

Динамика макромолекулярного состава культуры микроводорослей в условиях естественного освещения. Модель

Лелеков А.С., Ширяев А.В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей
имени А.О. Ковалевского РАН», Севастополь, Россия*

a.lelekov@yandex.ru

Работа посвящена моделированию роста оптически плотной культуры микроводорослей в условиях естественного освещения. Показана возможность применения линейных сплайнов при моделировании суточного изменения притока солнечной радиации, что позволяет получить аналитические выражения динамики биомассы и её макромолекулярных составляющих. В основе базовой модели лежит представление о двухстадийности фотоавтотрофного роста микроводорослей. Биомасса микроводорослей рассматривается как сумма двух макромолекулярных составляющих – структурной и резервной. Предполагается пропорциональность всех структурных компонентов биомассы, что значительно упрощает математические выкладки и верификацию модели. В качестве начальных условий положено, что на момент восхода солнца концентрация резервных составляющих близка к нулю. Результаты моделирования показывают, что после восхода солнца рост культуры микроводорослей обусловлен только увеличением резервной части биомассы. Доля структуры уменьшается с течением времени, что свидетельствует о происходящих в клетках микроводорослей изменениях соотношений биохимических составляющих. После полудня происходят обратные процессы, обусловленные снижением притока световой энергии.

Ключевые слова: микроводоросли; моделирование; солнечный свет; линейные сплайны.

Dynamics of the macromolecular composition of microalgae culture in natural light conditions. Model

Lelekov A.S., Shiryaev A.V.

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russia

The work focuses on mathematical modeling of light influence mechanisms on macromolecular composition of microalgae batch culture in natural light conditions. The possibility of using linear splines in modeling the daily change in the influx of solar radiation is shown. Analytical expressions for the dynamics of biomass and its macromolecular components were received. Microalgae biomass can be considered as the sum of two macromolecular components – structural and reserve. The basic model is based on the idea of a two-stage photoautotrophic growth of microalgae. Model also assumes the proportionality of all biomass structural components which greatly simplifies mathematical calculations and experimental data fitting. As initial conditions, it is assumed that at the sunrise the concentration of reserve components is equal to zero. The simulation results show that after sunrise, the growth of the microalgae culture is due only to an increase in the reserve part of the biomass. The proportion of the structure decreases with time, which indicates changes in the ratios of biochemical components occurring in microalgae cells. In the afternoon, reverse processes occur due to a decrease in the influx of light energy.

Key words: microalgae; modeling; sunlight; linear splines.

1. Введение

В условиях естественного освещения периодически изменяющиеся световые условия оказывают существенное влияние на скорость фото- и биосинтеза микроводорослей. В течение светового периода происходит накопление полисахаридов и липидов, а в ходе темнового – падение их

содержания. Например, по данным [1], при культивировании цианопрокариоты *A. platensis* в открытых бассейнах при естественном освещении за ночь происходило уменьшение количества углеводов и липидов на 50 и 9 % соответственно, сопряжённое с увеличением содержания белка на 6 % и началом митотического деления клеток. В начале светового периода в первые часы освещения

для многих видов микроводорослей отмечается быстрый рост первичных продуктов фотосинтеза, при этом накопление белка не происходит [2]. Относительное содержание биохимических компонентов биомассы может изменяться в десятки раз и характеризуется сильной нелинейностью даже при постоянном освещении. Такие переходные процессы могут характеризоваться «ложным стартом» даже при полном минеральном обеспечении клеток, что говорит об определяющем влиянии световых условий не только на скорость роста, но и на биохимический состав биомассы.

Моделирование роста культуры микроводорослей в условиях естественного освещения подразумевает учёт периодически изменяющейся интенсивности света. Для оценки энергии ФАР обычно используется идеализированное выражение, предложенное для поверхности озёр и океана [3]:

$$I = \frac{I_{\max}}{2} \cdot \left(1 + \cos \left(2\pi \frac{(t - t_{\max})}{t_{\text{light}}} \right) \right), \quad (1)$$

где I – интенсивность солнечного света, I_{\max} – максимальное значение интенсивности, наблюдаемое в момент времени t_{\max} , t_{light} – продолжительность светового дня.

В промышленных масштабах микроводоросли, как правило, выращивают в открытых или закрытых фотобиореакторах под открытым небом, что обуславливает суточную ритмику роста и биосинтеза. Как следствие, большинство работ в этой области носят прикладной биотехнологический характер [4, 5]. Небольшое количество теоретических работ в этой области обусловлено сложностью математического аппарата. Существующие математические модели роста микроводорослей основаны на классических представлениях ферментативной кинетики [6–8] и не позволяют учесть возможную смену лимитирующего фактора в процессе увеличения плотности культуры. Предложенная ранее двухкомпонентная модель роста фотоавтотрофных микроорганизмов [9] описывает динамику биомассы микроводорослей и её макромолекулярных составляющих в условиях плотнотата, т. е. для культур невысокой оптической плотности при постоянном освещении. В условиях естественного освещения микроводоросли выращивают в бассейнах с большой толщиной рабочего слоя культуры, что приводит к практически полному светопоглощению. Целью данной работы являлось моделирование биохимической адаптации культуры микроводорослей в течение светового дня.

2. Обобщённая двухкомпонентная модель роста микроводорослей

В основе модели положено предположение о двухстадийности фотоавтотрофного роста. Первой

стадией является собственно фотосинтез, в результате которого за счёт световой энергии образуются простейшие углеводы. Эти углеводы не являются структурными компонентами клеток, а представляют собой энергетический и углеродный резерв для всех последующих метаболических реакций. На второй стадии происходит биосинтез клеточных структур за счёт энергии, выделяющейся при окислении фотосинтетических углеводов. Биомассу микроводорослей можно рассматривать в виде суммы двух органических форм – структурной (B_{str}) и резервной (B_{res}). В общем случае, в отсутствие лимитирования по биогенным элементам питательной среды, система уравнений, описывающая динамику трансформации структурных и резервных форм биомассы микроводорослей, имеет вид:

$$\begin{cases} \frac{dB_{\text{str}}}{dt} = \frac{q_{\text{rs}} \mu_{\text{mrs}} B_{\text{str}}}{\varepsilon_{\text{sat}}} \begin{cases} \varepsilon, \varepsilon < \varepsilon_{\text{sat}} \\ \varepsilon_{\text{sat}}, \varepsilon \geq \varepsilon_{\text{sat}} \end{cases} - \mu_r B_{\text{str}} \\ \frac{dB_{\text{res}}}{dt} = \mu_m B_{\text{str}} \begin{cases} \lambda_i, \lambda_i < 1 \\ 1, \lambda_i \geq 1 \end{cases} - \frac{\mu_{\text{mrs}} B_{\text{str}}}{\varepsilon_{\text{sat}}} \begin{cases} \varepsilon, \varepsilon < \varepsilon_{\text{sat}} \\ \varepsilon_{\text{sat}}, \varepsilon \geq \varepsilon_{\text{sat}} \end{cases} \end{cases}, \quad (2)$$

где B_{str} , B_{res} – структурная и резервная компоненты биомассы, $\text{г} \cdot \text{м}^{-2}$; μ_m – максимальная удельная скорость фотосинтеза, сут^{-1} ; λ_i – приведённая плотность потока квантов света; ε , ε_{sat} – соотношение и насыщающее соотношение резервная / структурная биомасса; μ_{mrs} – максимальная удельная скорость преобразования резервной биомассы в структурную, сут^{-1} ; q_{rs} – эффективность перехода резервной биомассы в структурную; μ_r – удельная скорость распада структуры, сут^{-1} .

Приведённая плотность потока квантов света показывает количество энергии ФАР, поглощённой культурой, приходящейся на единицу ключевого мультиферментного комплекса, ограничивающего скорость фотосинтеза:

$$\lambda_i = \frac{\varphi_e \cdot I_n}{\mu_e \cdot F_0}, \quad (3)$$

где I_n – поток фотосинтетически активной радиации (ФАР), поглощаемой культурой, $\text{Дж} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$; φ_e – количество макроэргов, восстанавливающихся за счёт единицы энергии ФАР, $\text{мг} \cdot \text{Дж}^{-1}$; μ_e – активность мультиферментного комплекса, регулирующего энергообмен в клетке, с^{-1} ; F_0 – его поверхностная концентрация, $\text{мг} \cdot \text{м}^{-2}$.

В выражении (2) скорость синтеза резервных форм биомассы заданы линейными сплайнами и выражены через приведённую плотность потока энергетического квантов света λ_i . Скорость синтеза структурных форм определяется приведённым потоком резервной биомассы, который выражен через биохимически измеряемое соотношение ε [10]:

$$\varepsilon = \frac{B_{\text{res}}}{B_{\text{str}}}. \quad (4)$$

Можно считать, что все структурные составляющие биомассы микроводорослей пропорциональны друг другу. В литературе приводятся данные о постоянстве соотношения Хл / П₇₀₀ [11] и Хл / белок [12] в любой стадии роста накопительной культуры. Это означает, что любой компонент структуры можно выразить через коэффициент, характеризующий его содержание в структурной биомассе:

$$F_0 = f \cdot B_{\text{str}},$$

где f – доля ключевого мультиферментного комплекса в структурной биомассе.

3. Применение линейных сплайнов при моделировании инсоляции

Подставляя выражение (1), описывающее изменение интенсивности солнечного света в течение дня, в (2), возможно получить только численные решения, описывающие динамику макромолекулярного состава в условиях естественного освещения. Кроме того, использование (1) вызывает множество вопросов. Например, формула (1) не учитывает то, что при низких значениях облучённости (за границей "компенсационного пункта" фотосинтеза) процессы дыхания преобладают над синтезом биомассы, что выражается в отсутствии роста плотности культуры. С другой стороны, в полуденные часы величина солнечной облучённости может достигать величин, значительно превышающих насыщающие значения, при которых скорость роста микроводорослей максимальна. С ростом интенсивности солнечного света может происходить смена светового ограничения скорости фотобиосинтеза на лимитирование ферментативными процессами синтеза структурных компонентов биомассы клеток из резервных. Подобные процессы графически отображаются изломами кривой роста. С учётом вышесказанного, при математическом описании суточной динамики облучённости возникает необходимость в отказе от использования идеализированной формулы (1) в пользу линейных аппроксимаций. В качестве примера, рассмотрим день летнего солнцестояния. Для наших условий (г. Севастополь, 44°35' N, 33°30' E) 21 июня максимальная высота составляет около 68 градусов, долгота дня – 15 часов, приток энергии ФАР достигает максимума в 13:00 – 13:30 и равняется примерно 390 Вт/м² по данным среднесезонных наблюдений [13]. Разделим кривую зависимости интенсивности солнечного света от времени суток на три участка: участок роста облучённости (с 6 до 12 часов), участок максимальной облучённости (с 12 до 14 часов) и участок снижения облучённости (с 14 до 20 часов). Проведем аппроксимацию каждого участка линейными уравнениями. Результаты представлены на рисунке 1. Зависимость

интенсивности солнечного света от времени суток с высокой точностью ($R^2 = 0.99$) описывается системой:

$$\frac{I}{I_{\text{max}}} = \begin{cases} 0.17 \cdot (t - 6.5), & 6.5 \leq t \leq 12; \\ 0.99, & 12 \leq t \leq 14; \\ 0.99 - 0.17 \cdot (t - 14), & 14 \leq t \leq 20. \end{cases}, \quad (5)$$

В качестве дополнительных критериев точности описания можно рассмотреть параметры площади под кривыми и разность между выражениями (1) и (5). Площадь под кривой (1), найденная как интеграл в пределах от 6 до 20 часов, составляет 7.5. Аналогичные расчёты для (5) дают значение 7.59. На рисунке 1 представлен график отклонения линейных сплайнов (5) от идеализированной модели (1), относительное отклонение не превышает $\pm 5\%$.

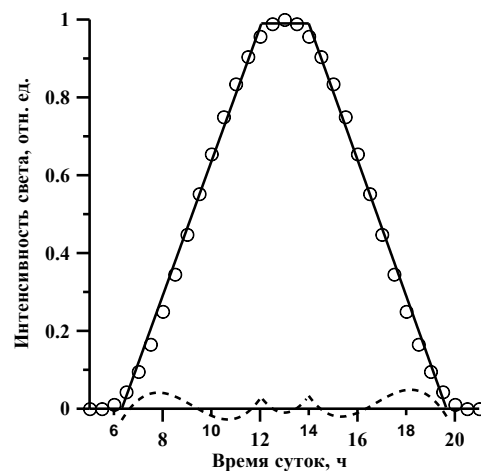


Рис. 1. Зависимость нормированной интенсивности солнечного света от времени суток. Маркеры – идеализированная кривая (1). Линия – аппроксимация данных линейными сплайнами ($R^2 = 0.99$). Пунктирная линия – относительное отклонение линейных сплайнов (5) от идеализированной модели (1).

4. Моделирование роста культуры микроводорослей в течение светового дня

Количество поглощённой световой энергии связано с поверхностной облучённостью I и интегральным по всему диапазону ФАР коэффициентом поглощения света α :

$$I_n = \alpha \cdot I.$$

При работе с высокими концентрациями клеток или при большой толщине рабочего слоя культуры, что характерно при выращивании микроводорослей в горизонтальных бассейнах в условиях естественного освещения, практически вся падающая световая энергия поглощается, т. е. $\alpha = 1$. Для рассматриваемого случая полного поглощения система (2) запишется следующим образом:

$$\begin{cases} \frac{dB_{str}}{dt} = \frac{q_{rs}\mu_{mrs}}{\varepsilon_{sat}} B_{res} - \mu_r B_{str} \\ \frac{dB_{res}}{dt} = \frac{\mu_m \cdot \varphi_e}{\mu_e \cdot f} \cdot I - \frac{\mu_{mrs}}{\varepsilon_{sat}} B_{res} \end{cases} \quad (6)$$

Будем считать, что к моменту восхода солнца все резервные составляющие биомассы исчерпаны: $B_{res} = 0$, что подтверждается литературными данными [1]. С учётом (5) решения системы (6) для временного промежутка от 6:30 до 12 имеют следующий вид:

$$\begin{cases} B_{res} = C_1 e^{-\frac{\mu_{mrs} t}{\varepsilon_{sat}}} + 0.17 \cdot I_{max} \frac{\varphi_e \mu_m \varepsilon_{sat}}{\mu_e \mu_{mrs}^2} ((t-6.32)\mu_{mrs} - \varepsilon_{sat}) \\ B_{str} = \frac{C_1 \mu_{mrs} q_{rs}}{\mu_r \varepsilon_{sat} - \mu_{mrs}} e^{-\frac{\mu_{mrs} t}{\varepsilon_{sat}}} + C_2 e^{-\mu_r t} + a_1 (t-6.32) - a_2 \end{cases}$$

$$\text{где } a_1 = 0.17 \cdot I_{max} \frac{q_{rs} \mu_m \varphi_e}{\mu_e \mu_r},$$

$$a_2 = \frac{0.17 \cdot I_{max}}{\mu_e \mu_r^2} q_{rs} \mu_m \varphi_e + \frac{0.17 \cdot I_{max}}{\mu_e \mu_{mrs} \mu_r} \varepsilon_{sat}.$$

В промежуток времени от 12 до 14 часов (полдень) интенсивность солнечного света можно считать постоянной и примерно равной I_{max} . В этом случае второе уравнение системы (6) является линейным дифференциальным уравнением первого порядка, решая которое, получим интегральные зависимости, описывающие динамику резервной и структурной составляющей биомассы во времени:

$$\begin{cases} B_{res} = \frac{\mu_m \varphi_e I_{max} \varepsilon_{sat}}{\mu_e \mu_{mrs}} + C_3 e^{-\frac{\mu_{mrs} t}{\varepsilon_{sat}}} \\ B_{str} = \frac{q_{rs} \mu_m \varphi_e I_{max}}{\mu_e \mu_r} - C_3 \frac{q_{rs} \mu_{mrs}}{\mu_{mrs} - \mu_r \varepsilon_{sat}} e^{-\frac{\mu_{mrs} t}{\varepsilon_{sat}}} + C_4 e^{-\mu_r t} \end{cases}$$

После полудня происходит уменьшение интенсивности света, при этом рост культуры будет описываться выражениями:

$$\begin{cases} B_{res} = C_5 e^{-\frac{\mu_{mrs} t}{\varepsilon_{sat}}} + 0.17 \cdot I_{max} \frac{\varphi_e \mu_m \varepsilon_{sat}}{\mu_e \mu_{mrs}^2} ((t-20)\mu_{mrs} - \varepsilon_{sat}) \\ B_{str} = \frac{C_5 \mu_{mrs} q_{rs}}{\mu_r \varepsilon_{sat} - \mu_{mrs}} e^{-\frac{\mu_{mrs} t}{\varepsilon_{sat}}} + C_6 e^{-\mu_r t} + a_1 (t-20) - a_2 \end{cases}$$

где $C_1 - C_6$ – константы интегрирования, которые определяются из начальных условий.

Графическое представление

Значения констант, входящих в систему (6), могут сильно варьировать и являются видоспецифическими коэффициентами. Коэффициент q_{rs} может быть косвенно оценён как отношение максимальной эффективности фотосинтеза к максимальной эффективности фотобиосинтеза. Максимальный КПД фотосинтеза составляет около 30–35 % [14]. Продукты

фотосинтеза в дальнейшем используются как энергетический и пластический субстрат для биосинтеза. По данным [15] для *Synechococcus elongatus* максимальная эффективность фотобиосинтеза не превышает 15 %. Таким образом, величина q_{rs} составляет около 40 %.

Соотношение интенсивности дыхания и фотосинтеза может быть выражено относительно расхода и биосинтеза биомассы. По литературным данным, этот параметр изменяется в широких пределах и составляет 0.05–0.65 для микроводорослей различных систематических групп [16]. В контексте данной работы, так как мы рассматриваем максимальную удельную скорость фотосинтеза, соотношение $\mu_{mrs} : \mu_r$ является постоянным видоспецифическим коэффициентом и составляет около 20. Также примем, что удельная скорость фотосинтеза превышает скорость преобразования резервной биомассы в структурную на 20 %.

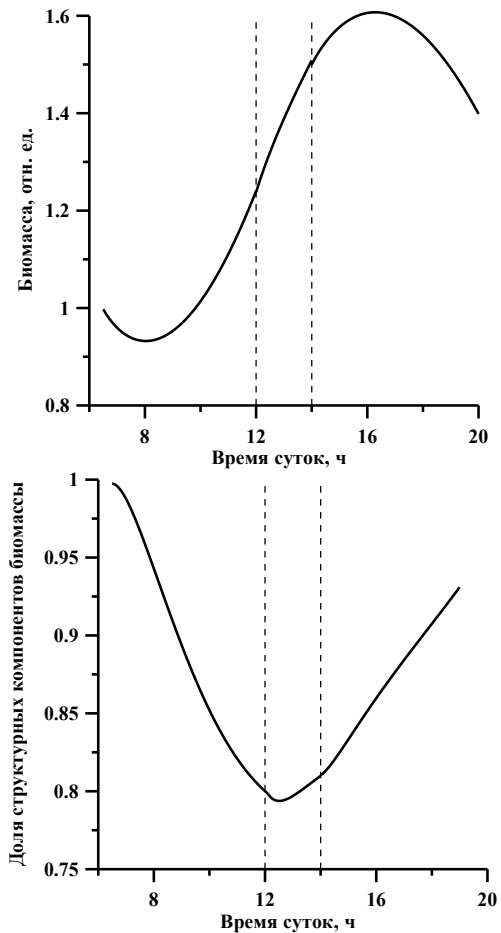


Рис. 2. Теоретические кривые динамики биомассы и доли структурных компонентов в условиях естественного освещения. Пунктирные линии ограничивают область максимальной интенсивности света.

На рисунке 2 представлены расчётные кривые динамики плотности культуры и доли структурных компонентов биомассы микроводорослей в течение светового дня. Форма полученных кривых сильно

зависит от значений видоспецифических констант, поэтому точные решения системы (6) возможно получить при анализе конкретных экспериментальных данных. Тем не менее, результаты моделирования показывают, что после восхода солнца рост микроводорослей в плотной культуре обусловлен только увеличением резервной части биомассы. Структурная часть при этом за четыре часа практически не изменяется. В таких условиях абсолютные значения структурной части биомассы за 4 часа практически не изменяются, причём первые несколько часов после восхода солнца наблюдается её снижение. Подобные данные получены и при культивировании микроводорослей при искусственном освещении, когда за несколько часов после включения света концентрация белка (структурная часть) не изменяется [2]. Величина β уменьшается с течением времени, что свидетельствует о происходящих в клетках микроводорослей изменениях соотношений биохимических составляющих. После полудня происходят обратные процессы, обусловленные снижением притока световой энергии и последующей убылью резервной составляющей биомассы.

5. Благодарности

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме "Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса" № гос. регистрации 121030300149-0.

6. Список литературы

1. Torzillo G., Sacchi A., Materassi R., Richmond A. Effect of temperature on yield and night biomass loss in *Spirulina platensis* grown outdoors in tubular photobioreactors. *J. Appl. Phycol.* 1991. V. 3. P. 103–109.
2. Chauton M.S., Winge P., Brembu T., Vadstein O., Bones A.M. Gene regulation of carbon fixation, storage, and utilization in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* acclimated to light/dark cycles. *Plant Physiol.* 2013. V. 161. No. 2. P. 1034–1048. doi: [10.1104/pp.112.206177](https://doi.org/10.1104/pp.112.206177)
3. Golterman H.L. *Physiological limnology*. Amsterdam: Elsevier Sci. Publ. Co, 1975. 489 p.
4. Grobbelaar J.U., Soeder C.J., Stengel E. Modeling algal productivity in large outdoor cultures and waste treatment systems. *Biomass.* 1990. V. 21. No. 4. P. 297–314. doi: [10.1016/0144-4565\(90\)90079-Y](https://doi.org/10.1016/0144-4565(90)90079-Y)
5. Sukenik A., Levy R.S., Levy Y., Falkowski P.G., Dubinsky Z. Optimizing algal biomass production in an outdoor pond: a simulation model. *J. Appl.*

- Phycol.* 1991. V. 3. No. 3. P. 191–201. doi: [10.1007/BF00003577](https://doi.org/10.1007/BF00003577)
6. Monod J. The growth of bacterial cultures. *Ann. Rev. Microbiol.* 1949. V. 3. P. 371–394.
 7. Droop M.R. 25 years of algal growth kinetics a personal view. *Bot. Mar.* 1983. V. 26. № 3. P. 99–112. doi: [10.1515/botm.1983.26.3.99](https://doi.org/10.1515/botm.1983.26.3.99)
 8. Flynn K.J. A mechanistic model for describing dynamic multi-nutrient, light, temperature interaction in phytoplankton. *J. Plan. Res.* 2001. V. 23. P. 977–997.
 9. Лелеков А.С., Тренкеншу Р.П. Двух-компонентная модель роста микроводорослей в плотностате. *Математическая биология и биоинформатика.* 2021. Т. 16. № 1. С. 101–114. doi: [10.17537/2021.16.101](https://doi.org/10.17537/2021.16.101)
 10. Тренкеншу Р.П., Новикова Т.М. Простейшие модели роста микроводорослей. 10. Динамика общего биохимического состава клеток. *Морской экологический журнал.* 2014. Т. 13. № 4. С. 71–78.
 11. Заворуева Е.Н., Заворуев В.В., Крум С.П. *Лабильность первой фотосистемы фототрофов в различных условиях окружающей среды.* Красноярск: Сибирский федеральный университет, 2011. 152 с.
 12. Jallet D., Caballero M.A., Gallina A.A., Youngblood M., Peers G. Photosynthetic physiology and biomass partitioning in the model diatom *Phaeodactylum tricornutum* grown in a sinusoidal light regime. *Algal Research.* 2016. V. 18. P. 51–60. doi: [10.1016/2016.05.014](https://doi.org/10.1016/2016.05.014)
 13. *Научно-прикладной справочник по климату СССР. Вып. 10. Украинская ССР.* Л.: Гидрометиздат, 1988.
 14. *Физиология растений: Уч. для студ. вузов.* М.: Изд-во «Академия», 2005. 640 с.
 15. Белянин В.Н., Сидько Ф.Я., Тренкеншу А.П. *Энергетика фотосинтезирующей культуры микроводорослей.* Новосибирск: Наука, 1980. 136 с.
 16. Langdon C. The significance of respiration in production measurements based on oxygen. *ICES Mar. Sci. Symp.* 1993. V. 197. P. 69–78.