

УДК 57.03:57.042

## **Моделирование динамики содержания пигментов в клетках одноклеточной водоросли *Dunaliella salina* Teod. на стадии каротиногенеза**

**Лелеков А.С.,\* Боровков А.Б.,\*\* Новикова Т.М., Гудвиллов И.Н., Авсиян А.Л., Меметшаева О.А.**

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

**Аннотация.** Работа посвящена моделированию динамики содержания хлорофилла и каротиноидов в клетках одноклеточной водоросли *D. salina*, обитающей в солёных водах, на стадии индукции каротиногенеза. Разработана математическая модель содержания пигментов в клетках микроводорослей, находящихся в условиях избытка световой энергии и лимита по минеральным компонентам питательной среды. Модель основана на предположении, что наблюдаемая скорость изменения концентрации пигмента является алгебраической суммой скоростей синтеза, фотодеструкции и восстановления части фотоокисленных пигментов. Скорость синтеза вторичных каротиноидов не зависит от внешних условий и определяется количеством ключевого ферментного комплекса и скоростью его оборота. Скорость фотодеструкции вторичных каротиноидов и хлорофилла зависит от интенсивности действующего света и пропорциональна количеству поглощённой энергии фотосинтетически активной радиации. Проведена верификация полученных уравнений при выращивании *D. salina* на стадии каротиногенеза. Определена удельная скорость фотодеструкции хлорофилла  $a$ , которая составила  $0.12 \text{ сут}^{-1}$ . Концентрация вторичных каротиноидов увеличивается до максимального значения, которое определяется соотношением удельных скоростей синтеза и фотодеструкции, а также максимальной плотностью культуры. В условиях естественного освещения региона Севастополя максимальная концентрация каротиноидов составила  $18.33 \text{ мг/л}$  или  $0.73 \text{ г/м}^2$ .

**Ключевые слова:** микроводоросли, хлорофилл  $a$ , вторичные каротиноиды, фотодеструкция, математическая модель.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Известно, что дефицит компонентов минерального питания влечёт за собой изменение скорости роста микроводорослей, а также количественного состава пигментов. При дефиците биогенных элементов и, особенно, азота, в клетках наблюдается уменьшение содержания белка и пигментов, образующих комплексы с белком (хлорофиллы, фикобилипротеины). С другой стороны, при недостатке азота общей для всех микроорганизмов тенденцией является снижение содержания клеточного азота за счёт диссимиляции азотсодержащих макромолекул [1, 2].

---

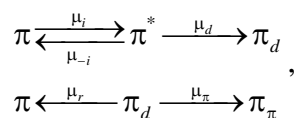
\* [a.lelekov@yandex.ru](mailto:a.lelekov@yandex.ru)

\*\* [spirit2000sev@yandex.ru](mailto:spirit2000sev@yandex.ru)

Исключение азота из питательной среды изменяет направленность биосинтеза микроводорослей, вызывая усиленный синтез запасных веществ липидной природы. Так, содержание  $\beta$ -каротина в клетках *D. salina* увеличивается более чем в два раза [3–5]. Повышенная освещённость вызывает дополнительное возрастание содержания  $\beta$ -каротина в клетках *D. salina*, причём каротиноиды, накапливаемые в клетках при стрессовых условиях, относятся не к фотосинтетически активным пигментам, а к фотопротекторным. Установлено, что накопление  $\beta$ -каротина у *D. salina* происходит как защитная реакция против облучения [3, 6]. Усиленное накопление  $\beta$ -каротина защищает клетки от высокой радиации через адсорбцию синего света, поскольку при его высокой концентрации происходит фотодеструкция хлорофилла и наступает гибель клеток.

Существует два вида моделей, которые описывают влияние интенсивности света на величину относительного содержания пигментов в биомассе микроводорослей ( $\beta$ ). Во-первых, это группа эмпирических моделей, которые получены при статистическом анализе реальных экспериментальных данных количественного содержания пигментов в клетках различных видов микроводорослей [7, 8]. Например, это широко известная модель Гейдера [9]: величина относительного содержания хлорофилла  $a$  изменяется обратно пропорционально величине освещённости при постоянной температуре и экспоненциальном росте культуры микроводорослей. В основу второй группы моделей положен стохастический подход взаимодействия светового потока и пигментной системы [10]. Здесь учитывается, что под действием света наряду с синтезом пигментов происходит их обратимое фотодеструктивное окисление, а также частичная репарация [11]. При малых интенсивностях света величина  $\beta$  стремится к максимальному значению  $\beta_m$ , при больших интенсивностях  $\beta$  стремится к минимальному значению  $\beta_{\min}$ . Данные коэффициенты являются важнейшими видоспецифичными параметрами и могут быть рассчитаны путём аппроксимации экспериментальных данных содержания пигментов в биомассе микроводорослей.

Современные исследования процессов фотодеструктивного окисления пигментов показывают, что наиболее вероятен следующий механизм: пигмент поглощает квант света и переходит в возбуждённое состояние, которое соответствует первому синглетному уровню. Далее происходит переход в триплетное состояние, при этом выделяется энергия, за счёт которой ионизируется молекула кислорода с образованием атомарного кислорода, являющегося сильнейшим окислителем. Молекула пигмента, находящаяся в триплетном состоянии, может вернуться в основное состояние при участии каротиноидов с выделением тепла. В свою очередь, синглетный кислород может необратимо окислять пигмент, переводя его в неактивную форму [12, 13]. Все указанные выше процессы могут быть записаны в виде обобщённой схемы:



где  $\pi$  – наблюдаемая концентрация пигмента;  $\pi^*$  – концентрация пигмента в возбуждённом (синглетном) состоянии;  $\pi_d$  – концентрация пигмента в триплетном состоянии;  $\pi_\pi$  – концентрация окисленного пигмента;  $\mu_i$  – константа перехода в синглетное возбуждённое состояние;  $\mu_{-i}$  – константа перехода из синглетного в основное состояние;  $\mu_d$  – константа перехода в триплетное состояние;  $\mu_r$  – константа перехода из триплетного в основное состояние;  $\mu_\pi$  – константа образования фотоокисленной формы пигмента.

К настоящему времени накоплено большое количество экспериментальных данных о росте различных видов микроводорослей в накопительной (периодической) культуре. Обычно эти материалы содержат как измерения плотности культуры (число клеток,

биомасса, оптическая плотность), так и содержания пигментов в клетках микроводорослей (хлорофилла *a*, фикобилипротеинов и т. д.). Анализ такого рода данных представляет собой сложную задачу, т. к. относительное содержание пигментов в клетке или биомассе является не только не постоянной величиной и может изменяться в десятки раз, но и характеризуется значительной нелинейностью в процессе роста культуры [14].

*D. salina* является классическим модельным объектом для изучения вторичного каротиногенеза у зелёных микроводорослей. С другой стороны, это один из немногих видов, введённых в промышленную культуру, именно благодаря способности накапливать значительные количества  $\beta$ -каротина под воздействием стрессовых факторов [3, 4, 6]. На сегодняшний день отсутствуют количественные прогностические модели динамики пигментов микроводоросли *D. salina* на этапе стресс-индуцированного синтеза  $\beta$ -каротина. Это затрудняет проведение оценки потенциально возможной продукции  $\beta$ -каротина культурой *D. salina*. Поэтому проблемы моделирования содержания и продукции пигментов клетками дуналиеллы соленоводной требуют дополнительных исследований.

Цель работы – на основе предложенной обобщённой схемы разработать модель, описывающую динамику изменения содержания пигментов *D. salina* на стадии каротиногенеза.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на базе отдела Биотехнологий и фиторесурсов ФГБУН ИМБИ, г. Севастополь, Россия (44°36'54.6"N 33°30'11.7"E). Культуру микроводоросли *Dunaliella salina* Teodoresco (штамм IMBR-2 из ЦКП "Коллекция гидробионтов Мирового океана" ФГБУН ИМБИ) выращивали на модифицированной питательной среде по [15]. Модификация заключалась в добавлении морской соли (ПК «Галит», Крым) до концентрации 120 г/дм<sup>3</sup>. В лабораторных условиях *D. salina* культивировали в стеклянных фотобиореакторах плоскопараллельного типа с рабочей толщиной 5 см в накопительном режиме. Температуру поддерживали на уровне 27–29°C, pH среды – 7–8 единиц. В процессе выращивания культура снабжалась газо-воздушной смесью с концентрацией углекислоты 3 % по объёму. На первом этапе освещённость рабочей поверхности культиваторов составляла 80 Вт/м<sup>2</sup>. После достижения культурой стадии замедления роста, она была разбавлена в 3 раза средой без добавления солей азота и фосфора, а освещённость культиваторов повышена до 250 Вт/м<sup>2</sup>.

В полупромышленных условиях культуру *D. salina* выращивали в условиях естественного освещения и температуры (июнь-июль 2018 г.) в тепличном модуле. Культиваторами служили квадратные бассейны (1 × 1 м), застеленные полиэтиленовой пленкой, уложенной на выровненную поверхность грунта. Перемешивание осуществляли с помощью аквариумной помпы «Atman AT-201» (Chuangxing Electrical Appliances Co., Ltd, China). На первом этапе культуру *D. salina* выращивали накопительным способом ("зелёная" стадия). На стационарной фазе дуналиеллу разбавляли в 2 раза свежей средой без источников азота и фосфора ("красная" стадия).

Рост культуры регистрировали фотометрическим методом. Величину оптической плотности суспензии в области 750 нм измеряли на фотометре Unico 2100 (United Products & Instruments, USA) в кюветах с рабочей длиной 0.5 см; абсолютная погрешность не превышала 1 %. Переход от единиц оптической плотности ( $D_{750}$ ) к величине сухого веса биомассы ( $DW$ ), осуществляли посредством пересчёта по формуле:

$$DW = k \times D_{750},$$

где  $DW$  – сухой вес биомассы;  $D_{750}$  – оптическая плотность культуры;  $k$  – коэффициент пересчета. Эмпирический коэффициент  $k = 0.78 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot (\text{ед. опт. пл})^{-1}$  был определен предварительно.

Количественное определение содержания пигментов проводили спектрофотометрическим методом [16]. Хлорофиллы (Хл) и каротиноиды (Кар) экстрагировали из клеток 100 % ацетоном (х.ч., АО «ЭКОС-1», Россия). Спектры экстрактов пигментов регистрировали на спектрофотометре СФ-2000 (ООО «ОКБ СПЕКТР», Санкт-Петербург, Россия) в диапазоне длин волн 400–800 нм с шагом 0.1 нм. Расчёт концентраций пигментов проводили по формулам, предложенным в работе [17], по значениям оптической плотности на длинах волн, соответствующих максимумам поглощения соответствующих пигментов.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью стандартных программных пакетов Microsoft Excel. Определение коэффициентов уравнений проводили путём аппроксимации экспериментальных результатов в программе Grapher.

## МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Рассмотрим случай деструктивного распада пигментов в культуре *D. salina*, например, хлорофилла *a*, под действием света при отсутствии минерального азота. В таких условиях скорость синтеза хлорофилла *a* равна нулю, либо пренебрежимо мала по сравнению со скоростью фотодеструкции. Из фотоокисленного состояния пигмент может перейти либо в нормальное состояние (восстанавливается), либо необратимо разрушается.

Скорость изменения концентрации пигмента в культуре будет определяться скоростями фотодеструкции, восстановления и необратимого распада:

$$\frac{d\pi}{dt} = -\frac{d\pi_d}{dt} + \frac{d\pi_r}{dt} - \frac{d\pi_n}{dt}.$$

### Модель 1. Фотодеструкция без восстановления

Скорость фотодеструкции зависит от интенсивности действующего света и пропорциональна количеству поглощённой энергии [14]:

$$\frac{d\pi_d}{dt} = k_1 \cdot \alpha \cdot I_0,$$

где  $k_1$  – коэффициент, показывающий долю квантов в общем световом потоке, которые вызывают фотодеструкцию;  $\alpha$  – коэффициент поглощения культуры микроводорослей, определяемый по формуле:

$$\alpha = 1 - 10^{-k_2 \cdot \pi},$$

где  $k_2$  – коэффициент пропорциональности, зависящий от спектральных свойств источника света и суспензии микроводорослей.

Таким образом, коэффициент поглощения зависит от концентрации пигмента в культуре. При высокой плотности культуры свет поглощается практически полностью, коэффициент поглощения равен единице. Стадия каротиногенеза зелёных водорослей характеризуется значительным ростом как содержания вторичных каротиноидов, так и соотношения каротиноидов и хлорофилла *a*. Следовательно, концентрация хлорофилла *a* на этом этапе снижается по сравнению со стадией активного роста культуры. В клетках *D. salina*, находящейся на «красной» стадии, содержание хлорофилла *a* в 5 раз ниже максимальных значений, отмеченных для этого вида, и в 10 раз меньше, чем для других видов зелёных микроводорослей [11]. Для упрощения математических расчётов

можно считать, что коэффициент поглощения прямо пропорционален наблюдаемой концентрации пигмента:

$$\alpha \cong k_2 \cdot \pi.$$

Скорость распада пигмента за счёт фотодеструкции в культурах низкой плотности можно записать в следующем виде:

$$\begin{aligned} \frac{d\pi_d}{dt} &= k_1 \cdot k_2 \cdot I_0 \cdot \pi = K \cdot I_0 \cdot \pi = \mu_i \cdot \pi, \\ K &= k_1 \cdot k_2, \\ \mu_i &= K \cdot I_0. \end{aligned}$$

С учётом последнего выражения скорость изменения концентрации пигмента имеет вид:

$$\frac{d\pi}{dt} = -\mu_i \cdot \pi.$$

Считая  $\mu_i$  величиной постоянной, при заданных начальных условиях: в начальный момент времени концентрация пигмента равна  $\pi_0$ , получим:

$$\pi = \pi_0 \cdot e^{-\mu_i \cdot t} \quad (1)$$

Уравнение (1) показывает, что концентрация хлорофилла *a* на второй "красной" стадии выращивания *D. salina* экспоненциально снижается. Аппроксимация экспериментальных данных уравнением (1) позволит определить удельную скорость фотодеструкции для данных световых условий.

## Модель 2. Фотодеструкция с последующим восстановлением

Наиболее вероятным вариантом объяснения фотодеструктивного окисления пигментов представляется механизм, предполагающий процесс последующего восстановления в течение некоторого времени [14]. Если  $\mu_r$  – интенсивность процесса, то скорость восстановления можно записать в виде:

$$\frac{d\pi_r}{dt} = \mu_r \cdot \pi_d.$$

Аналогично для необратимого распада:

$$\frac{d\pi_\pi}{dt} = \mu_\pi \cdot \pi_d.$$

где  $\mu_\pi$  – удельная скорость необратимого распада.

Теперь скорость изменения концентрации пигмента в культуре можно записать в виде:

$$\begin{cases} \frac{d\pi}{dt} = -\mu_i \cdot \pi + \mu_r \cdot \pi_d - \mu_\pi \cdot \pi_d, \\ \frac{d\pi_d}{dt} = \mu_i \cdot \pi \end{cases}$$

Решение полученной системы дифференциальных уравнений имеет вид:

$$\pi(t) = C_1 \cdot e^{-\frac{1}{2}(\sqrt{\mu_i^2 + 4\mu_r\mu_\pi + \mu_i})t} + C_2 \cdot e^{\frac{1}{2}(\sqrt{\mu_i^2 + 4\mu_r\mu_\pi - \mu_i})t},$$

$$\pi(t) = C_1 \cdot e^{-\frac{1}{2}(a+\mu_i)t} + C_2 \cdot e^{-\frac{1}{2}(a-\mu_i)t}.$$

где  $\mu_{r\pi} = \mu_r - \mu_\pi$ ,  $a = \sqrt{\mu_i^2 + 4 \cdot \mu_{r\pi} \cdot \mu_i}$  – обобщённые коэффициенты.

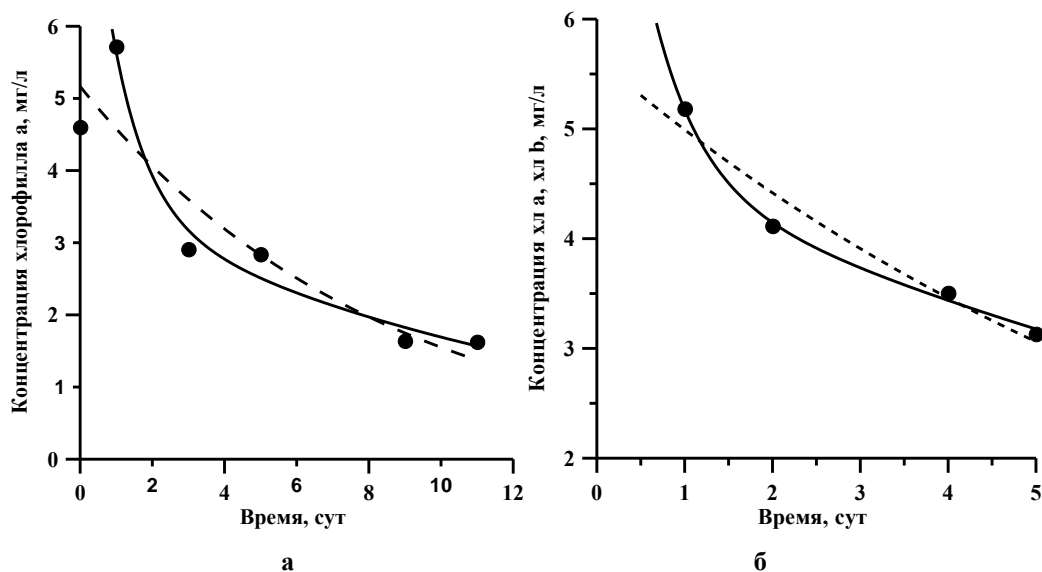
Взаимосвязь констант интегрирования можно определить из начальных условий  $t = 0$ ,  $\pi = \pi_0$ :

$$\pi_0 = C_1 + C_2.$$

Окончательно имеем:

$$\pi(t) = C_1 \cdot e^{-\frac{1}{2}(a+\mu_i)t} + (\pi_0 - C_1) \cdot e^{-\frac{1}{2}(a-\mu_i)t}. \quad (2)$$

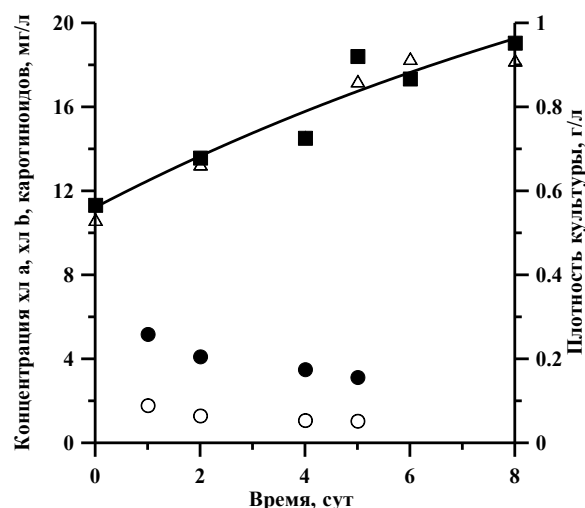
Верификация полученных уравнений (1) и (2) представлена на рисунке 1. Отметим, что обе модели описывают снижение концентрации хлорофилла  $a$  во второй стадии выращивания *D. salina*. Однако модель с восстановлением по (2) аппроксимирует экспериментальные данные с большей точностью ( $R^2 = 0.99$ ), по сравнению с более простым уравнением (1) ( $R^2 = 0.83$ ). Это позволяет сделать вывод, что вторая модель, учитывающая частичное восстановление пигментов, является более предпочтительной. Однако для прогностических оценок на практике возможно применение модели (1), которая позволяет легко определить параметр удельной скорости фотодеструкции. Для приведённых экспериментальных данных в обоих случаях (рис. 1,а и 1,б) эта величина составила около  $0.12 \text{ сут}^{-1}$ . Равенство  $\mu_i$  свидетельствует о близости световых условий, в которых находятся клетки, а также позволяет поставить вопрос о видоспецифичности данного коэффициента.



**Рис. 1.** Динамика концентрации хлорофилла  $a$  в культуре *D. salina* при её выращивании в лабораторных условиях (а) и второй ("красной") стадии (б). Пунктирная линия – аппроксимация уравнением (1). Линия – аппроксимация уравнением (2).

### Модель 3. Накопление вторичных каротиноидов

Рассмотрим процесс синтеза вторичных каротиноидов при лимитирования роста *D. salina* биогенными элементами питательной среды и избытке солнечной энергии. В таких условиях фотобиосинтез клеток направлен в сторону увеличения содержания резервных липидов, углеводов, а также каротиноидов [18, 19]. На рисунке 2 представлены данные по динамике содержания хлорофиллов, суммарных каротиноидов и плотности культуры. Параллельно с процессами фотовыцветания хлорофиллов, наблюдался рост биомассы *D. salina* и накопление каротиноидов в клетках.



**Рис. 2.** Динамика содержания хлорофилла *a* (●), хлорофилла *b* (○) каротиноидов (Δ) и плотности культуры (■) *Dunaliella salina* на второй ("красной") стадии выращивания. Линия – аппроксимация данных динамики плотности культуры уравнением (3).

Рост плотности культуры сопровождался делением клеток в течение первых пяти суток эксперимента. Далее наблюдалась стабилизация плотности культуры, при этом численность клеток не менялась. Так как в питательную среду на второй ("красной") стадии выращивания не вносили биогенных элементов, то рост плотности культуры можно объяснить использованием внутриклеточных запасов, либо возвратом субстрата из распавшейся биомассы [14, 20]. Динамика биомассы микроводорослей как в первом, так и во втором случае описывается экспоненциальным уравнением:

$$B = B_m - (B_m - B_0) \cdot e^{-b \cdot t} \quad (3)$$

где  $b$  – константа, которая определяется потребностью клеток в лимитирующем субстрате и удельной скоростью синтеза структуры.

К окончанию первой "зелёной" стадии выращивания в клетках *D. salina* образуются липидные гранулы, которые локализованы в цитоплазме, содержат ярко-оранжевые вкрапления вторичных каротиноидов. Во время нахождения клеток *D. salina* на второй "красной" стадии количество вторичных каротиноидов значительно увеличивается, что свидетельствует о накоплении клетками резервных веществ. Этот процесс интенсифицируется на фоне отсутствия источников азота во внешней среде. Биомассу *D. salina* можно условно разделить на две составляющие: структурную  $B_{str}$  и резервную часть  $B_{res}$ . К структурной части отнесём белки, липиды, углеводы и др. компоненты, которые непосредственно входят в состав клеточных органелл, либо, как ферменты, участвуют в биосинтетических реакциях. Резервная часть биомассы представлена липидами, углеводами, которые могут накапливаться в клетках при тех или иных условиях. Таким образом, уравнение (3) описывает динамику роста структурных клеточных компонентов и, как следствие, рост численности клеток. В свою очередь скорость синтеза вторичных каротиноидов, которые не относятся к структуре, будет определяться количеством поглощённой световой энергии. Так как на второй стадии культура *D. salina* находится в условиях избытка света, скорость образования вторичных каротиноидов будет ограничена только количеством ключевого ферментного комплекса  $F$ , который участвует в их синтезе и скоростью его оборота (активностью  $\mu_F$ ):

$$\frac{d\pi_s^{car}}{dt} = \mu_F \cdot F.$$

Считая долю ферментного комплекса  $F$  в структурной части биомассы постоянной и равной  $f$ , скорость синтеза вторичных каротиноидов будет прямо пропорциональна  $B_{str}$ :

$$\frac{d\pi_s^{car}}{dt} = \mu_F \cdot f \cdot B_{str} = \mu_f \cdot B_{str}.$$

Под действием света часть вторичных каротиноидов будет разрушаться, причём скорость деструкции, как и в предыдущих случаях, прямо пропорциональна поглощённой световой энергии или количеству самих пигментов:

$$\frac{d\pi_d^{car}}{dt} = \mu_i \cdot \pi^{car}.$$

Таким образом, простейшая модель накопления вторичных каротиноидов на "красной" стадии выращивания *D. salina* в дифференциальной форме имеет вид:

$$\begin{aligned} \frac{d\pi^{car}}{dt} &= \mu_f \cdot B_{str} - \mu_i \cdot \pi^{car}, \\ \frac{d\pi^{car}}{dt} + \mu_i \cdot \pi^{car} &= \mu_f \cdot (B_m - (B_m - B_0) \cdot e^{-bt}). \end{aligned}$$

Решение последнего уравнения может быть записано в виде:

$$\pi^{car} = C \cdot e^{-\mu_i t} + \frac{\mu_f \cdot B_m}{\mu_i} - \frac{\mu_f \cdot (B_m - B_0)}{\mu_i - b} \cdot e^{-bt}.$$

Для определения константы интегрирования рассмотрим начальное условие: при  $t = 0$ ,  $\pi^{car} = \pi_0^{car}$ :

$$\begin{aligned} \pi_0^{car} &= C + \frac{\mu_f \cdot B_m}{\mu_i} - \frac{\mu_f \cdot (B_m - B_0)}{\mu_i - b}, \\ C &= \pi_0^{car} + \frac{\mu_f \cdot (B_m - B_0)}{\mu_i - b} - \frac{\mu_f \cdot B_m}{\mu_i} \end{aligned}$$

Граничное условие: при  $t \rightarrow \infty$ ,  $\pi^{car} = \pi_m^{car}$ :

$$\pi_m^{car} = \frac{\mu_f \cdot B_m}{\mu_i}.$$

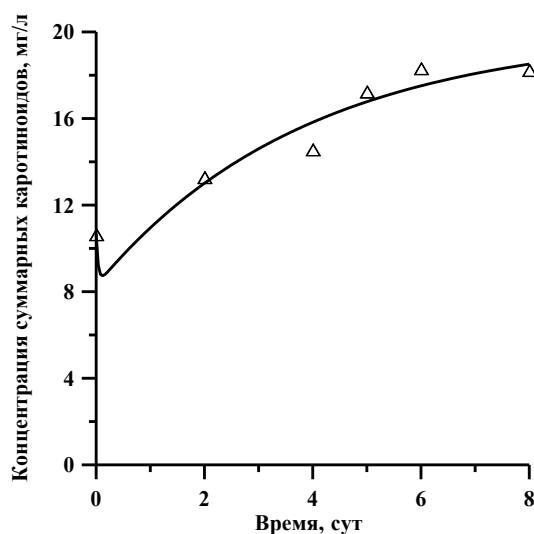
С учётом определённых констант, окончательно динамика содержания вторичных каротиноидов во второй стадии выращивания *D. salina* имеет вид:

$$\pi^{car} = \pi_m^{car} - \left( \pi_m^{car} - \pi_0^{car} + \frac{\mu_f \cdot (B_m - B_0)}{\mu_i - b} \right) \cdot e^{-\mu_i t} - \frac{\mu_f \cdot (B_m - B_0)}{\mu_i - b} \cdot e^{-bt}. \quad (4)$$

На рисунке 3 представлена верификация полученного уравнения. Отметим, что модель позволяет описать явление "ложного старта": при переносе клеток микроводорослей с низкой на высокую освещённость происходит резкое падение содержания пигментов в клетках, при этом биомасса в целом увеличивается [14]. С целью интенсификации вторичного каротиногенеза при запуске второй стадии выращивания *D. salina* культура сильно разбавляется, что приводит к значительному повышению энергии ФАР на клетку. Однако полученные экспериментальные данные не позволяют достоверно подтвердить явление "ложного старта" концентрации



вторичных каротиноидов в данных условиях, что обуславливает необходимость дальнейших исследований в этой области.



**Рис. 3.** Динамика содержания суммарных каротиноидов в культуре *D. salina* на второй ("красной") стадии выращивания. Линия – аппроксимация данных уравнением (4).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе впервые предложены математические модели динамики пигментов в клетках *D. salina* на стадии каротиногенеза. Предлагаемые модели фотодеструкции хлорофиллов и накопления вторичных каротиноидов могут быть использованы для прогнозирования динамики содержания пигментов при выращивании *D. salina* на второй "красной" стадии при заданной внешней освещённости и известных значениях видоспецифичных коэффициентов. Следует отметить, что при использовании данных моделей необходимо соблюдать условие отсутствия светового лимитирования. В противном случае возможны отклонения экспериментальных данных от теоретических кривых (1–4), которые связаны с наличием ограничения скорости синтеза вторичных каротиноидов. Концентрация вторичных каротиноидов увеличивается до максимального значения, которое определяется соотношением удельных скоростей синтеза и фотодеструкции, а также максимальной плотностью культуры. Высокое соответствие теоретических и экспериментальных данных позволяет сделать вывод о том, что именно механизм фотодеструктивного окисления хлорофиллов с возможностью их последующего восстановления является наиболее вероятным.

Экспериментально показано, что при полупромышленном выращивании *D. salina* на второй "красной" стадии максимальная концентрация вторичных каротиноидов достигла 18.33 мг/л. Общее содержание каротиноидов в бассейне составило в этот период 0.73 г/м<sup>2</sup>. Особенностью направленности вторичного каротиногенеза *D. salina* является синтез именно β-каротина. Другие виды зелёных микроводорослей под воздействием стрессовых факторов могут накапливать астаксантин, кантаксантин, лютеин и пр. [18]. Поскольку предложенный модельный подход основан на общих закономерностях биосинтеза и фотодеструкции пигментов, то полученные уравнения (1–4) могут быть применимы и для других продуцентов вторичных каротиноидов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и города Севастополь в рамках научного проекта № 18-44-920009 (экспериментальные работы) и по теме НИР ФГБУН ИМБИ № 0828-2018-0004 (теоретические расчёты).

## 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.* 2018. V. 30. № 2. P. 783–792. 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.* 2018. V. 30. № 1. P. 261–270. doi: [10.1007/s10811-017-1252-x](https://doi.org/10.1007/s10811-017-1252-x).
3. Lamers P.P., Janssen M., De Vos R.C., Bino R.J., Wijffels R.H. Carotenoid and fatty acid metabolism in nitrogen-starved *Dunaliella salina*, a unicellular green microalga. *J. Biotechnol.* 2012. V. 162. № 1. P. 21–27. doi: [10.1016/j.jbiotec.2012.04.018](https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.04.018).
4. Lv H., Cui X., Wahid F., Xia F., Zhong C. Jia S. Analysis of the physiological and molecular responses of *Dunaliella salina* to macronutrient deprivation. *PLoS ONE*. 2016. V. 11. № 3. Article No. e0152226. doi: [10.1371/journal.pone.0152226](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152226).
5. Minhas A. K., Hodgson P., Barrow C. J., Adholeya A. A review on the assessment of stress conditions for simultaneous production of microalgal lipids and carotenoids. *Frontiers in Microbiology*. 2016. V. 7. P. 546. doi: [10.3389%2Ffmicb.2016.00546](https://doi.org/10.3389%2Ffmicb.2016.00546).
6. Ben-Amotz A., Shaish A., Avron M. Mode of action of the massively accumulated  $\beta$ -carotene of *Dunaliella bardawil* in protecting the algae against damage by excess irradiation. *Plant. Physiol.* 1989. V. 91. № 3. P. 1040–1043.
7. Cloern J. E., Grenz C., Vidergar-Lucas L. An empirical model of the phytoplankton chlorophyll:carbon ratio – the conversation between productivity and growth. *Limnol. Oceanogr.* 1995. V. 40. № 7. P. 1310–1321. doi: [10.4319/lo.1995.40.7.1313](https://doi.org/10.4319/lo.1995.40.7.1313).
8. Finenko Z.Z., Hoepffner N., Williams R., Piontkovski, S.A. Phytoplankton carbon to chlorophyll a ratio: response to light, temperature and nutrient limitation. *Морской экологический журнал*. 2003. Т. 2. № 2. С. 40–64.
9. Geider R.J. Light and temperature dependence of the carbon to chlorophyll a ratio in microalgae and cyanobacteria: implications for physiology and growth of phytoplankton. *New Phytol.* 1987. V. 106. № 1. P. 1–34. doi: [10.1111/j.1469-8137.1987.tb04788.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1987.tb04788.x).
10. Тренкеншу Р.П. *Кинетика субстратзависимых реакций при различной организации метаболических систем*. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2005. 89 с.
11. Боровков А.Б. Математическая модель светозависимого содержания пигментов в клетках микроводорослей для стационарного динамического равновесия хемостатной культуры. *Экология моря*. 2010. Спец. вып. 80: Биотехнология водорослей. С. 17–24.
12. Nelson J.R. Rates and possible mechanism of light-dependent degradation of pigments in detritus derived from phytoplankton. *J. Mar. Res.* 1993. V. 51. № 1. P. 155–179.
13. Рубин А.Б. *Биофизика*: в 2 т. Т. 1. М.: Мир, 2002. 448 с.
14. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С. *Моделирование роста микроводорослей в культуре*. Севастополь: ООО «Константа», 2017. 152 с.
15. Shaish A., Avron M., Ben-Amotz A. Effect of inhibitors on the formation of stereoisomers in the biosynthesis of  $\beta$ -carotene in *Dunaliella bardawil*. *Plant. Cell. Physiol.* 1990. V. 31. № 5. P. 689–696.
16. *Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике*. К.: Наукова думка, 1975. 247 с.
17. Wellburn A.R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Phys.* 1994. V. 144. P. 307–313. doi: [10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2).

18. Соловченко А.Е. Физиология и адаптивное значение вторичного каротиногенеза у зелёных микроводорослей. *Физиология растений*. 2013. Т. 60. № 1. С. 3–16.
19. Solovchenko A.E., Selivanova E.A., Chekanov K.A., Sidorov R.A., Nemtseva N.V., Lobakova E.S. Induction of secondary carotenogenesis in new halophile microalgae from the genus *Dunaliella* (Chlorophyceae). *Biochemistry (Moscow)*. 2015. V. 80. № 11. P. 1508–1513. doi: [10.1134/S0006297915110139](https://doi.org/10.1134/S0006297915110139).
20. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С. Моделирование динамики азотистых соединений в клетках микроводорослей. 1. Накопительная культура. *Мат. биол. и биоинф.* 2018. Т. 13. № 2. С. 348–359. doi: [10.17537/2018.13.348](https://doi.org/10.17537/2018.13.348).

Рукопись поступила в редакцию 08.02.2019, переработанный вариант поступил 13.05.2019.  
Дата опубликования 29.05.2019.