

УДК 579.017.8:57.036

Моделирование динамики азотистых соединений в клетках микроводорослей. 1. Накопительная культура

Тренкеншу Р.П.* , Лелеков А.С.**

*Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН,
Севастополь, Россия*

Аннотация. Работа посвящена моделированию динамики азотистых соединений в клетках микроводорослей. Модель основана на положении о том, что весь внутриклеточный азот можно рассматривать как сумму структурных и резервных форм. Скорость поступления азота в клетку и скорость его расхода на синтез структурной составляющей заданы в виде линейных сплайнов и выражены через соотношение структурных и резервных форм. Показано, что видоспецифичные параметры модели есть светозависимые величины. Для конкретных случаев обеспеченности азотом найдены частные интегральные решения. Показано, что динамика всех форм внутриклеточного азота и концентрации азота в среде подчиняется экспоненциальному закону. Предложена математическая модель для количественного описания роста культуры микроводорослей при отсутствии азота в среде. Проведена верификация полученных уравнений на экспериментальных данных роста и ассимиляции азота клетками зелёных микроводорослей *Dunaliella salina* и *Scenedesmus obliquus*. Показано, что предлагаемая модель позволяет описать динамику изменения концентрации структурного, резервного и внеклеточного азота при культивировании данных видов. Для экспоненциальной фазы роста определены видоспецифические коэффициенты максимальной удельной скорости поступления азота в клетки и максимальной удельной скорости синтеза структурных компонентов, которые для *D. salina* составили: 0.42 сут^{-1} и 0.55 сут^{-1} ; для *S. obliquus* – 1.37 сут^{-1} и 1.25 сут^{-1} соответственно. Различия этих параметров для двух видов обусловлены различными световыми условиями при их культивировании.

Ключевые слова: *структурный азот, резервный азот, соотношение структурных и резервных компонентов, моделирование, субстратзависимый рост, микроводоросли.*

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы резко возросло количество публикаций по изучению влияния азота на рост и биохимический состав микроводорослей в природе и культуре [1–5]. Это связано с множеством национальных программ по поиску возобновляемых источников энергии, одним из которых рассматриваются микроводоросли. Причём повышенное внимание уделяется их углеводному и липидному составу, основному сырью для производства биотоплива, и использованию микроводорослей в качестве кормовых добавок при выращивании моллюсков и рыб. Выяснилось, что доля углеводов и жиров в клетках микроводорослей возрастает при дефиците азота в среде

*trenkens@yandex.ru

**a.lelekov@yandex.ru

[4, 6]. Большинство экспериментальных исследований по оценке влияния азота на рост и биохимический состав микроводорослей проведено на культурах.

Главным достоинством использования культур является возможность получения воспроизводимых результатов, которые позволяют находить не только закономерности влияния экологических факторов среды на выращиваемые объекты, но и дать количественную оценку этого влияния. Без этих данных невозможно изучение метаболических процессов, происходящих на клеточном, организменном или популяционном уровнях. Однако на сегодняшний день не существует общепринятой теории роста культур микроводорослей. Как следствие, в литературе приводится огромное количество экспериментальных работ, ставящих целью количественно описать влияние того или иного фактора на скорость роста или продукцию конкретного биохимического вещества [1, 2, 7–9].

Азот является третьим по значимости фактором среды (после света и углерода), определяющим скорость и эффективность фотобиосинтетических процессов в клетках микроводорослей. Исследования зависимости продуктивности культуры микроводорослей от первых двух параметров среды проводятся уже около ста лет. Следует отметить, что многие фотосинтетические и биосинтетические процессы, протекающие в клетках микроводорослей, достаточно детально исследованы и даже описаны количественно [10–12], промоделированы первичные фотосинтетические процессы, а также ассимиляция углерода в цикле Кальвина [13–15].

В предыдущей работе [16] нами предложена динамическая модель, которая позволяет описать изменение различных форм азотистых соединений в клетке и в среде. Азот рассматривается как единственный лимитирующий рост культуры фактор, отсутствуют ограничения скорости роста углеродом и другими биогенными элементами. Внутриклеточная концентрация азота рассматривается в виде суммы структурных и резервных соединений. Такое представление полностью согласуется с концепцией Друпэ о том, что скорость роста микроорганизмов зависит от внутриклеточной концентрации лимитирующего субстрата [17]. Зависимость скоростей процессов от концентраций лимитирующего субстрата была задана не гиперболой Михаэлиса-Ментен, а в виде линейных сплайнов. В предыдущих работах [18, 19] было показано, чем лучше организована метаболическая система, тем ближе форма зависимости скорости роста от потока субстрата к идеальной, т. е. к уравнению ломаной, впервые предложенной Блекманом [20]. Кроме того, при использовании уравнения ломаной чётко определяется граница смены лимитирующих факторов. Отметим, что предложенная модель может быть использована только для культур фотоавтотрофных организмов, использующих неорганические источники азота в качестве пластического субстрата для построения белковых структур, при этом энергетику роста определяют световые условия, в которых находятся клетки. При невысоких концентрациях клеток микроводорослей, когда они не затеняют друг друга и в среде избыток биогенных элементов, удельная скорость роста культуры максимальна μ_m [19], при этом биомасса растёт по экспоненциальному закону, что подразумевает постоянство биохимического состава клеток. С ростом внешней освещённости (если минерального и газового субстрата достаточно), произойдёт увеличение μ_m благодаря увеличению скорости синтеза первичных углеводов, которые в дальнейшем расходуются на биосинтез белков, липидов, структурных углеводов и др. В пределе, при некоторой пороговой освещённости, мы будем наблюдать максимально возможную удельную скорость роста, которая есть видоспецифический параметр культуры, и определяется внутренней организацией клеточного метаболизма. Таким образом, влияние света на рост фотавтотрофов оказывается всегда через изменение соотношения резервных и структурных макромолекулярных форм биомассы клеток.

Целью данной работы являются интегральные решения предложенной модели [16] для нелимитированного и лимитированного азотом роста накопительной культуры микроводорослей и их верификация. Для этого использовались экспериментальные данные роста культур одноклеточных водорослей при одновременном измерении азота в среде.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Азотистые соединения, находящиеся в клетках N_{cell} , рассматриваются в виде двух основных частей: структурные и резервные формы. К структурной части относим азот, связанный в структуре клеточной массы N_{str} . Эта часть биомассы в основном представлена белками. Сюда же относим и небелковые, но входящие в структуры клетки формы азотистых соединений (например, коферменты, ДНК, РНК). Резервная часть азота в клетках N_{res} представлена той частью, которая еще не вошла в структурные формы и рассматривается как субстрат в последовательности метаболических реакций (интермедиаты) [21, 22].

Внутриклеточное содержание азотистых соединений в клетке представляет собой сумму резервных и структурных форм:

$$N_{\text{cell}} = N_{\text{str}} + N_{\text{res}}.$$

Общий баланс азота в системе:

$$N_0 = N + N_{\text{str}} + N_{\text{res}},$$

где N – концентрация азота в среде.

Систему дифференциальных уравнений, описывающих изменение всех форм азота и плотности культуры микроводорослей (B), можно представить в виде:

$$\begin{cases} \frac{dB}{dt} = \mu(N_{\text{str}}, N_{\text{res}}) \cdot B, \\ \frac{dN}{dt} = -\left(\frac{dN_{\text{str}}}{dt} + \frac{dN_{\text{res}}}{dt}\right), \\ \frac{dN_{\text{str}}}{dt} = \mu_m N_{\text{str}} \frac{1}{N_{\text{res1}}} \begin{cases} N_{\text{res}}, N_{\text{res}} \leq N_{\text{res1}}; \\ N_{\text{res1}}, N_{\text{res}} \geq N_{\text{res1}}; \end{cases} \\ \frac{dN_{\text{res}}}{dt} = \mu_{Nm} N_{\text{str}} \frac{1}{N_1} \begin{cases} N, N \leq N_1; \\ N_1, N \geq N_1; \end{cases} - \mu_m N_{\text{str}} \frac{1}{N_{\text{res1}}} \begin{cases} N_{\text{res}}, N_{\text{res}} \leq N_{\text{res1}}; \\ N_{\text{res1}}, N_{\text{res}} \geq N_{\text{res1}}; \end{cases} \end{cases} \quad (1)$$

где $\mu(N_{\text{str}}, N_{\text{res}})$ – удельная скорость роста культуры, зависящая от соотношения структурных и резервных форм азота, сут⁻¹; N – концентрация азота в среде, г/л; N_{res1} , N_1 – насыщающие концентрации резервного и азота в среде, при которых скорость достигает максимального значения; μ_{Nm} – максимальная удельная скорость поступления азота в клетки, сут⁻¹; μ_m – максимальная удельная скорость включения азота в структуру клетки (или синтеза структурных компонентов), сут⁻¹.

Скорость роста культуры в конечном счёте определяется не количеством того или иного субстрата в среде, а соотношением резервных и структурных форм биомассы внутри клетки. Обозначим через $\varepsilon_{r/s}$ и $\varepsilon_{N/s}$ отношение концентрации резервного азота и концентрации внеклеточного азота к структурному:

$$\varepsilon_{r/s} = \frac{N_{\text{res}}}{N_{\text{str}}}, \varepsilon_{N/s} = \frac{N}{N_{\text{str}}}. \quad (2)$$

С учётом (2) систему (1) можно переписать в виде:

$$\begin{cases} \frac{dB}{dt} = \mu(N_{str}, N_{res}) \cdot B, \\ \frac{dN}{dt} = -\left(\frac{dN_{str}}{dt} + \frac{dN_{res}}{dt}\right), \\ \frac{dN_{str}}{dt} = \mu_m N_{str} \frac{1}{\varepsilon_{r/s}^{sat}} \begin{cases} \varepsilon_{r/s}, \varepsilon_{r/s} \leq \varepsilon_{r/s}^{sat}; \\ \varepsilon_{r/s}, \varepsilon_{r/s} \geq \varepsilon_{r/s}^{sat}; \end{cases} \\ \frac{dN_{res}}{dt} = \mu_{Nm} N_{str} \frac{1}{\varepsilon_{N/s}^{sat}} \begin{cases} \varepsilon_{N/s}, \varepsilon_{N/s} \leq \varepsilon_{N/s}^{sat}; \\ \varepsilon_{N/s}, \varepsilon_{N/s} \geq \varepsilon_{N/s}^{sat}; \end{cases} - \mu_m N_{str} \frac{1}{\varepsilon_{r/s}^{sat}} \begin{cases} \varepsilon_{r/s}, \varepsilon_{r/s} \leq \varepsilon_{r/s}^{sat}; \\ \varepsilon_{r/s}, \varepsilon_{r/s} \geq \varepsilon_{r/s}^{sat}; \end{cases} \end{cases} \quad (3)$$

где $\varepsilon_{r/s}^{sat}$, $\varepsilon_{N/s}^{sat}$ – насыщающие значения соотношений, при которых скорости определяются внутренней структурой клеток микроводорослей.

Таким образом, форма зависимости макромолекулярного состава биомассы микроводорослей от азота определяется соотношением значений притока азота извне и синтеза структурных компонентов клеток. Полученная система (3), позволяет описать динамику изменения структурных и резервных форм биомассы в зависимости от величины соотношений $\varepsilon_{r/s}$ и $\varepsilon_{N/s}$ для накопительной культуры микроводорослей.

Отметим, что процесс преобразования резервных форм в структурные является энергозависимым. Согласно литературным данным [21, 22], преобразование нитратов, нитритов, аммония в глутамат происходит в хлоропластах при участии ферментов глутамат-синтетазы, нитрат-редуктазы и др. Эти реакции происходят с потреблением энергии в форме NADH или АТР. Следовательно, коэффициент максимальной удельной скорости синтеза структурных компонентов – светозависимый параметр (рис. 1).

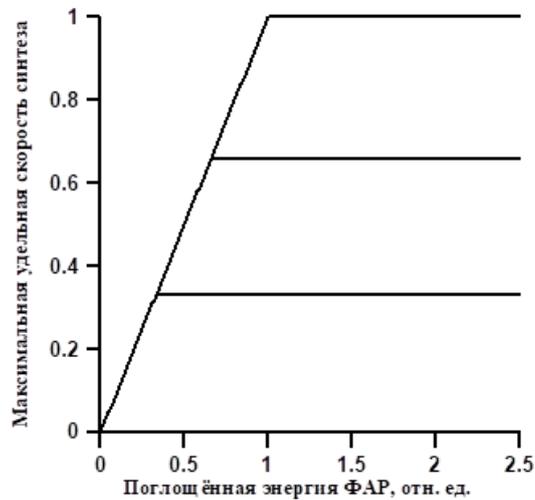


Рис. 1. Зависимость максимальной удельной скорости синтеза биомассы от количества поглощённой энергии.

Экспоненциальный рост ($\varepsilon_{r/s} \geq \varepsilon_{r/s}^{sat}, \varepsilon_{N/s} \geq \varepsilon_{N/s}^{sat}$)

Рассмотрим рост культур микроводорослей в условиях избытка азота в культуральной среде. Такие условия обычно реализуются либо в непрерывной культуре при полном минеральном обеспечении клеток, либо наблюдаются при небольших концентрациях клеток в начале накопительного культивирования. Здесь необходимо заметить, что в общем случае величина удельной скорости зависит от световых условий, в которых находятся клетки микроводорослей. В данной работе, учитывая

невысокую оптическую плотность рассматриваемых культур, световые условия можно считать неизменными, а удельную скорость роста – максимальной.

Используя (3), запишем систему дифференциальных уравнений, описывающих данные условия:

$$\begin{cases} \frac{dB}{dt} = \mu_m B, \\ \frac{dN_{str}}{dt} = \mu_m N_{str}, \\ \frac{dN_{res}}{dt} = (\mu_{Nm} - \mu_m) N_{str}, \\ \frac{dN}{dt} = -\mu_{Nm} N_{str}. \end{cases}$$

Первое и второе уравнение системы имеют простые решения в виде экспоненциального роста со временем при начальных условиях: $t = 0, B = B_0, N_{str} = N_{str0}$:

$$B = B_0 e^{\mu_m t}, N_{str} = N_{str0} e^{\mu_m t}.$$

С учётом этих решений третье и четвёртое уравнение системы примут вид:

$$\begin{cases} \frac{dN_{res}}{dt} = (\mu_{Nm} - \mu_m) N_{str0} e^{\mu_m t}, \\ \frac{dN}{dt} = -\mu_{Nm} N_{str0} e^{\mu_m t}. \end{cases}$$

После интегрирования при начальных условиях: $t = 0, N = N_0, N_{res} = N_{res0}$, получим:

$$N_{res} = N_{res0} + \frac{(\mu_{Nm} - \mu_m)}{\mu_m} N_{str0} (e^{\mu_m t} - 1), N = N_0 - \frac{\mu_{Nm}}{\mu_m} N_{str0} (e^{\mu_m t} - 1).$$

Окончательно, система уравнений, описывающая динамику плотности культуры и различных форм азота в отсутствие ограничений роста, имеет вид:

$$\begin{cases} B = B_0 e^{\mu_m t}, \\ N_{str} = N_{str0} e^{\mu_m t}, \\ N_{res} = N_{res0} + \frac{(\mu_{Nm} - \mu_m)}{\mu_m} N_{str0} (e^{\mu_m t} - 1), \\ N = N_0 - \frac{\mu_{Nm}}{\mu_m} N_{str0} (e^{\mu_m t} - 1). \end{cases} \quad (4)$$

Система (4) отображает процесс неограниченного азотом роста культуры микроводорослей при неизменных световых условиях.

Для верификации модели были использованы экспериментальные данные, представленные в работах [23, 24]. В эксперименте снимались накопительные кривые роста зелёной галофильной микроводоросли *Dunaliella salina* в плоскопараллельных фотобиореакторах толщиной 5 см при поверхностной освещённости 20 клк, обеспечиваемой лампами ДРЛ-700. Также проводились параллельные измерения общего белка и нитратного азота в среде (см. рис. 2). Количество структурного азота в клетках *D. salina* рассчитано путём деления концентрации общего белка на 6.25 [3].

Анализируя (4), можно сделать вывод, что при нелимитированном росте количество внутриклеточного азота (как структурного, так и неструктурного) растёт

экспоненциально с одинаковым показателем экспоненты. Следовательно, относительное содержание внутриклеточного азота в клетках микроводорослей не изменяется, свидетельствуя о постоянстве относительного содержания белка. Верификация (4) позволила определить неизвестные видоспецифические параметры модели: так максимальная удельная скорость синтеза структурных компонентов μ_m у *D. salina* составила 0.55 сут^{-1} ; максимальная удельная скорость поступления азота из среды в клетку μ_{Nm} составила 0.42 сут^{-1} .

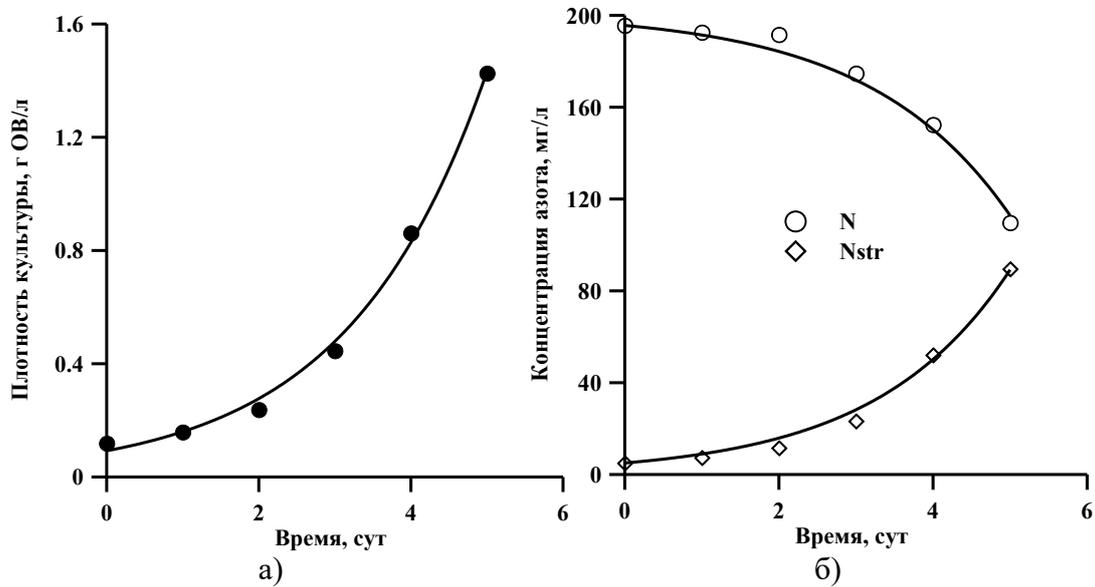


Рис. 2. Динамика плотности культуры (а) и концентрации азота в среде и структурного азота (б) при культивировании *D. salina* [23, 24]. Линии – аппроксимация ($R^2 = 0.98$) экспериментальных данных моделью для нелимитированного роста (4).

Для сравнения рассмотрим данные работы [3] по выращиванию *Scenedesmus obliquus* в плоскопараллельном фотобиореакторе при облучённости $420 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. На рисунках 3 и 4 представлена динамика плотности культуры и нитратного азота в среде.

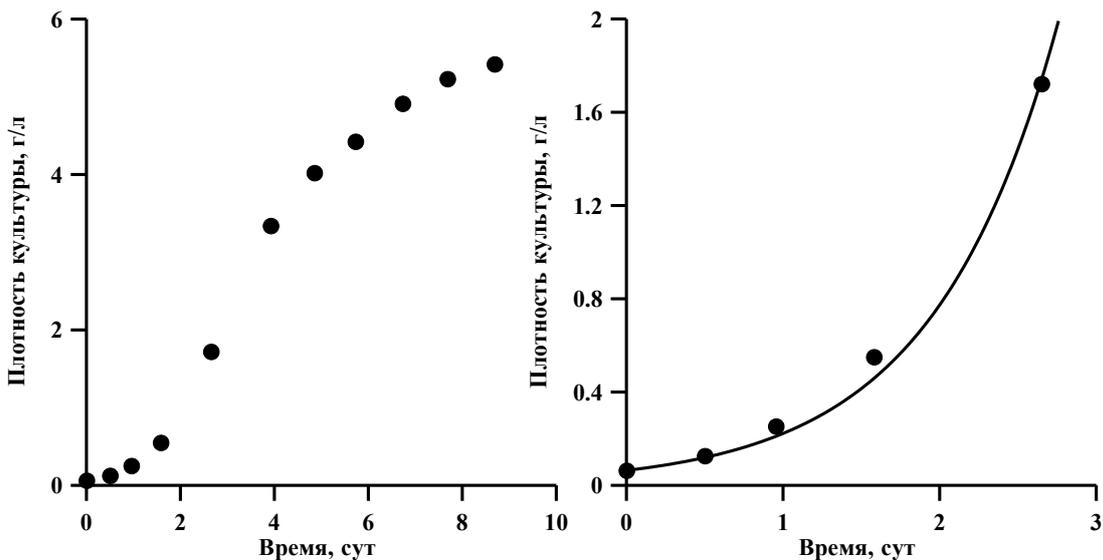


Рис. 3. Динамика плотности культуры *Scenedesmus obliquus* [3]. Линия – аппроксимация ($R^2 = 0.99$) экспериментальных данных моделью для нелимитированного роста (4).

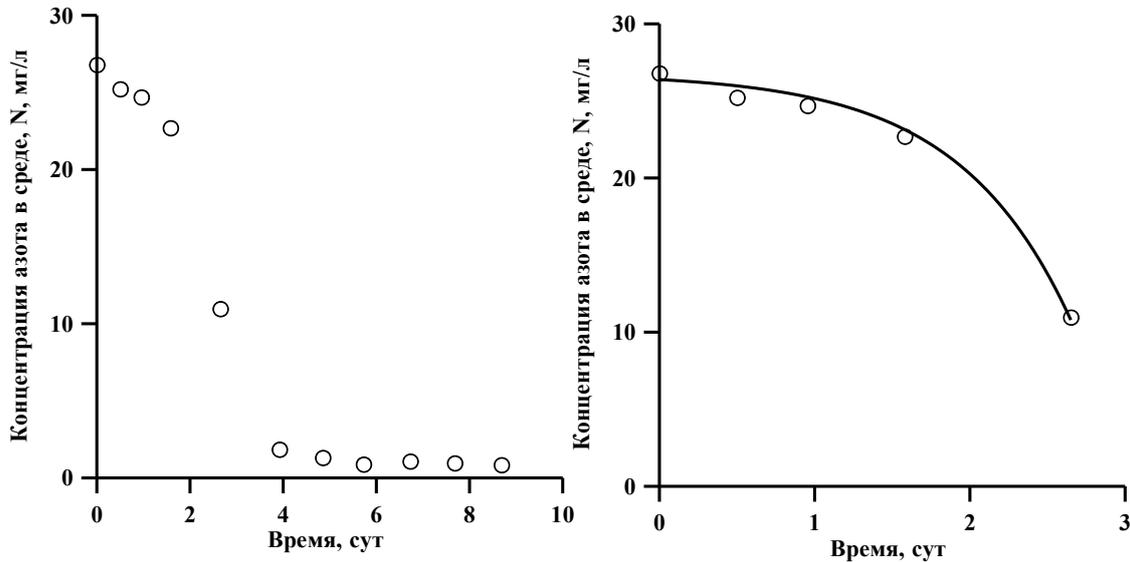


Рис. 4. Динамика концентрации азота в среде при культивировании *Scenedesmus obliquus* [3]. Линия – аппроксимация ($R^2 = 0.99$) экспериментальных данных моделью для нелимитированного роста (4).

Расчёт кинетических коэффициентов модели по данным [3] показал, что максимальная удельная скорость синтеза структурных компонентов μ_m у *S. obliquus* составила 1.25 сут^{-1} ; максимальная удельная скорость поступления азота из среды в клетку $\mu_{Nm} = 1.37 \text{ сут}^{-1}$. Сравнивая полученные значения с результатами для *D. salina*, отметим, что оба коэффициента модели являются светозависимыми, что подтверждает вышеприведённые теоретические расчёты (см. рис. 1). Однако при расчёте по данным [23, 24] коэффициент максимальной удельной скорости поступления азота из среды ниже удельной скорости синтеза структуры, что говорит об исчерпании резервных форм азота в клетках *D. salina*. Напротив, при анализе данных [3] коэффициент μ_{Nm} превышает μ_m , следовательно, в клетках *S. obliquus* происходит накопление резервного азота. Очевидно, что эти процессы определяются начальным содержанием азота в клетках микроводорослей, которое в свою очередь зависит от предыстории культуры.

Лимитированный рост культуры, концентрация азота в среде меньше насыщающей ($\varepsilon_{r/s} \geq \varepsilon_{r/s}^{sat}, \varepsilon_{N/s} < \varepsilon_{N/s}^{sat}$)

В некоторый момент времени t_{NI} поток азота из среды в клетку становится меньше единичного, при этом соотношение $\varepsilon_{N/s}$ станет ниже насыщающего. Это приведёт к уменьшению скорости поступления азота в клетку, а, следовательно, к снижению скорости образования резервных форм азота. Однако вплоть до некоторого момента времени t_{res1} соотношение $\varepsilon_{r/s}$ будет выше насыщающего. В таких условиях система (3) запишется в виде:

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = -\left(\frac{dN_{str}}{dt} + \frac{dN_{res}}{dt}\right), \\ \frac{dN_{str}}{dt} = \mu_m N_{str}, \\ \frac{dN_{res}}{dt} = \mu_{Nm} N_{str} \frac{\varepsilon_{N/s}}{\varepsilon_{N/s}^{sat}} - \mu_m N_{str}. \end{cases}$$

С учётом (2) последняя система упростится:

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = -\left(\frac{dN_{str}}{dt} + \frac{dN_{res}}{dt}\right), \\ \frac{dN_{str}}{dt} = \mu_m N_{str}, \\ \frac{dN_{res}}{dt} = \frac{\mu_{Nm}}{\varepsilon_{N/s}^{sat}} N - \mu_m N_{str}. \end{cases}$$

В общем случае для нахождения интегральных решений последней системы необходимо учитывать то, что видоспецифичные коэффициенты модели μ_m и μ_{Nm} , согласно рисунку 1, будут изменяться вследствие уменьшения средней пространственной облучённости. Для условий накопительной культуры мы можем дать только примерное уравнение, которое предполагает, что на небольших временных промежутках световые условия, в которых находятся клетки, не претерпевают значительных изменений. Определим зависимость концентрации азота в среде от времени, считая μ_{Nm} постоянной величиной:

$$\begin{aligned} \frac{dN}{dt} &= -\frac{\mu_{Nm}}{\varepsilon_{N/s}^{sat}} N, \\ N &= N_1 \exp\left(-\frac{\mu_{Nm}}{\varepsilon_{N/s}^{sat}}(t - t_{N1})\right), \end{aligned} \quad (5)$$

где N_1 – насыщающая концентрация азота в среде.

Уравнение (5) носит приближённый характер и применимо для описания динамики азота в среде только для временного диапазона от t_{N1} до t_{res1} и соответствующим им концентраций азота. Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод, что концентрация азота в среде экспоненциально снижается, что подтверждается вышеуказанными экспериментальными данными (см. рис. 5).

Лимитированный рост культуры, концентрация резервного азота меньше насыщающей ($\varepsilon_{r/s} < \varepsilon_{r/s}^{sat}, \varepsilon_{N/s} < \varepsilon_{N/s}^{sat}$)

При уменьшении соотношения резервного азота ниже $\varepsilon_{N/s}^{sat}$ будет наблюдаться ограничение скорости образования как резервного, так и структурного азота. В таких условиях система (3), записанная для различных форм азота, принимает вид:

$$\begin{cases} \frac{dN_{str}}{dt} = \mu_m N_{str} \frac{\varepsilon_{r/s}}{\varepsilon_{r/s}^{sat}}, \\ \frac{dN_{res}}{dt} = \mu_{Nm} N_{str} \frac{\varepsilon_{N/s}}{\varepsilon_{N/s}^{sat}} - \mu_m N_{str} \frac{\varepsilon_{r/s}}{\varepsilon_{r/s}^{sat}}. \end{cases}$$

Как и в предыдущем случае, для условий накопительной культуры система не имеет интегральных решений в элементарных функциях, т. к. μ_m и μ_{Nm} светозависимы. Только для условий стационарного динамического равновесия непрерывной культуры, вследствие равенства всех удельных скоростей, систему дифференциальных уравнений можно превратить в алгебраическую. Однако для небольших временных промежутков, когда коэффициенты μ_m и μ_{Nm} можно считать постоянными, динамика азота в среде запишется в виде:

$$N = N_2 \exp\left(-\frac{\mu_{Nm}}{\varepsilon_{N/s}^{sat}}(t - t_{res1})\right), \quad (6)$$

где N_2 – концентрация азота в среде, при которой $\varepsilon_{r/s} = \varepsilon_{r/s}^{sat}$.

Уравнение (6) по форме совпадает с (5), концентрация азота снижается экспоненциально, но для этих двух случаев константы μ_{Nm} будут различны.

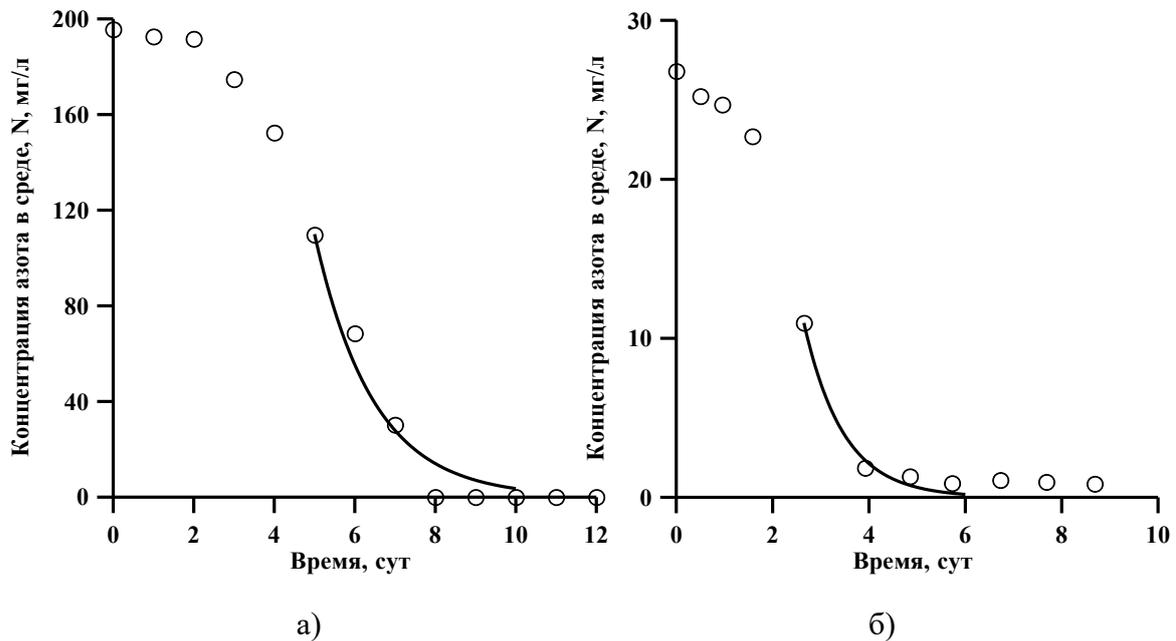


Рис. 5. Динамика концентрации азота в среде при культивировании а) *Dunaliella salina* [23, 24] и б) *Scenedesmus obliquus* [3]. Линия – аппроксимация ($R^2 = 0.96$) экспериментальных данных моделью для лимитированного роста (5) или (6).

Лимитированный рост культуры, концентрация азота в среде равна нулю

($\varepsilon_{r/s} < \varepsilon_{r/s}^{sat}, \varepsilon_{N/s} = 0$)

На восьмые сутки культивирования *Dunaliella salina* [23, 24] произошло полное исчерпание азота из среды, т. е. $N = 0$, $\varepsilon_{N/s} = 0$. Однако даже в таких условиях продолжалось увеличение плотности культуры, причём за четыре дня приросло около 1 г ОВ/л. Предлагаемая модель позволяет количественно описать наблюдаемый прирост биомассы исходя из того, что при нулевых концентрациях азота в среде образование структурных составляющих может происходить только за счёт резервного азота. В этом случае система (3) с учётом (2) примет следующий вид:

$$\begin{cases} \frac{dN_{str}}{dt} = \frac{\mu_m}{\varepsilon_{r/s}^{sat}} \cdot N_{res}, \\ \frac{dN_{res}}{dt} = -\frac{\mu_m}{\varepsilon_{r/s}^{sat}} \cdot N_{res}. \end{cases}$$

Таким образом, скорость образования структурного азота равна скорости расхода резервного азота. Запишем общее балансовое уравнение, которое при нулевой концентрации азота в среде примет вид:

$$N_0 = N_{str} + N_{res},$$

где N_0 – начальная концентрация азота в среде.

Подставляя значение N_{res} в первое уравнение системы, можно получить зависимость концентрации структурных форм азота от времени:

$$N_{str} = N_0 - (N_0 - N_{str1}) \cdot \exp\left(-\frac{\mu_m^{sat}}{\varepsilon_{r/s}} \cdot (t - t_1)\right), \quad (7)$$

где N_{str1} – концентрация структурных форм азота к моменту окончания азота в среде t_1 .

Верификация уравнения (7) представлена на рисунке 6. Можно показать, что концентрация резервных форм азота экспоненциально снижается.

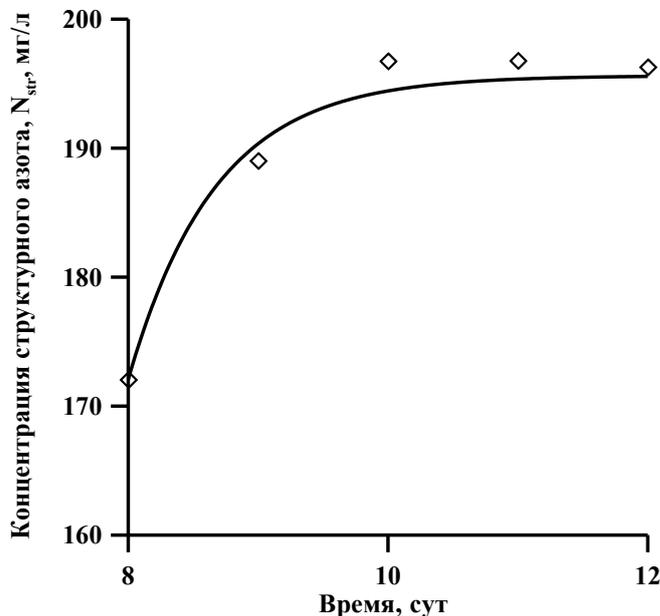


Рис. 6. Динамика концентрации структурного азота при культивировании *Dunaliella salina* [23, 24]. Линия – аппроксимация ($R^2 = 0.98$) экспериментальных данных моделью (7).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе представлена группа математических моделей динамики различных форм азота в культуре микроводорослей. Отметим, что введение понятий соотношения резервных и структурных форм биомассы внутри клетки $\varepsilon_{r/s}$ и $\varepsilon_{N/s}$ позволило преобразовать систему (1) в форму (3), что в дальнейшем привело к возможности получения простых частных решений в элементарных функциях. Каждое из приведённых уравнений показало высокое ($R^2 \geq 0.96$) с экспериментальными данными по росту и ассимиляции азота культурами *D. salina* и *S. obliquus*. Следует отметить, что все коэффициенты уравнений имеют биологический смысл, следовательно, аппроксимация экспериментальных данных позволяет определить такие видоспецифичные параметры как максимальная удельная скорость синтеза структуры и поглощения азота клетками, а также насыщающие значения содержания различных форм азота. Знание этих величин позволит в дальнейшем разрабатывать модели управления ростом и накоплением белка в клетках микроводорослей.

Работа выполнена в рамках госзадания по НИР «Разработка научных основ решения гидробиологических и биотехнологических проблем интегрированного управления прибрежными зонами» № АААА-А18-118021350003-6.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sánchez-Saavedra M.P., Castro-Ochoa F.Y., Nava-Ruiz V.M., Ruiz-Güereca D.A., Villagómez-Aranda A.L., Siqueiros-Vargas F., Molina-Cárdenas C.A. Effects of

- nitrogen source and irradiance on *Porphyridium cruentum*. *J. Appl. Phycol.* 2017. doi: [10.1007/s10811-017-1284-2](https://doi.org/10.1007/s10811-017-1284-2)
2. Silva C.E., Sforza E., Bertucco A. Stability of carbohydrate production in continuous microalgal cultivation under nitrogen limitation: effect of irradiation regime and intensity on *Tetradismus obliquus*. *J. Appl. Phycol.* 2017.
 3. Ho S., Chen C., Chang J. Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. *Bioresource Technology.* 2012. V. 113. P. 244–252. doi: [10.1016/j.biortech.2011.11.133](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.133)
 4. Hu Q., Sommerfeld M., Jarvis E., Ghirardi M., Posewitz M., Seibert M., Darzins A. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *J. Plant.* 2008. V. 54. No. 4. P. 621–639. doi: [10.1111/j.1365-313X.2008.03492.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03492.x)
 5. Podevin M., Francisci D., Holdt S. L., Angelidaki I. Effect of nitrogen source and acclimatization on specific growth rates of microalgae determined by a high-throughput in vivo microplate autofluorescence method. *J. Appl. Phycol.* 2015. V. 27. P. 1415–1423. doi: [10.1007/s10811-014-0468-2](https://doi.org/10.1007/s10811-014-0468-2)
 6. Gatenby C.M., Occurt D.M., Kreeger D.A., Parker B.C., Jones V.A., Neves R.J. Biochemical composition of three algal species proposed as food for captive freshwater mussels. *J. Appl. Phycol.* 2003. V. 15. No. 1. P. 1–11. doi: [10.1023/A:1022929423011](https://doi.org/10.1023/A:1022929423011)
 7. Kliphuis A.M.J., Klok A. J., Martens D.E., Lamers P.P., Janssen M., Wijffels R.H. Metabolic modeling of *Chlamydomonas reinhardtii*: energy requirements for photoautotrophic growth and maintenance. *J. Appl. Phycol.* 2012. V. 24. P. 253–266. doi: [10.1007/s10811-011-9674-3](https://doi.org/10.1007/s10811-011-9674-3)
 8. Macintyre H.L., Kana T.M., Anning T., Geider R.J. Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria. *J. Phycol.* 2002. V. 38. P. 17–38. doi: [10.1046/j.1529-8817.2002.00094.x](https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2002.00094.x)
 9. Гудвилевич И.Н., Боровков А.Б. Продуктивность микроводоросли *Dunaliella salina* Теод. при различных способах внесения углекислого газа в культуру. *Морской биологический журнал.* 2017. Т. 2. № 2. С. 34–40. doi: [10.21072/mbj.2017.02.2.03](https://doi.org/10.21072/mbj.2017.02.2.03)
 10. Baroukh C., Muñoz-Tamayo R., Steyer J., Bernard O. DRUM: A new framework for metabolic modeling under non-balanced growth. Application to the carbon metabolism of unicellular microalgae. *PLoS One.* 2014. doi: [10.1371/journal.pone.0104499](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104499)
 11. Shastri A.A., Morgan J.A. Flux balance analysis of photoautotrophic metabolism. *Biotechnol. Prog.* 2005. V. 21. P. 1617–1626. doi: [10.1021/bp050246d](https://doi.org/10.1021/bp050246d)
 12. Минкевич И.Г. Математические проблемы организации метаболических путей из биохимических реакций. *Математическая биология и биоинформатика.* 2016. Т. 11. № 2. С. 406–425. doi: [10.17537/2016.11.406](https://doi.org/10.17537/2016.11.406)
 13. Ивлев А.А. Колебательная природа углеродного метаболизма в фотосинтезирующей клетке по данным изотопного состава углерода. *Успехи современной биологии.* 2011. Т. 131. № 2. С. 178–192.
 14. Рубин А.Б., Кренделева Т.Е. Регуляция первичных процессов фотосинтеза. *Успехи биологической химии.* 2003. Т. 43. С. 225–266.
 15. Krasnovsky A.A. Singlet molecular oxygen in photobiochemical systems: IR phosphorescence studies. *Membr. Cell Biol.* 1998. V. 12. No. 5. P. 665–690.
 16. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С. Модель трансформации форм азотистых соединений клетками микроводорослей. *Вопросы современной альгологии.* 2018. № 1 (16). URL: <http://algology.ru/1247> (дата обращения: 24.07.2018).

17. Droop M. R. Some thoughts on nutrient limitation in algae. *J. Phycol.* 1973. V. 9. P. 264–272.
18. Тренкеншу Р.П. *Кинетика субстратзависимых реакций при различной организации метаболических систем*. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2005. 89 с.
19. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С. *Моделирование роста микроводорослей в культуре*. Севастополь: ООО "Константа-Принт", 2017. 152 с. doi: [10.21072/978-5-906952-28-8](https://doi.org/10.21072/978-5-906952-28-8)
20. Blackman F. F. Optima and limiting factors. *Ann. Bot. Lond.* 1905. V.19. P. 281–295.
21. Perez-Garcia O., Escalante F., de-Bashan L., Bashan Y. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. *Water Research.* 2011. V. 45. № 1. P. 11–36. doi: [10.1016/j.watres.2010.08.037](https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.037)
22. Sanz-Luque E., Chamizo-Ampudia A., Llamas A., Galvan A., Fernandez E. Understanding nitrate assimilation and its regulation in microalgae. *Front. Plant. Sci.* 2015. V. 6. № 899. doi: [10.3389/fpls.2015.00899](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00899)
23. Лелеков А.С., Горбунова С.Ю., Боровков А.Б. Динамика азота и фосфора в среде при интенсивном культивировании микроводоросли *Dunaliella salina*. *Экология моря*. 2007. Т. 74. С. 21–24.
24. Лелеков А.С., Гудвиллович И.Н. Продукционные характеристики роста и биосинтеза квазинепрерывной культуры зелёной микроводоросли *Dunaliella salina* Теод. *Экология моря*. 2010. Спец. вып. 80: Биотехнология водорослей. С. 59–66.

Рукопись поступила в редакцию 07.06.2018.
Дата опубликования 26.09.2018.