

К. А. МИКАЕЛЯН

ВЛИЯНИЕ КОЛИЧЕСТВА АЗОТА, ФОСФОРА И СЕРЫ В ПИТАТЕЛЬНОМ РАСТВОРЕ НА РОСТ И БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ХЛОРЕЛЛЫ

Одноклеточные зеленые водоросли отличаются ценными свойствами, определившими их широкие исследования за последние 20 лет у нас и за рубежом.

Пластичность этих организмов, их реакция на изменение условий выращивания позволяют из одной и той же культуры получать биомассу с различным химическим составом [1,2].

В настоящее время довольно широко испытывается массовое выращивание зеленых водорослей для получения белков, липидов и ценных органических веществ [3]. Основным способом получения водорослей с различным химическим составом является изменение режима питания. Для выращивания одноклеточных водорослей существуют разнообразные питательные растворы, в которых количество отдельных питательных элементов, их соотношение сильно варьируют, независимо от потребности водорослей в этих элементах [4,5].

В настоящее время накопился фактический материал о влиянии отдельных питательных элементов на метаболизм водорослей [6]. Однако некоторые вопросы требуют дальнейшего исследования.

Целью настоящей работы явилось изучение зависимости роста и биохимического состава хлореллы от количества азота, фосфора и серы в питательном растворе.

Методика

Объектом исследования служила *Chlorella pyrenoidosa*-82. Водоросли выращивали в стеклянных сосудах в условиях интенсивной культуры [5]. Культура продувалась увлажненным воздухом с 2—3% CO_2 . Для выращивания хлореллы употребляли минеральный раствор, составленный из кислот, щелочей и окисей. Такой раствор иногда применяется при гидропоническом выращивании высших растений и был использован нами для выращивания хлореллы [7]. В состав питательного раствора входят: концентрированная H_2SO_4 , HNO_3 , H_3PO_4 , KOH , MgO . В табл. 1 приводится состав питательных растворов по основным питательным элементам и схема опыта.

Как видно из табл. 1, в первом растворе количество азота вдвое больше фосфора и в четыре раза—серы. Во втором растворе азота в 19

раз меньше фосфора. В третьем растворе азота в 15 раз меньше серы. Количество железа и микроэлементов в испытуемых растворах соответствует таковому в питательном растворе Тамия. Исходный показатель рН растворов 5,5, первоначальная густота суспензии—1 млн /мл.

В течение опыта просчитывали число клеток в камере Горяева, определяли рН раствора потенциометрически. Спыт был остановлен при прекращении роста, через 6 суток культивирования. Суспензию центри-

Таблица 1
Состав испытываемых питательных растворов, г/л

Растворы	N	P	S	K	Mg	Сумма питательных элементов
I	0,66	0,33	0,17	4,56	0,52	6,24
II	0,05	0,94	0,17	4,56	0,52	6,24
III	0,05	0,33	0,78	4,56	0,52	6,24

фугировали, промывали дистиллированной водой и высушивали. В биомассе определяли общий азот по Кьельдалю, белковый азот по Бернштейну, небелковый азот представлял разницу между общим и белковым азотом. Общий фосфор определяли колориметрически по Труогу-Мейеру, общий калий—пламенным фотометром. Количественное определение аминокислот проводили методом Лисицкого в модификации Маркосяна—бумажной хроматографией.

Полученные результаты и их обсуждение

Ниже приводим данные о выходе биомассы хлореллы и содержании в ней золы фосфора и калия (табл. 2).

Как видно из табл. 2, сухой вес хлореллы практически не меняется при изменении количества азота, фосфора и серы в питательной среде. В каких-то пределах урожай не зависит от изменения количества этих элементов. Однако при этом довольно значительно изменяется количество

Таблица 2
Урожай и содержание питательных элементов в биомассе хлореллы, %

Растворы	Сухой вес г/л	P ₂ O ₅	K ₂ O	Зола
I	3,0	3,2	1,3	9,0
II	2,9	2,2	1,0	4,7
III	3,0	1,3	0,9	4,0

фосфора и калия в биомассе хлореллы. Больше фосфора и калия обнаружено в биомассе, выращенной в первом растворе с большим содержанием азота. При 13-кратном уменьшении азота и удвоении содержания фосфора по сравнению с первым раствором (т. е., когда в растворе содержание фосфора в 19 раз превышает содержание азота) содержание фосфора в биомассе уменьшается. Увеличение содержания серы в третьем растворе, по сравнению с первым раствором, приводит к еще большему снижению содержания фосфора в биомассе по сравнению с первым и вторым растворами. По-видимому, от количества фосфора в среде зависит его содержание в биомассе, но при недостатке азота накопление фосфора ослабевает.

По данным С. П. Чу [8], для нормального роста водорослей достаточно 0,1—0,2 мг/л фосфора. В. И. Успенская пришла к заключению, что фосфор требуется для водорослей в значительно меньших количествах, чем азот, а именно не больше десятых долей мг/л [2]. Е. Д. Кузнецов отмечает, что при разных количествах азота в среде урожай хлореллы не меняется, однако сильно меняется его минеральный состав. Он пришел к заключению, что уровнем азота в среде обусловлено накопление минеральных элементов в биомассе [9].

Содержание золы изменяется в зависимости от количества азота, фосфора и серы в питательном растворе. В среде с большей концентрацией азота содержится больше золы (9,0%) по сравнению со вторым и третьим растворами, где меньше азота. Снижение количества золы зависит от содержания питательных элементов в биомассе [10]. Аналогичные данные наблюдаются и у высших растений [11].

В табл. 3 приводятся данные о содержании общего и белкового азота в биомассе хлореллы.

Содержание общего и белкового азота
в сухой биомассе хлореллы

Таблица 3

Растворы	Азот в %			Белок (белковый азот $\times 6,25$)	Белковый азот в % от общего	Относитель- ное содер- жание бел- ка
	общий	белковый	небел- ковый			
Первый	7,8	6,8	1,0	42,5	87,2	100
Второй	3,6	3,0	0,6	18,8	83,0	44
Третий	3,7	2,9	0,8	18,1	80,0	43

Как видно из табл. 3, большой процент азота и белка в биомассе хлореллы получается в варианте с большим содержанием азота в среде. Уменьшение количества азота в питательном растворе приводит к резкому снижению азота и белка в биомассе, полученной в случае второго и третьего растворов. Это обусловлено в основном уровнем азота в среде и не зависит от количества фосфора и серы (рис. 1).

Метаболизм водорослей направлен в сторону синтеза белков, а количество белка в биомассе обусловлено уровнем азота [12]. При азотном дефиците биосинтез органических веществ направляется в сторону накопления липидов или углеводов. Это свойство водорослей используется для направленного биосинтеза органических веществ [1, 10, 13, 14, 15]. По данным Л. Г. Клячко-Гурвич, с увеличением количества липидов хлореллы изменяется и их качество, в частности, увеличивается доля олеиновой кислоты в составе жиров [16].

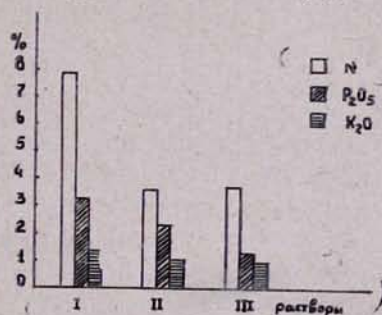


Рис. 1. Влияние различных растворов на накопление питательных элементов в биомассе хлореллы.

Нас интересовал также вопрос: изменяется ли аминокислотный

состав хлореллы при уменьшении количества белка в биомассе. Известно, что аминокислотный состав водорослей изменяется в зависимости от условий выращивания: источник азота [18], свет или темнота [17]. По данным О. В. Заленского с сотрудниками, свободные аминокислоты хлореллы изменяются под влиянием различных температур [19]. В наших опытах получена следующая картина (табл. 4).

Таблица 4

Аминокислоты	Питательные растворы		
	первый	второй	третий
Лизин (+-гистидин)	3,9	2,5	2,2
Аргинин	2,5	0,6	0,6
Аспарагиновая -та	3,6	1,5	1,7
Серин (+-глицин)	3,2	1,5	1,9
Глютаминовая к-та	3,6	1,5	1,5
Треонин	2,9	1,2	1,5
Аланин	4,5	1,7	1,6
Тирозин	2,4	0,7	0,7
Валин (+-метионин)	1,6	0,6	0,6
Фенилаланин	1,4	0,6	0,7
Лейцин (+-изолейцин)	4,3	1,3	1,6
Сумма аминокислот	33,9	13,7	14,2

Хлорелла, полученная на питательных растворах, бедных азотом, но с большим содержанием фосфора или серы, отличается низким содержанием всех аминокислот. Однако при питании хлореллы в растворах с недостатком азота содержание аргинина уменьшается больше (4,2 раза) по сравнению с содержанием аргинина в хлорелле, полученной на первом растворе, богатом азотом. При аммиачном питании хлореллы увеличение общего содержания азота в аминокислотах обусловлено увеличением содержания аргинина, как одной из более богатой азотом аминокислот [15]. В наших опытах снижение количества аргинина связано с недостаточностью азота в питательном растворе.

Выводы

1. При изменении количества и соотношения азота, фосфора и серы в питательном растворе сухой вес хлореллы практически не меняется. Однако меняется количество фосфора, калия и золы в биомассе. Больше фосфора, калия и золы обнаружено в биомассе, выращенной в первом растворе, с большим содержанием азота. При уменьшении количества азота и увеличении количества фосфора или серы содержание фосфора, калия и золы в биомассе снижается.

2. Наивысший процент азота и белка в хлорелле получен в варианте с большим содержанием азота в питательной среде. Уменьшение содержания азота в среде приводит к снижению общего и белкового азота в биомассе. Эта закономерность, в основном, не связана с изменением уровня фосфора и серы в питательном растворе.

3. Достаточное количество азота в среде направляет биосинтез в сторону накопления белков и аминокислот. Уменьшение азота в среде

приводит к снижению содержания отдельных аминокислот в биомассе, однако количество аминокислот уменьшается по-разному: больше всего изменяется содержание аргинина, которое при недостатке азота резко сокращается.

4. Ա. ՄԻԿԱԵԼՅԱՆ

ՄԱՆԴՎԱՐ ԼՈՒՄԻՆՓՈՒՄ ԱԶՈՏԻ, ՖՈՍՖՈՐԻ ԵՎ ԾԾՄԻԻ ՔԱՆԱԿՆԵՐԻ
ԱԶ ԴԵՑԻՄՈՒՅՈՒՆՆԵՐ ԲԼՈՐԵԼԼԱՑԻ ԱՃՄԱՆ ԵՎ ԲԻՈԳԵՄԻԱԿԱՆ ԿԱԶՄԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Աշխատանքի նպատակն է եզրև ուսումնասիրել սննդարար լուծույթների մեջ ազոտի, ֆոսֆորի և ծծմբի տարրեր քանակների ազդեցությունը քլորելլայի աճման և բիոքլիմիական կազմի վրա:

Հետազոտությունները տարվել են լաբորատոր պայմաններում *Chlorella pyrenoidosa*-82 շտամի հետ: Կատարված աշխատանքներից կարելի է հանդիս հետևյալ եզրակացությունների:

1. Մննդարար լուծույթում ազոտի, ֆոսֆորի, ծծմբի տարրեր քանակների և նրանց տարրեր հարաբերությունների ժամանակ քլորելլայի բերքը դործնականում չի ենթարկվում փոփոխությունների: Քլորելլայի կենսազանգվածում փոխվում է ֆոսֆորի, կալիումի և մոխրի պարունակությունը: Ավելի շատ ֆոսֆոր, կալիում և մոխիր պարունակում է քլորելլայի ալն կենսազանգվածը, որը ստացվել է շատ ազոտ պարունակող լուծույթից (1-ին լուծույթ): Մննդարար լուծույթում ազոտի պակասի և ֆոսֆորի ու ծծմբի քանակների ավելացնելու դեպքում իջնում է քլորելլայի կենսազանգվածում ֆոսֆորի, կալիումի և մոխրի պարունակությունը:

2. Ազոտի և սպիտակուցի բարձր քանակով աչքի է ընկնում քլորելլայի ալն կենսազանգվածը, որն ստացվել է շատ ազոտ պարունակող սննդարար լուծույթից (1-ին լուծույթ): Մննդարար լուծույթում ազոտի պակասը իջեցնում է ընդհանուր և սպիտակուցային ազոտի քանակությունը քլորելլայի կենսազանգվածում: Այդ երևույթը հիմնականում պայմանավորված է սննդարար լուծույթում ֆոսֆորի և ծծմբի քանակով:

3. Մննդարար լուծույթում ազոտի բավարար քանակության դեպքում բխոսինթեզը գնում է սպիտակուցների և ամինոթթվաների կուտակման ուղղությամբ: Լուծույթում ազոտի քանակի իջեցումը և համապատասխան չափով ֆոսֆորի կամ ծծմբի ավելացումը պակասեցնում է ամինոթթվաների քանակությունը քլորելլայի կենսազանգվածում: Սակայն առանձին ամինոթթվաներ պակասում են տարբեր չափով. ամենից շատ իջնում է արգինինի պարունակությունը, որը զգալի պակասում է ազոտի անբավարարության դեպքում:

K. A. MIKAELIAN

THE INFLUENCE OF THE AMOUNTS OF NITROGEN, PHOSPHORUS
AND SULPHUR IN THE NUTRIENT SOLUTION ON THE GROWTH
AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF CHLORELLA

Institute of agrochemical problems and hydroponics, Erevan.

Summary

Investigations concerning the influence of the amounts of nitrogen, phosphorus and sulphur in the nutrient solution on the growth and bio-

chemical composition of *Chlorella* have been carried out in laboratory conditions with the *Chlorella Pyrenoidosa* -82.

The results have been studied and the appropriate conclusions discussed.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ничипорович А. А. О производственной культуре одноклеточных водорослей. Изд-во «Знание», 1961.
2. Успенская В. И. Экология и физиология водорослей. Изд-во МГУ, 1966.
3. Пиневиц В. В., Верзилин Н. Н. Культивирование протококковых водорослей в условиях под открытым небом. Вестник ЛГУ, серия биол., вып. 3, № 13, 1963.
4. Винберг Г. Г. Массовые культуры одноклеточных водорослей как новый источник пищевого и промышленного сырья. «Успехи совр. биологии», 43, 1957.
5. Владимирова М. Г., Семененко В. Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. Изд-во АН СССР, 1962.
6. Lewin R. A. Physiology and biochemistry of algae, Academic press. New York and London, 1962.
7. Homès M. V. L'aquiculture, Bruxelles, 1953.
8. Chu S. P. The utilisation of organic phosphorus by phytoplankton, „Journ. Mar. Biol. Ass. U. Kingd.", 26, 1942.
9. Кузнецов Е. Д. Особенности минерального питания хлореллы при недостатке азота. «Физиология растений», т. 13, вып. 1, 1966.
10. Spoehr H., Milner H. W. The chemical composition of *Chlorella*. Effect of environment conditions. Plant Phys., 24, № 1, 1949.
11. Рафаелян Р. К. Химический состав люцерны в условиях Арабатской равнины (рукопись), 1966.
12. Thomas W. H., Krauss R. W. Nitrogen metabolism in *Scenedesmus* as affected by environmental changes. Plant Phys., V. 20, № 2, 1955.
13. Клячко-Гурвич Г. Л. Направленный биосинтез углеводов. «Физиология растений», т. 11, вып. 6, 1964.
14. Клячко-Гурвич Г. Л. и Семененко В. Е. Некоторые физиолого-биохимические аспекты направленного получения ценных метаболитов и веществ в условиях интенсивной культуры водорослей. Изучение интенсивной культуры водорослей, Прага, 1965.
15. Яска В. Э. Зависимости продуктивности и химического состава некоторых штаммов протококковых водорослей от азотного питания. Автореферат. Тарту, 1965.
16. Клячко-Гурвич Г. Л., Жукова Т. А. Изменение биосинтеза жирных кислот в условиях азотного голодания у *Chlorella pyrenoidosa*. «Физиология растений», т. 13, вып. 1, 1966.
17. Пахомова М. В. и Серенков Г. П. Влияние света и темноты на химический состав зеленой водоросли *Scenedesmus obliquus*. «Биохимия», т. 28, вып. 5, 1963.
18. Fowden L. The effect age on the bulk protein composition of *Chlorella vulgaris*. „Biochem. Journal", 52, 2, 1952.
19. Заленский О. В., Глаголева Т. А., Мамушина Н. С. Влияние температуры на содержание свободных аминокислот у *Chlorella pyrenoidosa*. «Физиология растений», т. 12, вып. 6, 1965.