explanations are given in the text.

Для микроводорослей характерна еще одна черта, выделяющая их в качестве удобных модельных объектов. Особенность состоит в чётком разделении потоков энергетического и минерального питания и механизмов их трансформации. На схеме показано, что местом сопряжения являются реакции, при которых происходит обмен биовалюты.

Если рост лимитируется энергией света, то скорость роста будет определяться скоростью образования энергетической биовалюты (АТФ или НАДФ·Н):

$$\frac{dB}{dt} = \frac{1}{\psi_{min}} \cdot \frac{db_{lim}^E}{dt}$$

При лимитировании роста элементами минерального питания скорость роста будет ограничена расходом биовалюты (образованием АДФ или НАДФ⁺):

$$\frac{dB}{dt} = \frac{1}{\psi_{min}} \cdot \frac{db_{lim}^S}{dt}$$

При условии:

$$АТФ + АДФ = const,$$

$$НАДФ \cdot Н + НАДФ^+ = const,$$

получим: $\frac{db_{lim}^E}{dt} = \frac{db_{lim}^S}{dt}$.

В данной работе мы не будем подробно анализировать полученные уравнения. Отметим только, что лимитирующее звено (узкое место) всегда представляет собой место сопряжения энергетических и массообменных процессов. В этом месте происходит регулирование и согласование скоростей, которые определяют рост организмов в целом.

Зависимости скорости фотосинтеза, измеренные по скорости выделения кислорода и по скорости синтеза биомассы, имеют существенные различия. Неоднозначность можно объяснить тем, что время измерения скорости выделения кислорода занимает минуты, а время для измерения прироста биомассы составляет часы. Причем время достижения динамически равновесного состояния может занимать сутки из-за длительных переходных процессов, связанных с адаптацией к изменившимся световым условиям. Адаптация проявляется в настройке (перестройке) фотосинтетического аппарата клеток к другой интенсивности света [21, 24].

Приведем пример анализа световых кривых фотосинтеза с помощью их представления в нормированном виде [10, 11]. Семейст-

во экспериментальных световых кривых фотосинтеза непрерывной культуры микроводорослей, выращенных при разных интенсивностях действующего света, после достижения ими стационарных значений заданной удельной скорости роста показано на рис. 3.

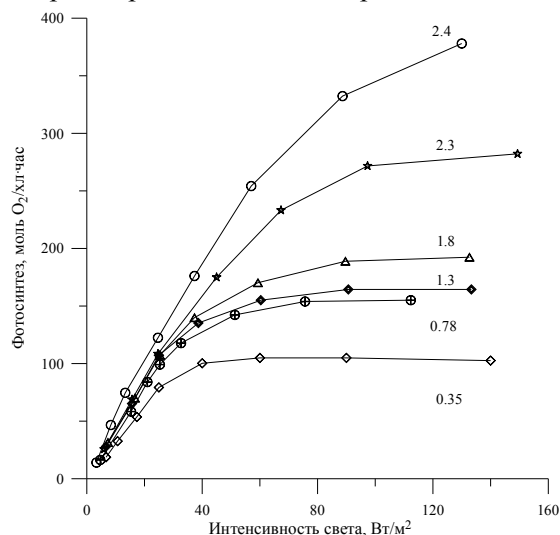


Рис. 3. Зависимость скорости фотосинтеза от интенсивности света для микроводорослей, выращенных в непрерывной хемостатной культуре с разной удельной скоростью протока среды (скорость протока указана цифрами на кривых (1/сутки) [25]).

Fig. 3. Dependence of photosynthesis rate on light intensity for the microalgae grown in continuous chemostat culture at different specific velocity of medium flux. The flux velocity is shown by figures on the curves (1/days) [25].

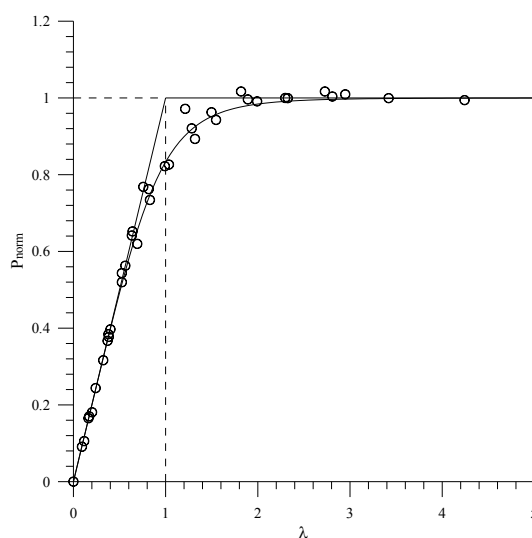
Эти же данные, представленные в нормированном виде, представляют собой одну общую кривую (рис. 4).

Отсюда следует, что адаптация к изменившимся световым условиям не влияет на структурную организацию лимитирующего звена, а проявляется только в изменении размера фотосинтетической единицы, т.к. данные приведены в расчёте на единицу хлорофилла. Кроме того, расчётные данные позволили оценить ёмкость субстратного депо, которая составляет 3 единицы. Расчётная кривая показана на рис. 4 сплошной линией.

Динамика популяций. Кинетика популяций рассматривает зависимости роста от факторов внешней среды, не связывая их с движущими силами, определяющими этот

рост. Для получения термодинамически корректных описаний динамики роста отдельного организма или популяции необходимо определить движущие силы в виде интенсивных параметров, характеризующих направление процессов в системе, в которой данная популяция развивается. При этом, как правило, скорость процессов пропорциональна разности потенциалов, которая и является движущей силой.

Рис. 4. Зависимость нормированных значений ско-



рости фотосинтеза (P_{norm}) от нормированных значений интенсивности света (приведённой плотности потока квантов световой энергии на один РЦ, λ).

Fig. 4. Dependence of normalized values of photosynthesis rate (P_{norm}) on normalized values of light intensity (reduced density of quantum flux of light energy per one RC, λ).

С этой точки зрения величину приведённой плотности потока энергетического питания можно рассматривать в качестве величины потенциала. Действительно, этот параметр является интенсивным, он включает как внешние условия в виде учёта практически всех физико-химических факторов среды через характеристики потока, так и внутренние свойства организма в виде структуры лимитирующего звена и основной кинетической характеристики – максимальной удельной скорости роста (удельный биопотенциал). В этом смысле приведённую плотность потока питания уместно назвать удельным *экологическим потенциалом*, уточняя термином «экологический» принад-

лежность данного понятия к совокупности организма и внешней среды и их взаимодействию.

Заметим, что если в уравнении для приведённой плотности потока питания заменить концентрацию элементов минерального питания на их химическую активность, то можно увидеть, что экотенциал прямопропорционален отношению химического потенциала среды и биопотенциала организма.

Рассмотрим рост популяции в открытой системе на примере непрерывной культуры микроводорослей. Непрерывный рост микроводорослей обеспечивается подачей питательной среды в систему культивирования с некоторой удельной скоростью ω при одновременном отборе равноценного объёма культуры с такой же скоростью. То есть из внешней среды поступает лимитирующий элемент питания со скоростью:

$$\frac{dS_0}{dt} = \omega \cdot S_0.$$

Прирост биомассы клеток в системе будет уменьшать концентрацию элементов питания (в единицу времени) на величину:

$$-\frac{dS_B}{dt} = \varphi_m \cdot \frac{dB}{dt} = \varphi_m \cdot P.$$

Т.е. в системе концентрация элементов питания будет ниже и вынос элементов питания с протоком будет происходить со скоростью:

$$\frac{dS}{dt} = \omega \cdot S.$$

Скорость изменения концентрации элементов питания в системе будет определяться разностью скорости их подачи и скоростей потребления клетками и выноса с протоком:

$$\frac{dS}{dt} = \omega \cdot S_0 - \varphi_m \cdot P - \omega \cdot S = \omega \cdot (S_0 - S) - \varphi_m \cdot P.$$

Для условий стационарного роста получим динамически равновесную систему:

$$\frac{dS^*}{dt} = \omega \cdot (S_0 - S^*) - \varphi_m \cdot P^* = 0.$$

Отсюда находим выражение для продуктивности непрерывной проточной культуры:

$$P^* = \frac{\omega}{\varphi_m} \cdot (S_0 - S^*).$$

Из формулы следует, что продуктивность популяции определяется разностью концентраций пищи на входе и выходе (= внутри) системы культивирования и наоборот. По существу последняя формула представляет собой банальное выражение закона сохранения. Однако градиент концентраций элементов питания указывает на возможность рассматривать уравнение для оценки движущих сил, хотя этот градиент не может рассматриваться в виде движущей силы, т. к. не является интенсивным параметром.

Для получения термодинамически корректного уравнения, достаточно выразить зависимость продуктивности через максимальные и текущие значения приведенной плотности потока питания:

$$\lambda_m = \frac{K_\lambda \cdot \sigma}{\mu_m \cdot f \cdot b} \cdot S_0 = T \cdot S_0,$$

$$\lambda^* = \frac{K_\lambda \cdot \sigma}{\mu_m \cdot f \cdot b} \cdot S^* = T \cdot S^*,$$

$$T = \frac{K_\lambda \cdot \sigma}{\mu_m \cdot f \cdot b},$$

$$P^* = \frac{\omega}{\varphi_m \cdot T} \cdot (\lambda_m - \lambda^*).$$

В итоге получено динамическое уравнение, связывающее продуктивность популяции с градиентом экотенциалов, который является интенсивным параметром и его можно рассматривать в качестве движущей силы. Любые изменения продуктивности определяются либо изменением скорости обмена с внешней средой (например, изменением скорости протока среды или концентрации элементов питания на входе), либо внутренними свойствами популяции (например, уменьшением коэффициентов использования пищи или изменением структуры и геометрии организма). В последнем случае происходит автоселекция организмов с меньшими значениями обобщенного коэффициента T .

Полученное уравнение можно представить в разных формах:

$$P^* = \frac{\omega}{\varphi_m \cdot T} \cdot (\lambda_m - \lambda^*) = \frac{\omega \cdot \lambda_m}{\varphi_m \cdot T} \cdot \left(1 - \frac{\lambda^*}{\lambda_m}\right),$$

$$\lambda_m = T \cdot \varphi_m \cdot B_m,$$

$$P^* = \omega \cdot B_m \cdot \left(1 - \frac{\lambda^*}{\lambda_m}\right).$$

Обратим внимание, что величина максимальной плотности культуры (B_m) по смыслу может интерпретироваться как величина, носящая в экологии название *максимальной поддерживающей ёмкости среды* [5].

$$B_m = \frac{I}{\varphi_m \cdot T} \cdot \lambda_m.$$

Последняя формула показывает, что максимальная поддерживающая ёмкость среды определяется максимальным значением удельного экотенциала.

Продуктивность культуры можно представить как сумму скоростей отбора биомассы и изменения плотности культуры:

$$P = \omega \cdot B + \frac{dB}{dt}.$$

Для условий динамического равновесия:

$$\frac{dB^*}{dt} = 0,$$

$$P^* = \omega \cdot B^*.$$

Подставляя последнее выражение в формулу для продуктивности, находим стационарные значения плотности популяции:

$$B^* = \frac{\lambda_m - \lambda^*}{\varphi_m \cdot T} = \frac{I}{\varphi_m \cdot T} \cdot (\lambda_m - \lambda^*),$$

$$B^* = B_m \cdot \left(1 - \frac{\lambda^*}{\lambda_m}\right).$$

Ранее отмечалось, что эффективная скорость имеет максимум в точке, соответствующей единичному значению приведённой плотности потока питания или удельного экотенциала. Плотность культуры в открытой системе всегда изменяется в сторону, обеспечивающую приближение удельного экотенциала к единице. Действительно, при величине удельного экотенциала больше единицы, клетки полностью обеспечены питанием и растут с максимальной скоростью. Это приводит к увеличению плотности культуры и уменьше-

нию обеспеченности клеток, т.е. удельный экотенциал уменьшается. Если он уменьшится ниже единицы, то уменьшатся скорость роста и плотность культуры за счёт вымывания с протоком, что приведёт к увеличению удельного экотенциала и соответствующему увеличению скорости роста и плотности.

Отсюда можно сделать важный вывод: авторегуляция в открытой системе происходит таким образом, чтобы обеспечить максимальное значение эффективной скорости роста. Это реализуется путём изменения плотности популяции в сторону, обеспечивающую приближение величины удельного экотенциала к единичному значению. Изменения плотности культуры при изменении условий всегда направлены в сторону компенсации этих изменений таким образом, чтобы приблизить величину приведённой плотности потока питания к единице. Вероятно, мы имеем дело с законом, который можно записать в виде [8]:

$$\boxed{\frac{dB}{dt} = \omega \cdot B \cdot (\lambda - I)}.$$

Заключение. Рассматривая культуру микроводорослей как модельный объект в гидроэкологических исследованиях, необходимо отметить некоторые существенные моменты, выделяющие микроводоросли как объект, обладающий уникальными свойствами.

Во-первых, многие виды микроводорослей являются облигатными фототрофами. При этом свет является единственным энергетическим субстратом, поток которого в организм можно практически мгновенно остановить, не изменяя другие внешние условия. Это свойство позволило поставить вопрос о временной и структурной организации лимитирующего звена в последовательности преобразования энергии и вещества в клетке. Введение понятия организации в виде величин мультицентральности и ёмкости субстратного депо показало, что эти величины существенно влияют на кинетику роста организмов. Кроме того, такой подход привел к необходимости введения понятия приведённой плотности

потока питания. Это понятие позволяет не только делать сравнительную оценку организации систем метаболизма, но и рассматривать его в качестве величины удельного экотенциала, максимальное значение которого прямо пропорционально величине максимальной поддерживающей ёмкости среды, понятию, используемому в экологии.

Во-вторых, система фотобиосинтеза микроводорослей может быть чётко разделена на две системы: фотосинтеза и биосинтеза. Это свойство микроводорослей позволяет решать задачи, связанные с проблемами энерго- и массообмена в гидробионтах. По крайней мере, разделение систем однозначно указывает на то, что лимитирующим звеном является место сопряжения энергетических и биосинтетических реакций в клетках, где происходит согласование скоростей энерго- и массообмена.

В третьих, высокая скорость роста микроводорослей и их микроскопические размеры позволяют работать с популяциями высокой плотности, аналогичными микробным, а в совокупности с фототрофными свойствами решать задачи трофодинамики и управления живыми организмами. Рассматривая рост микроводорослей в непрерывной культуре, как открытой системе, удалось показать, что разность между максимальным и текущим значением удельного экотенциала является движущей силой развития популяции. Кроме того, направление развития популяции в открытой системе всегда стремится к значению удельного экотенциала, равному единице, т.е. к величине, при которой нормированное значение эффективной скорости достигает максимума.

1. *Белянин В. Н.* Светозависимый рост низших фототрофов. – Новосибирск: Наука, 1984. – 96 с.
2. *Белянин В. Н., Сидько Ф. Я., Тренкениу А. П.* Энергетика фотосинтезирующей культуры микроводорослей. – Новосибирск: Наука, 1980. – 136 с.
3. *Гуревич Ю. Л., Печуркин Н. С.* Устойчивость и регуляция размножения в микробных популяциях. – Новосибирск: Наука, 1984. – 161 с.
4. *Диксон М., Уэбб Э.* Ферменты. Т. 1. – М.: Мир, 1982. – 392 с.
5. *Одум Ю.* Экология. Т. 1. – М.: Мир., 1986. – 328 с.
6. *Печуркин Н. С., Терсков И. А.* Анализ кинетики роста и эволюции микробных популяций (в управляемых условиях). – Новосибирск: Наука, 1975. – 216 с.
7. *Терсков И. А., Гительзон И. И., Сидько Ф. Я., Ковров Б. Г., Батов В. А., Белянин В. Н.* Интенсивное непрерывное культивирование хлореллы в плотностном режиме при различной освещенности // Управляемое культивирование микроводорослей. – М.: Наука, 1964. – С. 55-84.
8. *Тренкениу Р. П.* Кинетика реакций при различной организации метаболических систем. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2005. – 91 с.
9. *Тренкениу Р. П.* Влияние организации «узкого места» метаболизма на кинетику ферментативного превращения субстрата // Молекуляр. биол. – 1988. – **22**, вып. 6. – С. 1464 – 1472.
10. *Тренкениу Р. П.* Применение теории массового обслуживания в биокинетике // Эволюционное моделирование и кинетика. – Новосибирск: Наука, 1992. – С. 125 – 160.
11. *Тренкениу Р. П., Вопилова Л. В.* Описание мгновенных световых кривых фотосинтеза // Изв. СО АН СССР. Сер. биол. наук. – 1989. – Вып. 3. – С. 93 – 99.
12. *Тренкениу Р. П., Лелеков А. С.* Простейшие модели роста микроводорослей 3. Потребность микроводорослей в элементах минерального питания // Экология моря. – 2005. – Вып. 70. – С. 53 – 61.
13. *Финенко З. З., Ланская Л. А.* Рост и скорость деления водорослей в лимитированных объёмах воды // Экологическая физиология морских планктонных водорослей. – Киев: Наук. думка, 1971. – С. 22 – 50.
14. *Чернавский Д. С., Иерусалимский Н. Д.* К вопросу об определяющем звене в системе ферментативных реакций // Изв. АН СССР. Сер. биол. – 1965.- № 5. – С. 665 – 672.
15. *Anderson P. A.* Automatic recording of the growth rates of continuously cultured microorganisms // J. of General Physiol. – 1953. – **36**. – P. 733 – 739.
16. *Bannister T. T.* Quantitative description of steady state, nutrient-saturated algal growth, including adaptation // Limnol. Oceanogr. – 1979. – **24**, No.1. – P. 76 – 96.
17. *Blackman F. F.* Optima and limiting factors // Ann. Bot. Lond. – 1905. – **19**. – P. 281 – 295.
18. *Blackman V. N.* The compound interest law and plant growth // Ann. Bot. Lond. – 1919. – **33**. – P. 353 – 360.

19. Bryson V. Microbial selection. The turbidostatic selector – a device for automatic isolation of bacterial variants // *Science*. – 1952. – **117**. – P. 48 – 52.
20. Finenko Z. Z., Hoepffner N., Williams R., Piontkovski S. A. Phytoplankton carbon to chlorophyll a ratio: response to light, temperature and nutrient limitation // *Mar. Ecol. J.* – 2003. – **2**, № 2. – P. 40 – 63.
21. Flynn K.J. Do we need complex mechanistic photoacclimation models for phytoplankton? // *Limnol. Oceanogr.* – 2003. – **48**, №6. – P. 2243 – 2249.
22. Ketchum B.H., Redfield A.C. A method for maintaining a continuous supply of marine diatoms by culture // *Biol. Bull.* – 1938. – **75**. – P. 165 – 169.
23. Liebig J. Chemistry in its Application to Agriculture and Physiology. – London: Taylor and Walton, – 1847. – 320 p.
24. Macintyre, H. L., Kana T. M., Anning T., Geider R. J. Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria // *J. Phycol.* – 2002. – **38**. – P. 17 – 38.
25. Monod J. La technique de culture continue. Theorie et applications // *Ann. Inst. Pasteur.* – 1950. – **79**. – P. 390 – 410.
26. Monod J. The Growth of Bacterial Cultures // *Ann. Rev. Microbiol.* – 1949. – **3**. – P. 371 – 394.
27. Novick A., Szilard L. Description of the chemostat // *Science*. – 1950. – **112**. – P. 715 – 718.
28. Phillips J. N., Myers J. Growth rate of *Chlorella* in flashing light // *Plant Phys.* – 1954. – **29**, № 2. – P. 152 – 161.

Поступила 23 апреля 2009 г.
После доработки 28 июля 2009 г.

Культура мікрободоростей як модельний об'єкт в гідроекології. Р. П. Тренкеншу. Розглянуто підходи і методи, застосовані у рішенні завдань, які пов'язані з вивченням зростання мікрободоростей у культурі. Наведено приклади рішення частних завдань біокінетики, мікроеволюції, динаміки популяцій і фотобіосинтезу культур мікрободоростей. Детально розглянуто характеристики зростання мікрободоростей в проточній культурі, яка є відкритою системою. Наведено приклади аналізу експериментальних даних із використанням величин наведених значень для факторів, що лімітують, і нормованих значень для вихідних характеристик. Це дозволяє зробити оцінку організації ланки, що лімітує, у ланцюзі біохімічних реакцій, які детермінують зростання організму. Запровадження поняття ефективної швидкості і екопотенціалу дозволяє оцінити рушійні сили та напрям еволюції систем, які включають мікрободорості і зовнішню середу. Зокрема, показана можливість використання такого ж понятійного і формального апарату в гідроекологічних дослідженнях.

Ключові слова: гідроекологія, мікрободорості, лімітуючі чинники, організація «вузького місця», динаміка популяцій, еволюція екосистем

Culture of microalgae as modeling object in hydroecology. R. P. Trenkenshu. Some approaches and methods applied to the solutions of problems related to the study of microalgae growth in culture have been considered. Possibilities to apply similar conceptual and formal apparatus in hydroecological investigations have been shown. To illustrate solutions of some problems of biokinetics, microevolution, population dynamics and microalgae photosynthesis, several examples have been given. Characteristics of microalgae growth in flow culture which is an open system in itself have been considered in detail. An example of the experimental data analysis applying magnitudes of reduced values for limiting factors and normalized values for output photosynthesis characteristics of microalgae have been given. The analysis allows to estimate the organization of the limiting link (bottle neck) in the chain of chemical reactions determining the organism growth. Introduction of concepts of efficient growth rate and ecpotential allows to estimate driving forces and direction of evolution of systems including microalgae and environment.

Keywords: hydroecology, microalgae, limiting factors, the "bottleneck" organization, dynamics of populations, evolution of ecosystems