

Г. А. КАРАУШ, Л. Д. ГАПОЧКА

**ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
РАЗВИВАЮЩИХСЯ КУЛЬТУР НЕКОТОРЫХ СИНЕЗЕЛЕННЫХ
ВОДОРΟΣЛЕЙ**

(Представлено академиком А. Н. Белозерским 11 II 1970)

Интенсивность фотосинтеза водорослей может служить своего рода тестом их физиологической активности. В свою очередь, процесс фотосинтеза характеризуется такими показателями, как скорость потребления углекислоты, выделения кислорода, накопления биомассы. Физиологическое состояние клеток водорослей зависит от многих факторов (от возраста и вида культуры, условий культивирования, температуры, света и т. д.) и изменяется в процессе развития водорослей.

Так, при определении физиологического состояния клеток по их способности восстанавливать трифенилтетразолийхлорид в формазан на протяжении развития культуры (³) было показано, что морфологически дифференцированные клетки в развивающихся культурах синезеленых водорослей находятся в разном физиологическом состоянии в зависимости от фазы роста. Изменение физиологической активности связано с тем, что в каждый момент времени число мертвых клеток пропорционально числу живых (⁴). Автором было высказано предположение, что в основе обнаруженной закономерности лежит постоянство гибели потомства каждой клетки.

Физиологическую активность культуры могут характеризовать и другие явления. Например, была исследована физиологическая активность культуры *Chlorella* sp. (⁴) на 1; 2 и 3 сутки непрерывного культивирования. Было показано, что физиологическая активность культуры выше всего в первые сутки и понижается к третьим, причем тестом активности служило явление послесвечения.

Далее, Школьник и др. (⁶) изучали фотосинтез синхронной культуры *Chl. pyrenoidosa* на различных стадиях ее развития по интенсивности фиксации клетками $C^{14}O_2$. Культуру исследовали на четырех последовательных стадиях развития от аутоспор (1-я стадия) до конца деления и выхода аутоспор (4-я стадия). Интенсивность фиксации $C^{14}O_2$ клетками синхронной культуры *Chl. pyrenoidosa* возрастала по мере прохождения культурой последовательных стадий развития. Исключение составляли клетки 3-й стадии, у которых суммарная скорость фиксации $C^{14}O_2$ за 5 мин. была ниже, чем у клеток остальных стадий. При всех экспозициях фиксация $C^{14}O_2$ происходила наиболее интенсивно у клеток 4-й стадии развития.

Вопрос об изменении физиологической активности синезеленых водорослей в процессе роста изучен недостаточно. Нам казалось полезным исследовать активность двух культур синезеленых водорослей — *Anacystis nidulans* и *Synechocystis aquatilis*, хорошо развивающихся на среде Кратца — Мейерса (⁷). Последнее обстоятельство позволило проследить за ходом изменения активности водорослей не только в монокультурах, но и при совместном выращивании.

Объектами исследования служили альгологически и бактериологически чистые культуры *A. nidulans* и *S. aquatilis*. Оба вида культивировали на

модифицированной среде С Кратца — Мейерса следующего состава (в граммах на 1 л дистиллированной воды): $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,25, K_2HPO_4 0,04, KNO_3 1, $FeCl_3$ 0,002, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0,024, $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ 0,165 и 1 мл раствора микроэлементов, приготовленного из расчета на 1 л дистиллированной воды (H_3BO_3 2,86, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 1,81 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,0222, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 0,0252, $CuSO_4$ 0,079. Начальный pH среды 7,4—7,6.

Водоросли выращивали в люминистате при освещенности 2000 лк и температуре 35—37° в колбах-матрасах емкостью 2000 мл с количеством

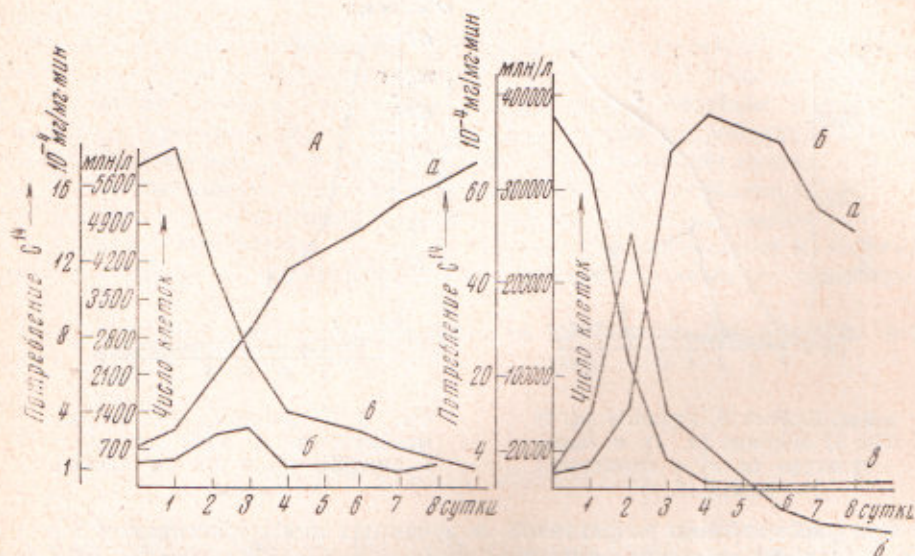


Рис. 1. Рост *S. aquatilis* (А) и *A. nidulans* (Б) в монокультуре. а — рост, б — прирост, в — потребление C^{14}

культуральной среды 1000 мл. Посевным материалом служили четырехдневные культуры *A. nidulans* и *S. aquatilis* в количестве 2% по объему. Плотность посева в смешанном опыте равнялась сумме посевной плотности монокультур при исходном содержании в инокуляте культур *A. nidulans* и *S. aquatilis* в соотношении 1 : 3 по количеству клеток. Опыты продолжали в течение 9—10 дней, регистрируя ежедневно изменения урожая водорослей и ассимиляцию углекислоты, меченной по углероду. Клетки учитывали прямым подсчетом в камере Горяева.

Для определения активности ежедневно из культур отбирали пробы по 50 мл и вводили в каждую 0,50 мл $NaHC^{14}O_3$ с радиоактивностью 0,5 μC /мл. Колбу с пробой экспонировали в течение 3 час. По нашим данным, это время является минимальным, правильно отражающим скорость потребления углерода водорослями. Внесение изотопа, обработка фильтров, расчеты результатов измерений проводили в соответствии с использованным радиоуглеродным методом (²).

При культивировании *A. nidulans* и *S. aquatilis* в монокультурах были получены следующие данные, позволяющие проследить изменение физиологической активности этих водорослей в процессе их развития.

Кривая изменения физиологической активности *S. aquatilis* (рис. 1А, в) показывает, что максимальное потребление углерода на единицу биомассы наблюдается в первые сутки роста и что оно уменьшается по мере развития культуры. Наиболее резкое падение происходит с 1 по 4 день, далее кривая становится более плавной. Снижение потребления C^{14} происходит на фоне роста биомассы (рис. 1А, а). Скорость прироста с 1 по 3 день нарастает, затем, с 3 по 4 день, падает и далее практически не изменяется (рис. 1А, б).

Данные экспериментов с *A. nidulans* в монокультуре (рис. 1Б) показывают, что максимум физиологической активности приходится на первые часы роста. В 1 день потребление C^{14} снижается, но не очень резко, со 2 дня падает скачкообразно. На 4 сутки приходится минимум поглощения углекислоты, после чего оно практически не изменяется. Кривая прироста биомассы (рис. 1Б, б) показывает, что максимальная скорость размножения *A. nidulans* наблюдается на 2 сутки, затем она резко падает, а с 4 по 9 день заметных различий уже не отмечается.

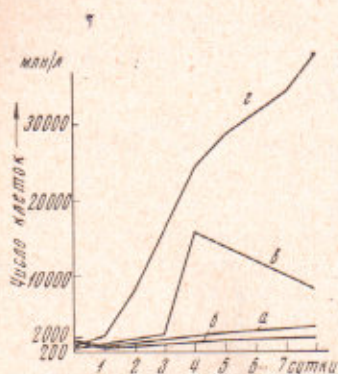


Рис. 2. Рост *S. aquatilis* (а, б) и *A. nidulans* (в, г) в монокультуре (а, в) и смешанном опыте (б, г)

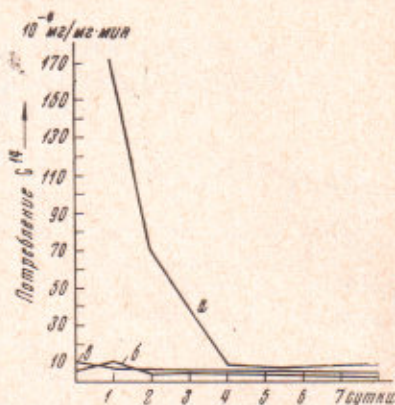


Рис. 3. Потребление C^{14} (а) для монокультур *A. nidulans* (а) и *S. aquatilis* (б) и для смешанной культуры (в)

При рассмотрении результатов, полученных при выращивании *S. aquatilis* и *A. nidulans* в монокультурах, прежде всего, обращает на себя внимание одна закономерность — это резкое падение потребления C^{14} на единицу биомассы в первые дни развития культур на фоне увеличения скорости прироста клеток. Дать однозначное объяснение этому факту мы пока, к сожалению, не можем, но считаем необходимым обратить внимание на эту особенность изменения активности культур, развивающихся по логистической кривой, тем более, что обнаруженная закономерность повторялась неизменно во всех опытах.

Можно предположительно связать данное явление с закономерным характером отмирания и накоплением в культурах мертвых клеток, которые при определении эффективности потребления C^{14} только живыми клетками и при подсчете общего количества клеток в пробах не учитываются.

Постоянное падение поглощения углекислоты возможно объяснить и другим, а именно тем, что клетки одного и того же возраста обладают неодинаковой физиологической активностью, или же попытаться связать его с потерей клетками потребленного C^{14} в результате его «выхода» из последних, однако этому противоречит изменение активности культур по другому показателю — выделению кислорода. Не исключено, впрочем, что ни одно из перечисленных объяснений не соответствует действительности, — ответ на поставленный вопрос дадут дальнейшие исследования.

Результаты, полученные при смешанном культивировании обоих видов водорослей, интересны, на наш взгляд, с точки зрения взаимного влияния водорослей при совместном росте. Контролем к таким экспериментам служили опыты с монокультурами этих же пассажей водорослей. Полученные результаты (рис. 2) позволяют отметить стимуляцию роста *A. nidulans* в смешанной культуре и изменение характера кривой роста этой водоросли. Выражается это, во-первых, в том, что при смешанном культивировании в условиях наших опытов *A. nidulans* (рис. 2а) не достигала стационарной фазы, в то время как в монокультуре она к тому времени уже находилась

на стадии отмирания. Во-вторых, при совместном культивировании отмечалось заметное сокращение лаг-фазы.

Что касается *S. aquatilis* (рис. 2г), то характер кривой роста в смешанной культуре не менялся, но биомасса этих водорослей была несколько ниже, чем в монокультуре (см. рис. 2в).

По-видимому, при совместном культивировании *A. nidulans* и *S. aquatilis* последняя оказывает заметное стимулирующее влияние на *A. nidulans*, которая, напротив, действует на рост *S. aquatilis* в некоторой степени ингибирующе.

Анализ кривых потребления C^{14} смешанными культурами позволяет отметить следующее. Характер кривой потребления C^{14} смешанной культурой (рис. 3б) резко отличается от таковой для *A. nidulans*, выращенной в монокультуре (рис. 3а), и сходен с характером потребления меченого углерода монокультурой *S. aquatilis* (рис. 3в). Сравнение кривых *a* и *b* на рис. 2 и 3 показывает, что если в монокультуре потребление C^{14} *A. nidulans* падает, то в смешанной культуре происходит стимуляция ее роста. Это позволяет предположить, что *A. nidulans* при смешанном культивировании переходит на миксотрофный тип питания, используя метаболиты *S. aquatilis*.

Способность *A. nidulans* переходить на другой тип питания уже отмечалась ранее (°).

Поступило
9 II 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ° В. А. Бенюш, Е. Н. Котова, А. И. Митрофанов, Сборн. Управляемый фотосинтез, «Наука», 1966, стр. 330. ° Методическое пособие по определению первичной продукции органического вещества в водоемах радиоуглеродным методом, под ред. Г. Г. Винберг, Минск, 1960, стр. 4. ° М. В. Гусев, В. Д. Федоров, Микробиология, 31, № 2, 478 (1962). ° В. Д. Федоров, Бюлл. МОИП, 67, № 3, 149 (1962). ° В. Д. Федоров, Л. Д. Гапючка, Биол. науки, № 3, 103 (1968). ° Р. Я. Школьник, Н. Г. Доман, ДАН, 161, № 5, 1231 (1965). ° W. A. Kratz, J. Myers, Am. J. Bot., 42, 3 (1955).