

Л. В. СПЕКТОРОВА

**РЕУТИЛИЗАЦИЯ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ, ПРИГОТОВЛЕННОЙ
НА МОРСКОЙ ВОДЕ, ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ВОДОРОСЛИ
PLATYMONAS VIRIDIS ROUCH. SP. NOV.**

(Представлено академиком М. Х. Чайлахяном 28 I 1971)

При культивировании морских водорослей в лабораториях, не расположенных в непосредственной близости от моря, всегда возникает ряд трудностей, основной из которых является ограниченное количество морской воды, необходимой для приготовления культуральных сред для этих водорослей. В результате среды готовят на искусственной морской воде, либо неоднократно используют (реутилизируют) одну и ту же морскую воду, на которой приготовлена эта среда. Однако далеко не все морские водоросли успешно растут на искусственной морской воде (¹⁻³), поэтому вопрос о реутилизации морской воды приобретает значительный интерес. Настоящая работа посвящена исследованию возможности реутилизировать питательную среду Гольдберга (⁴), предназначенную для выращивания одноклеточной морской водоросли *Platymonas viridis* Rouch. sp. nov., сем. Chlamydomonadaceae.

Альгологически чистая культура *Pl. viridis* выращивалась на специальной установке, обеспечивающей круглосуточное освещение лампами ДС-40 и продувание смесью воздуха с 0,4—0,6% CO₂. Оптимальные температурные и световые условия культивирования (28° и 8 тыс. лк) для *Pl. viridis* были определены нами ранее (⁵). Использовалась среда Гольдберга, несколько модифицированная Кабановой (²). Состав этой среды (в граммах на 1 л морской воды): KNO₃ 0,202; Na₂HPO₄·12H₂O 0,0071; FeCl₃·6H₂O 0,00027; MnCl₂·4H₂O 0,00049; CoCl₂·6H₂O 0,00023. Длительность всех экспериментов 3 суток.

Для исследования возможности реутилизации питательные растворы готовились не на свежей морской воде, а на среде Гольдберга, на которой перед этим в течение трех суток росла культура *Pl. viridis*. Клетки водорослей отделялись центрифугированием, а оставшийся центрифугат использовался для приготовления новой питательной среды. После выращивания культуры на этой среде в течение трех суток клетки водорослей снова отцентрифугировывались и, таким образом, получался двойной центрифугат, на котором снова готовилась среда Гольдберга. На этой среде опять выращивались водоросли (трое суток), и после центрифугирования получался тройной центрифугат, на котором опять же готовилась среда Гольдберга и в третий раз выращивалась культура. Таким образом, мы имели одинарный, двойной и тройной центрифугат, на котором готовилась среда Гольдберга. Кроме того, было интересно проследить важность отдельных компонентов среды Гольдберга (нитратов, фосфатов и микроэлементов) для приготовления этой среды повторно на центрифугате из-под культуры *Pl. viridis*. С этой целью к одинарному центрифугату поочередно добавлялись либо нитраты, либо фосфаты, либо микроэлементы. Контролем служила среда Гольдберга, приготовленная на свежей морской воде. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Из табл. 1 следует, что за трое суток культивирования клетки почти полностью утилизируют все компоненты среды Гольдберга, и по этой

Изменение скорости роста *Pl. viridis* в зависимости от состава культуральной среды

Культуральная среда	Кратность увеличения числа клеток	Кратность увеличения сухого веса клеток	Средний вес 1 клетки в $\text{мг} \cdot 10^{-6}$
Центрифугат из-под однократно выращенной культуры без добавления компонентов среды Гольдберга	2,1	1,86	0,259
Тот же центрифугат с добавлением только нитратов	3,14	3,02	0,247
Тот же центрифугат с добавлением только фосфатов	3,45	3,27	0,241
Тот же центрифугат с добавлением только микроэлементов	4,25	3,71	0,248
Тот же центрифугат с добавлением всех компонентов	12,7	9,77	0,217
Двойной центрифугат с добавлением всех компонентов среды Гольдберга	10,8	9,96	0,368
Тройной центрифугат с добавлением всех компонентов среды Гольдберга	10,32	9,4	0,372
Среда Гольдберга, приготовленная на свежей морской воде (контроль)	12,83	10,4	0,23

причине на центрифугате без добавления солей культура почти не росла. Добавление к центрифугату по отдельности либо нитратов, либо фосфатов, либо микроэлементов увеличивало скорость роста водорослей весьма слабо. Только внесение в центрифугат всех компонентов среды Гольдберга приводило к вспышке роста водорослей, и конечная плотность *Pl. viridis* в этом варианте была такой же, как и в контроле, т. е. на среде, приготовленной на свежей морской воде.

Успешное выращивание *Pl. viridis* на среде Гольдберга, приготовленной на двойном и тройном центрифугате (скорость роста снижалась по сравнению с контролем всего на 5—10% на двойном центрифугате и на 10—20% — на тройном), свидетельствует, по-видимому, либо об отсутствии вообще у этой водоросли способности к аутоингибированию, либо о существовании ее в весьма слабой степени. Для дополнительной проверки этого весьма важного для методики массового культивирования факта был поставлен следующий эксперимент.

Культура *Pl. viridis* выращивалась на среде Гольдберга в течение трех суток. После трех суток выращивания водорослей в среде, как уже указывалось выше, компоненты среды Гольдберга поглощались клетками почти полностью, и плотность суспензии, достигнув определенного уровня, переставала увеличиваться. Не отделяя биомассы клеток от культуральной среды, как это имело место в предыдущих экспериментах, мы добавляли в культуру все компоненты среды Гольдберга. Рост водорослей возобновлялся. Еще через трое суток, т. е. через 6 суток от начала эксперимента, была произведена вторичная добавка компонентов культуральной среды, после чего плотность культуры снова начинала возрастать. Через 9 суток опыт был снят. Конечная плотность культуры составляла 15 млн. клеток на 1 мл или 3 г сухого веса биомассы на литр, в то время как в контроле без дополнительного внесения солей плотность суспензии находилась в пределах 2—2,5 млн. клеток на 1 мл (0,45 г/л). Этот эксперимент подтвердил наше предположение о том, что клетки *Pl. viridis* не выделяют в среду каких-либо аутоингибиторов и наблюдаемое торможение скорости роста водорослей происходит за счет поглощения клетками всех компонентов среды. Вообще же аутоингибирование отмечено для целого ряда водорослей (⁶, ⁷), хотя гораздо больше данных по ингибированию одних одноклеточных водорослей метаболитами других (⁸⁻¹¹), но исследование влия-

ния продуктов метаболического обмена *Pl. viridis* на водоросли других видов не входило в задачи данной работы.

Таким образом, мы пришли к выводу о том, что при работе с *Pl. viridis* двух-, трех- и четырехкратное использование одного и того же объема морской воды для приготовления на ней культуральной среды Гольдберга в принципе возможно. Такая возможность может представить интерес также и при создании замкнутой экологической системы, одним из звеньев которой являются морские водоросли.

Всесоюзный научно-исследовательский институт
морского рыбного хозяйства
и океанографии
Москва

Поступило
8 I 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ E. J. Allen, J. Marin. Biol. Assoc. U.K., 10, 417 (1914). ² Ю. Г. Кабанова, Тр. Инст. океанол., 47, 203 (1961). ³ Т. Брааруд, Сборн. статей: Культивирование морских организмов с целью выявления влияния среды на популяции, Океанография, 1965. ⁴ E. D. Goldberg, T. J. Walker, A. Whisenand, Biol. Bull., 101, № 3, 274 (1951). ⁵ Л. В. Спекторова, ДАН, 192, № 3, 662 (1970). ⁶ T. Levring, Medd. Oceanogr. Institut Göteborg, 9 (1945). ⁷ R. Pratt, Am. J. Bot., 29 (1942). ⁸ S. C. Akehurst, J. Roy. Microscop. Soc., 51, 237 (1931). ⁹ C. F. Lucas, Rapp. Proc. Verb. Cons. Intern. Exp. Mer., 144, 155 (1956). ¹⁰ V. W. Proctor, Limnol. Oceanogr., 2, 1—4, 125 (1957). ¹¹ J. A. Hellebust, Limnol. Oceanogr., 10, 1—4, 314 (1965).