

М. МЯННИК

О ВЛИЯНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ ПИТАТЕЛЬНОГО РАСТВОРА НА НАКОПЛЕНИЕ БИОМАССЫ И АЗОТА В КЛЕТКАХ ХЛОРЕЛЛЫ

Одно из требований для массовых культур хлореллы — высокая интенсивность фотосинтеза при выращивании на минеральных средах с высокой концентрацией питательных солей. Это позволяет избежать частых добавлений элементов минерального питания несмотря на интенсивный рост водорослей (Владимирова, Семеновко, 1962).

Цель настоящей работы — выяснить, как влияют разные концентрации питательного раствора Тамия на накопление биомассы и азота у разных штаммов хлореллы.

Материал и методика

Исследуемые штаммы хлореллы 12, 2130, 2177 и 2359 были выделены из почв и водоемов Памира. Для сравнения в тех же условиях выращивания *Chlorella pyrenoidosa* Chick штамм 82.

Водоросли выращивались в конических колбах для натуральных соков с продуванием 20—21 л очищенного воздуха в час. Освещенность — 3000 ± 50 лк. Объем культуры — 1000 мл. Опыты были поставлены в четырех вариантах с 50, 100, 200 и 300%-ным содержанием питательного раствора Тамия (реактивы х. ч., бидистиллированная вода). Все опыты проводились в двух повторностях. Продолжительность опытов — 10 дней. Инокулят (бактериологически чистый) выращивали в тех же условиях на 100%-ном растворе Тамия. Начальное количество клеток во всех опытах — 0,75 млн/мл.

В конце опытов водоросли отделяли от среды центрифугированием в течение 10—15 мин при 4000 об/мин. Центрифугат сливали, а оставшиеся в осадке водоросли два раза промыли в дистиллированной воде, затем высушили до постоянного веса в термостате при 105°C. В сухих водорослях определяли содержание общего азота по полумикрометоду Кьельдаля (Бобранский, 1961). Ошибка определения — 0,5%. С помощью переводного коэффициента 6,25 рассчитали белок. Накопленное за время опыта органическое вещество определяли методом мокрого сжигания (Владимирова, Семеновко, 1962) отдельно в суспензии водорослей и в центрифугате. Разницу между полученными результатами приняли за действительный урожай биомассы. При помощи индикаторной бумаги «Phap» определили pH. Изменения температуры, как и все остальные данные, представлены в таблице.

Обсуждение результатов

Литературных данных о влиянии разных концентраций питательной среды и особенно гипертонического раствора на рост и развитие хлореллы довольно мало.

К. Ю. Соэдер (Soeder, 1960) показал, что под действием супероптимальных концентраций питательного раствора уменьшается размножение хлореллы. В наших условиях рост всех испытанных штаммов задерживался на 200 и 300%-ной среде Тамия (см. таблицу и рисунок). Наихудшим он был на повышенных концентрациях питательного раствора *Chlorella pyrenoidosa* Chick 82, продукция органического вещества соответственно 25 мг/л и 20 мг/л. Наиболее продуктивным в этих условиях оказался штамм 2359. Выход органического вещества на 200 и 300%-ном растворе — 365 мг/л и 240 мг/л. Даже 100%-ная среда Тамия тормозила рост хлореллы, за исключением штамма 12. Лучше всего все испытанные штаммы росли на 50%-ном растворе: наибольшее количество органического вещества накопил штамм 2359 — 535 мг/л; самую низкую продукцию на 50%-ном растворе Тамия дал опять же штамм 82.

В опытах Т. Годнева и Я. Ляхновича (1964) при выращивании *Chlorella terricola* Hollerb. на разных концентрациях питательного раствора Тамия (от 100% до 400%) таких резких различий в накоплении сухого вещества не отмечалось. Это соответствует выводу о том, что интенсивность роста на разных концентрациях питательного раствора зависит не от выращиваемых штаммов.

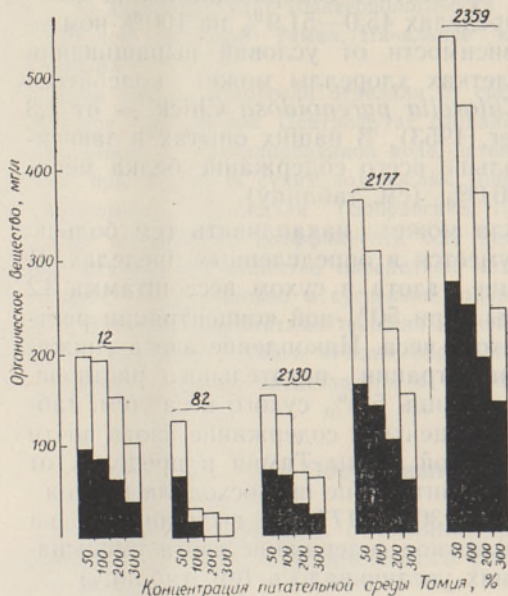
Итак, из наших опытов следует, что чем выше концентрация питательного раствора Тамия, тем меньше интенсивность роста и продукция биомассы.

Четкой зависимости содержания азота (белка) от концентрации питательного раствора у тех же штаммов не отмечалось. По данным литературы, в активно растущей культуре хлореллы в большом количестве синтезируются белки, хотя прямой зависимости между скоростью роста и содержанием белка не существует (Клячко-Гурвич, 1966). Например, к концу опыта со штаммом 12 в 100%-ном растворе Тамия им было накоплено 190 мг/л органического вещества с 43,8%-ным содержанием белка (см. таблицу). У штаммов 2130 и 2177 эти цифры были соответственно: 130 мг/л с 48%-ным содержанием белка и 305 мг/л с 45%-ным содержанием белка (см. таблицу). Обычно белки хлореллы составляют 50—60% от сухого веса клеток (Клячко-Гурвич, Семенов, 1966). В данных условиях на 50%-ном растворе процентное содержание белка колебалось в зависимости от штамма в пределах 45,0—51,9% на 100%-ном — 43,8—52,5% (см. таблицу). В зависимости от условий выращивания процентное содержание белка в клетках хлореллы может колебаться значительно больше, например, у *Chlorella pyrenoidosa* Chick — от 7,3 до 88,2% сухого веса клеток (Milner, 1953). В наших опытах в зависимости от концентрации раствора больше всего содержание белка менялось у штамма 2130 — от 35,0 до 50,0% (см. таблицу).

По В. Успенской (1966), хлорелла может накапливать тем больше азота, чем больше его в среде, разумеется в определенных пределах. В наших опытах процентное содержание азота в сухом весе штамма 12 явно зависело от концентрации среды. При 50%-ной концентрации раствора Тамия оно составляло 7,8% сухого веса. Накопление азота снижалось постепенно с увеличением концентрации питательного раствора. На 300%-ной среде Тамия азота было лишь 5,5% сухого веса (см. таблицу). У штаммов 2130, 2177 и 2359 процентное содержание азота почти не зависело от концентрации питательной среды Тамия в пределах от 50 до 200%. Разница между этими вариантами не превосходила возможных ошибок определения. У штаммов 2130 и 2177 при выращивании на 300%-ном питательном растворе процентное содержание азота уменьшалось, а у штамма 2359 в этих условиях увеличивалось (см. таблицу).

А. Антонян (1966), исследуя кратковременное действие гипертонической среды на культуру *Chlorella pyrenoidosa* Chick нашел, что в этих условиях поступление азота в клетки водорослей затруднено. Имела место задержка в накоплении белка. В клетках резко уменьшалась небелковая растворимая форма азота: чем дольше водоросли находились в растворе с высоким осмотическим давлением, тем больше становилась величина отношения белкового азота к небелковому. Увеличение количества белка под действием высокой концентрации питательного раствора следует рассматривать как свидетельство активного сбалансирования обмена. Даже в нормальных условиях излишки небелкового растворимого азота могут быть опасными для существования, в условиях же нарушенного обмена и затрудненного фотосинтеза любой избыток растворимого азота

может стать летальным вследствие своей



Данные, характеризующие рост разных штаммов хлореллы

Штамм	Концентрация питательного раствора, %	Количество органического вещества, мг/л	Азот, %	Белок, %	pH опытов	Колебания температуры в ходе опытов, °С
12	50	195	7,8	48,8	5,7	27,9±1,7
	100	190	7,0	43,8	5,0	
	200	150	6,6	41,3	5,0	
	300	100	5,5	34,4	5,0	
82	50	125	8,3	51,9	5,8	23,4±0,4
	100	30	8,4	52,5	5,0	
	200	25	—	—	5,0	
	300	20	—	—	4,0	
2130	50	150	7,5	46,9	5,7	23,4±0,3
	100	130	7,7	48,0	5,7	
	200	65	8,0	50,0	5,0	
	300	60	5,6	35,0	5,0	
2177	50	360	7,2	45,0	7,0	23,6±0,3
	100	305	7,2	45,0	6,4	
	200	220	7,3	45,6	5,6	
	300	150	5,9	36,9	5,3	
2359	50	535	8,0	50,0	7,0	28,9±1,5
	100	460	7,8	48,8	6,7	
	200	365	8,2	51,3	5,7	
	300	240	9,2	58,1	5,3	

Стандартный штамм (*Chlorella pyrenoidosa* Chick 82) почти не рос в наших условиях на 200 и 300%-ной среде Тамия. В связи с этим автор не имеет данных о влиянии повышенных концентраций питательного раствора на содержание азота в клетках. Но по процентному содержанию азота на 50%-ном растворе Тамия со штаммом 82 можно сравнить только штамм 2359. Процентное содержание азота соответственно 8,3 и 8,0 (см. таблицу). На 100%-ном растворе *Chlorella pyrenoidosa*

Влияние концентраций питательного раствора на накопление биомассы и азота у разных штаммов хлореллы (черным отмечено количество белка).

dosa Chick штамм 82 в процентном содержании белка превосходил все испытанные нами штаммы.

Если по накопленному органическому веществу и процентному содержанию азота вычислить урожай белка ($мг/л$), то окажется, что все испытанные штаммы превосходят *Chlorella pyrenoidosa* Chick штамм 82 (см. рисунок). При анализе полученных данных выяснилось, что с повышением концентрации питательного раствора вместе с биомассой уменьшается и урожай белка.

Выводы

В описанных условиях рост хлореллы явно зависел от концентрации питательного раствора Тамия.

1. Чем выше была концентрация (50, 100, 200 и 300%) питательного раствора, тем меньше продукция органического вещества и урожай белка ($мг/л$).

2. В процентном содержании азота четкой одинаковой зависимости от концентрации питательного раствора у испытанных штаммов не отмечено.

3. Накопление биомассы и содержание в нем белка на повышенных концентрациях питательного раствора зависит от штамма хлореллы.

4. Перспективным для получения высокобелковой биомассы на средах с большим содержанием солей оказался штамм 2359.

ЛИТЕРАТУРА

- Антонян А. А., 1966. Влияние экстремальных значений рН и концентраций питательной среды на рост и биохимический состав *Chlorella pyrenoidosa*. Автореферат. Ереван.
- Бобранский Б., 1961. Количественный анализ органических соединений. М.
- Владимирова М. Г., Семенов В. Е., 1962. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. М.
- Годнев Т. Н., Ляхнович Я. П., 1964. Влияние разных концентраций питательной среды Тамия на рост хлореллы. Сб. Физиологические особенности культивируемых растений : 10—14. Минск.
- Клячко-Гурвич Г. Л., 1966. К вопросу о направленном биосинтезе белков, углеводов и липидов у хлореллы. Сб. Управляемый биосинтез : 116—121. М.
- Клячко-Гурвич Г. Л., Семенов В. Е., 1966. Физиолого-биохимические аспекты направленного получения ценных метаболитов в условиях интенсивной культуры водорослей. Сб. Биология автотрофных микроорганизмов : 154—159. М.
- Успенская В. И., 1966. Экология и физиология питания пресноводных водорослей. М.
- Milner H. W., 1953. The chemical composition of algae. Carnegie Inst. Wash. Publ. 600 : 285—302.
- Soefer C. J., 1960. Studien zur Entwicklungsphysiologie von *Chlorella pyrenoidosa* Chick unter besonderer Berücksichtigung der Salzkonzentration im Medium. Flora 148 : 489—516.

Гартуский государственный университет

Поступила в редакцию
22/VI 1967

M. MANNIK

TOITELAHUSE KONTSETRATSIOONI MOJUST KLORELLA LÄMMASTIKUSISALDUSELE JA BIOMASSIPRODUKTSIOONILE

Resüme

Üheks klorella masskultuuridele esitatavaks nõudeks on intensiivse fotosünteesi võime kõrge toitesoolade kontsentratsiooniga mineraalses lahuses.

Uuritud klorellatüved pärinevad Pamiirist kogutud velikaproovidest. Võrdluseks kasvatati *Chlorella pyrenoidosa* Chick standardtüve nr. 82. Vetikaid kasvatati laboratoorses tingimustes 50-, 100-, 200- ja 300%-lises Tamiya toitelahuses. Katsete lõpul määrati kultuurides orgaanilise aine hulk ja üldlämmastikuisaldus.

Katsetest selgus, et klorellatüvede kasv ja keemiline koostis sõltuvad toitelahuse kontsentratsioonist: mida kõrgem see on, seda väiksemad on nii orgaanilise aine kui ka valgu saak (mg/l). Protsentuaalses lämmastikuisalduses ei täheldatud uuritud tüvedel ilmset, ühetaolist sõltuvust toitelahuse kontsentratsioonist. Selgus, et klorella kasv ja valgusisaldus Tamiya toitelahuse suurendatud kontsentratsioonide puhul on tüvespetsiifilised. Suure valgusisaldusega biomassi saamisel osutus parimaks tüvi nr. 2359.

Tartu Riiklik Ülikool

Saabus toimetusse
22. VI 1967

M. MANNIK

ON THE EFFECT OF THE CONCENTRATION OF THE NUTRIENT MEDIUM UPON THE YIELD OF ORGANIC MATTER AND NITROGEN CONTENT OF CHLORELLA CELLS

Summary

The *Chlorella* strains tested were isolated from waters and soils in the Pamirs. The *Chlorella pyrenoidosa* strain No. 82 was cultivated for comparison. The experiments were made in a Tamiya solution of different concentrations (50, 100, 200 and 300 per cent) under laboratory conditions. At the end of experiments, the total nitrogen content and the production of organic matter were determined. The growth and chemical composition of the experimental *Chlorella* strains depended on the concentration of the cultivation medium. The higher the concentration of the Tamiya solution, the smaller the production of organic matter and the yield of protein. The percentage of nitrogen, varying in different strains cultivated in the same medium, depended on the concentration of the Tamiya solution. On the basis of these experiments, strain No. 2359 was selected for further experiments.

Tartu State University

Received
June 22, 1967