

Н. П. АРУТЮНЯН

## ПЕРВЫЙ ОПЫТ РАЗМНОЖЕНИЯ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ В ОТКРЫТЫХ ВОДОЕМАХ

В деле массового производства богатого белками корма размножение одноклеточных зеленых водорослей (*Chlorella vulgaris viridis*) в искусственных водоемах имеет важное научное и промышленное значение.

Более эффективное использование водорослями лучей световой радиации как при естественном, так и при искусственном освещении, особенности интенсивности биосинтеза и размножения в геометрической прогрессии создают возможности для выращивания этих низших водных растений в открытых или закрытых водоемах и получения несоизмеримо более высокого урожая, чем при выращивании в почве любой другой культуры на площади, равной площади водоема. Это обстоятельство имеет большое значение для нашей республики, имея в виду ограниченность наших возможностей в деле расширения площадей, выделяемых для кормовых культур, а также для массового централизованного производства в будущем корма для животных и питательного сырья для людей, богатого белками, жирами и витаминами, что может быть достигнуто при массовом размножении одноклеточных зеленых водорослей.

Учитывая длительность вегетационного сезона в Армении и высокую интенсивность солнечной радиации, мы провели опыт с размножением одноклеточных зеленых водорослей с тем, чтобы предварительно изучить, насколько наши климатические условия могут способствовать выращиванию этих микроскопических организмов в искусственных водоемах.

Опыт был поставлен 19 сентября 1960 г. на территории скотоводческой фермы колхоза имени «18-го Партийного съезда» Шаумянского района. Для опыта нам были предоставлены два зацементированных наземных бассейна — большой с поверхностью  $3 \times 4$  м и малый  $4 \times 0,6$  м, высота стен обоих водоемов равнялась 0,5 м.

Через 3 дня после смазки дна большого бассейна смесью из цемента и песка мы пустили в него родниковую воду до уровня высотой 12 см. Первоначальный объем воды был равен примерно  $3 \times 4 \text{ м} \times 0,12 = 1,4 \text{ км}^3$ . рН воды при измерении колориметрическим способом равнялся 7,4. Из растворов, предлагаемых для искусственного размножения одноклеточных зеленых водорослей, мы приготовили раствор Тамия, с той разницей, что  $\text{KNO}_3$  мы заменили  $(\text{NH}_4) \text{NO}_3$  в отношении 2,5 : 1, для получения раствора, эквивалентного по азоту;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  мы имели возможность ввести в раствор только через 13 дней, а  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  брался в количестве одной четверти от предлагаемой нормы. Таким образом, наш раствор, приготовленный на 1400 л воды, находящейся в бассейне, имел следующий состав:

Макроэлементы		Микроэлементы	
$(\text{NH}_4) \text{NO}_3$	2 г/литр	$\text{H}_3\text{BO}_3$	2,86 г/литр
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,6 г/литр	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,81 г/литр
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,003 г/литр	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,222 г/литр
EDTA	0,037 г/литр	$\text{MoO}_3$	176,4 мг/10 литр
		$\text{NH}_4\text{VO}_3$	229,6 мг/10 литр

Раствор микроэлементов 1 мл. в составе:

После смешивания приготовленного раствора с водой мы измерили рН воды вновь колориметрическим способом (3 миллилитра воды + 0,5 миллилитра индикатора, — паранитрофенола) и установили, что рН равнялся 7.

Замена основной соли составной части раствора Тамия  $\text{KNO}_3$  на  $(\text{NH}_4) \text{NO}_3$  была вызвана тем, что в нашей республике как азотное удобрение используется  $(\text{NH}_4) \text{NO}_3$ , а не  $\text{KNO}_3$ . В Израиле в опытах по искусственному размножению водорослей М. Эвенари и его сотрудники доказали [1], что нитратный азот может быть с успехом заменен аммонийным азотом.

В целом ряде растворов, предложенных для размножения водорослей, как, например, в растворе Пратта, концентрация основных солей сильно и неравномерно изменяется ( $\text{KNO}_3$ —0,1 грам/литр  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ —0,01 грам/литр,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ —0,01 грам/литр), то есть по сравнению с раствором Тамия эти концентрации соответственно в 50, 125 и 250 раз меньше.

Укажем также на опыты Дж. Маерса, при помощи которых он доказал, что даже двадцатикратные изменения концентрации основных солей не влияют на интенсивность роста одноклеточных зеленых водорослей [2]. Исходя из этого, мы ввели  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  в раствор Тамия в количестве одной четверти от предлагаемой нормы с тем, чтобы рН воды, находящейся в бассейне, приближалось к семи.

В раствор нами была введена полная смесь микроэлементов, предложенная Тамия по той причине, что (как показали опыты А. Муаза [3] и других авторов) отсутствие микроэлементов значительно ограничивает скорость роста водорослей, независимо от уровня содержания других элементов.

Приготовленный раствор мы влили в бассейн с водой, размешали деревянными лопатами и немедленно внесли одноклеточные зеленые водоросли (*Chlorella vulgaris viridis*), выращенные в поллитровой колбе Эрленмейера. До начала опыта водоросли все время находились в растворе Тамия (в полной смеси). Так как нам не представилась возможность до внесения в бассейн измерить плотность водорослей в колбе, мы оставили часть зеленой жидкости в ней в количестве около 50 см с тем, чтобы впоследствии с помощью нефелометра сравнить плотность клеток, находящихся в колбе, с плотностью клеток после их размножения в бассейне.

В первый день опыта в час дня температура воздуха была равна  $29^\circ\text{C}$ , а температура воды в бассейне  $23^\circ\text{C}$ . В последующие дни при измерении в те же часы дня выяснилось, что температура воздуха колебалась в преде-

лах от одного до трех градусов, тогда как температура воды колебалась не больше, чем на  $1^{\circ}$ . На протяжении всего времени проведения опыта, который в большом бассейне длился до 13 октября, мы ежедневно с 9 ч. утра до 6 ч. вечера мешали воду деревянной лопатой через каждые полчаса с тем, чтобы способствовать фотосинтетической активности водорослей и чтобы не дать им опускаться на дно бассейна, что отрицательно повлияло бы на процесс ассимиляции.

Частое помешивание воды способствовало также вентиляции воздуха и дополнительному проникновению углекислого газа, находящегося в воздухе. Прямые опыты показали, что обогащение воды воздухом и  $\text{CO}_2$  значительно способствует биосинтетической активизации, а недостаточное количество  $\text{CO}_2$  в воде нарушает быстрое прохождение ассимиляционных процессов [4].

Каждая из одноклеточных зеленых водорослей, делясь, создает от 2 до 8-ми новых клеток в день; скорость размножения зависит от специфических особенностей данного вида, а также и от комплекса условий среды (химического состава, температуры, освещения, кислотности, вентиляции воздуха и т. д.) [5]. Если допустить, что при выращивании нами водорослей каждая клетка могла бы в среднем дать только по 3 клетки, то их размножение можно было бы представить в виде геометрической прогрессии ( $1 : 3 : 9 : 27 : 81 \dots$ ), знаменатель которой равен 3. Надо, однако, отметить, что размножение водорослей как в лабораторных, так и в производственных условиях протекает не только в логарифмической фазе. Кривая их роста состоит из трех основных периодов [6]: а) период роста в геометрической прогрессии, когда на каждую клетку водоросли падает больше света, чем может использовать эта клетка; б) период роста по прямой линии, когда все, или почти все количество света, попадающее в среду, используется водорослями; в) период самой высокой степени плотности, когда каждая клетка водорослей не получает то максимальное количество света, которое клетка могла бы использовать для процесса биосинтеза.

Так как общее количество воды в бассейне превышало количество воды в поллитровой колбе в 2800 раз, то понадобится значительный период времени, чтобы плотность клеток в бассейне достигла бы плотности их в колбе. Тем более, что кроме помешивания воды лопатами, мы не применяли никаких иных средств, способствовавших быстрому размножению водорослей, как, например: подача  $\text{CO}_2$  и воздуха из баллонов, регулирование температуры воды в течение дня и ночи, механическое непрерывное помешивание воды, удлинение светового периода с помощью искусственных источников света и т. д. В наших опытах, первый период размножения водорослей, несомненно, можно выразить геометрической прогрессией (степень периода которого, в данном случае, мы принимаем равной 3), по крайней мере до тех пор, пока степень плотности водорослей в бассейне выравняется со степенью плотности водорослей, находящихся в колбе в момент их внесения в бассейн.

Допустим, что в день начала опыта в колбе объемом в  $500 \text{ см}^3$  число клеток водорослей на каждый 1 мл раствора равнялся  $x$ ; для достиже-

ния той же степени плотности в бассейне в 1400 л воды число их клеток должно было составлять 1400000 х. Согласно формуле геометрической прогрессии,  $l = aq^{n-1}$ , где  $l$  = последнему члену прогрессии,  $a$  = первому члену прогрессии,  $q$  = знаменателю прогрессии, а  $n$  = количеству дней, сколько же дней понадобилось бы для того, чтобы степень плотности водорослей в бассейне выравнилась со степенью плотности водорослей в колбе? Вышеупомянутая формула дает  $q^{n-1} = \frac{l}{a} = 2800$ ,  $n =$

$$= \frac{\log 2800}{\log 3} + 1 = 9 \text{ дням.}$$

Фактически же размножение водорослей в бассейне протекало с такой скоростью, что, как показали нефелометрические определения, окраска образца, взятого из бассейна, только 2 октября стала такой, какой была окраска воды, сохраненной нами в колбе еще в начале опыта, то есть на 3—4 дня позднее предполагаемого срока.

Таким образом, скорость размножения водорослей в бассейне, вопреки нашим расчетам, снизилась, и этому способствовали следующие обстоятельства: 1) значительное снижение температуры в течение ночи до 12°C, тогда как размножению клеток наиболее способствуют температуры 20—30°C; а в последние дни опыта температура была еще ниже; 2) сильное испарение воды в жаркие часы дня, вследствие чего мы были вынуждены два раза (на 4 и 7 день опыта) подливать в бассейн родниковую воду: в первый раз в количестве 5 ведер, а во второй — 4 ведра. Причем в эту воду питательные вещества не добавлялись; 3) отсутствие фосфора и калия в питательной среде в течение 13 дней, вследствие чего фотосинтетическая активность водорослей протекала менее интенсивно, чем в тех растворах, которые содержали соответственные соединения данных элементов [7]; 4) использование в растворе  $(\text{NH}_4) \text{NO}_3$  как источника азота, из-за чего рН раствора сильно колебался (во-первых, в начальном периоде в связи с исчерпыванием  $\text{NH}_4$  иона было снижение, а затем при использовании  $\text{NO}_3$  иона повышение) [7]; 5) спокойное состояние воды в бассейне в ночное время, в результате чего происходило оседание и наслоение большей части клеток на дне бассейна и 6) отсутствие какого-либо оборудования, улучшающего условия размножения клеток.

При взятии из бассейна образцов в полулитровые колбы 2 октября мы измерили рН воды универсальным бумажным индикатором, он равнялся примерно 6,8. Затем, тут же добавили в бассейн 0,8 кг  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  в количестве половины нормы раствора, указанного Тамия, равномерно растворили в воде и вновь измерили рН воды тем же бумажным индикатором: рН значительно снизился приблизительно до 6,3, почему и это вещество больше не добавлялось, так как хотели сохранить степень кислотности питательной среды в стабильном состоянии (в пределах 6—7).

В последующие дни температура в бассейне постепенно снижалась и 8 октября в час дня равнялась 16°C, то есть на 7° ниже, чем в первый день опыта. Несмотря на это, плотность водорослей в бассейне настолько уве-

личилась, что в образцах, взятых из бассейна 8 октября, она была, по данным нефелометра, в 16 раз выше, чем в образцах, взятых 2 октября.

Данные измерения плотности водорослей показывают, что их количество с начала опыта 19.IX до 2.X увеличилось в 2800 раз соответственно увеличению объема воды при одинаковой плотности (0,5 литра : 1400 литров), а с 2.X до 8.X увеличилось в 16 раз, соответственно увеличению плотности при одинаковом объеме. Таким образом, количество водорослей за период времени с 19.IX до 8.X, т. е. в течение 20 дней, увеличилось в 44 800 раз ( $2800 \times 16$ ).

11 октября на зацементированном дне бассейна местами образовались трещины, в связи с чем вода начала убывать. 13 октября вода убавилась более чем на одну треть. Для определения процента белка в водорослях, мы из бассейна взяли 3 ведра воды, после чего были вынуждены воду из большого бассейна влить в находящийся рядом малый бассейн. Предварительно дно бассейна и внутренние стенки его мы покрыли прозрачной полиэтиленовой пленкой, чтобы предотвратить возможно фильтрацию воды. Первоначальная глубина воды в малом бассейне равнялась приблизительно 15 см, объем 360 л ( $4 \times 0,6 \times 0,15$ ).

15 октября, заметив, что вода в малом бассейне убавилась в результате испарения, мы добавили туда 4 ведра родниковой воды, в которой растворили питательные вещества, в количествах, соответствующих 100 л полного раствора Тамия. Затем, через каждые три дня мы добавляли родниковую воду в небольшом количестве, компенсируя таким образом испаряющуюся часть воды и сохраняя один и тот же уровень воды в бассейне.

До 22 октября степень плотности водорослей в малом бассейне увеличилась очень немного, со дня их перемещения из большого бассейна. По нашему мнению, причины этого заключались в следующем: 1) слишком большая высота стен узкого и длинного бассейна, что препятствовало солнечным лучам падать на всю поверхность воды, длительность освещения была всего 4 часа в день (от 11 часов до 15 ч. дня);

2) низкая температура воды в течение ночи и дня (22 октября в час дня температура равнялась  $14^{\circ}\text{C}$ ). Снижению температуры также способствовало нахождение раствора в клеенке, т. е. она не пропускала через себя тепло стенок бассейна. К концу октября плотность водорослей в малом бассейне увеличилась незначительно. 5 ноября мы прекратили опыт.

Раствор, взятый из бассейна 13 октября, мы пропустили через центрифугу, выделив небольшое количество плотной массы водорослей; часть этих водорослей была помещена в термостат при температуре  $37^{\circ}\text{C}$ . Определение азота по методу Кьелдаля, проведенное на следующий день, показало, что в 100 мг сухой массы водорослей количество азота было равно 8,4 мг, так что количество белка равнялось  $8,4 \text{ мг} \times 6,25 = 52,5 \text{ мг}$ .

Таким образом, анализ показал, что в вышеуказанных условиях в составе сухой массы, размноженных нами с 19 сентября по 13 октября водорослей, процент белка был равен 52,5.

Как известно, количество белков, содержащихся в различных видах одноклеточных зеленых водорослей (*Chlorella*, *Scenedesmus*, *Lager-heimia*),

составляет от 8 до 60% сухой массы [8, 9] в зависимости от смеси питательной среды, температуры, интенсивности света и его продолжительности, от концентрации  $\text{CO}_2$ , продувания воздуха и других условий.

Хотя наш первый опыт с размножением одноклеточных зеленых водорослей мы произвели не в самый благоприятный период вегетации и без применения какого-либо технического оборудования, тем не менее можно считать, что в климатических условиях Армении было бы целесообразно организовать дальнейшие более широкие опыты по размножению одноклеточных зеленых водорослей в открытых водоемах. При этом важнейшим условием является рациональная конструкция открытых водоемов, глубина которых соответствовала бы нашим климатическим условиям (сокращение испарения воды, регулирование колебания температуры, равномерное оптимальное освещение всех слоев воды). Другим условием является применение всего комплекса технического оборудования, способствующего быстрому размножению зеленых водорослей.

СОПС  
АН АрмССР

Поступило 18.I 1961 г.

#### Ն. Պ. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

### ՀԱՅԱՍՏԱՆՈՒՄ ԿԵՐԻ ՆՈՐ ԲԱԶԱ ՍՏԵՂԾԵԼՈՒ ՆՊԱՏԱԿՈՎ ՄԻԱՔՉԻՁ ԿԱՆԱԶ ՋՐԻՄՈՒԹՆԵՐԻ ԲԱԶՄԱՑՄԱՆ ԱՌԱՋԻՆ ՓՈՐՁԸ ԱՆԾԱԾԿ ՋՐԱՎԱԶԱՆՆԵՐՈՒՄ

#### Ա մ փ ո փ ու մ

Հողվածում նկարագրված է միաբջիջ կանաչ ջրիմուռների բազմացման առաջին փորձը անծածկ ջրավազաններում:

Հեղինակի նպատակն է եղել հիմնավորել, որ Հայաստանի բնակլիմայական պայմանները նպաստադրոր են միաբջիջ ջրիմուռների, որպես սպիտակուցներով հարուստ միկրոօրգանիզմների, մասսայական բազմացման համար:

Փորձը կատարվել է 1400 լիտր տարողություն ունեցող ջրավազանում, Տամիայի լուծույթի որոշ փոփոխությամբ, և որտեղ ֆոսֆորն ու կալիումը բացակայել են փորձի առաջին 13 օրերի ընթացքում: Ջրիմուռների բազմացման արագության չափումները կատարվել են տարրեր ժամկետներում նրանց խտության որոշմամբ, վիզուալ նեֆելոմետրի միջոցով:

Այդ չափումները ցույց են տալիս, որ փորձի առաջին շրջանում (19.IX—2.X, 1960 թ.) ջրիմուռների սկզբնական քանակությունն ավելանում է 2800 անգամ, ըստ ջրի ծավալի ավելացման, ընդ որում նրանց խտությունը ավազանում հավասարվում է փորձի սկզբում նրանց ունեցած խտությանը. փորձի երկրորդ շրջանում (2.X—8.X) ջրիմուռների քանակությունը ավելանում է ևս 16 անգամ, նույն ջրածավալում նրանց խտության համապատասխան ավելացման չափով. այսպիսով, ջրիմուռների սկզբնական քանակությունը 20 օրվա ընթացքում (19.IX—8.X) ավելանում է 44800 անգամ ( $2800 \times 16$ ):

Բազմացրած ջրիմուռների սպիտակուցային պարունակության որոշումը 52,5% կատարվել է ընդհանուր ազդեցության օգտին քանակության որոշմամբ, Կելդալի եղանակով:

Այս տվյալները վկայում են այն մասին, որ Հայաստանի բնակլիմայական պայմաններում ջրիմուռների արհեստական բազմացումն ընթանում է բնական լույսի առավել էֆեկտիվ օգտագործման, ինտենսիվորեն բիոսինթեզ կատարելու և երկրաչափական պրոգրեսիայով բազմանալու նրանց առանձնահատկության շնորհիվ:

Նկատի ունենալով, որ միարջիչ կանաչ ջրիմուռների բազմացման այս առաջին փորձը կատարվել է վեգետացիոն սեղոնի ոչ առավել նպաստավոր շրջանում և առանց ջրիմուռների արագ բազմացմանը նպաստող որևէ սարքավորում կիրառելու, ստացված արդյունքի հիման վրա կարելի է ասել, որ մեր բնակլիմայական պայմաններում նպատակահարմար է կազմակերպել միարջիչ ջրիմուռների մասսայական բազմացման ավելի լայն փորձարկումներ անձածկ ջրավազաններում:

Գլխավորն այն է, որ այդ ջրավազանների կառուցվածքը և հատկապես խորությունը համապատասխան լինեն մեր կլիմայական պայմաններին (ջրի գոլորշացման հնարավորին չափ նվազեցման, ջերմաստիճանի տատանումների կարգավորման, ջրի բոլոր շերտերի հավասարաչափ և օպտիմալ լուսավորության իմաստով) և կիրառվեն ջրիմուռների արագ բազմացմանը նպաստող հատուկ սարքավորումներ:

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Evenari M., Mayir A. M., Gettesman E. Experiments on culture of Algae in Israel. Algal culture, 197—203, 1953.
2. Myers J. Growth characteristics of algae in relation to the problems of mass culture. Algal culture, B. 37—54, 1953.
3. Moysse A. Influence des divers facteurs sur la croissance des cultures accélérées de chlorelles. Revue générale de botanique, 4, 1956.
4. Stroomann-Nielsen (E). Carbon dioxide concentration and maximum quantum yield in photosynthesis. Nature, 171, 1953.
5. Myers J. The physiology of the Algae. Annual review of Microbiology, 1951.
6. Myers J., Philipps (J. N.), Grehan (J. R.). On the mass culture of algae. Plant physiology, 26, 1951.
7. Moysse A. Les cultures accélérées d'algues. L'Année biologique, 1956.
8. Гаевская Н. С. Проблемы использования одноклеточных водорослей. Природа, 4, 1956.
9. Смирнов Н. Н. Влияние различных химических, световых и температурных режимов на развитие кормовых протококковых водорослей. Кандидатская диссертация. 1954—55.

