

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КУРСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ
ПРОФЕССОРА И.И.ИВАНОВА»

В.А.ЛУКЪЯНОВ, А.И.СТИФЕЕВ

ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ
ПРИМЕНЕНИЯ
МИКРОВОДОРОСЛЕЙ
В АГРОЦЕНОЗЕ

Монография

Курск:
Издательство Курской государственной
сельскохозяйственной академии, 2014

УДК 631.86:633 (075)

ББК 40.40:41/42я7

Л 84

Рецензенты:

доктор с.-х. наук, профессор Беседин Н.В., Курская ГСХА
доктор с.-х. наук, профессор Пыхтин И.Г., главный научный
сотрудник ВНИИ и ЗПЭ

*Печатается по решению редакционно-издательского совета
ФГБОУ ВПО «Курская ГСХА»*

Монография «Прикладные аспекты применения микро-
водорослей в агроценозе»

Л 84 Лукьянов В.А., Стифеев А.И. Прикладные аспекты
применения микроводорослей в агроценозе / В.А.Лукьянов,
А.И.Стифеев. – Курск: Издательство Курской государствен-
ной сельскохозяйственной академии, 2014.-181с.

ISBN 978-5-7369-0751-9

Приведены сведения о перспективных микроводорослях, которые применяются в сельском хозяйстве, в частности отрасли растениеводства для повышения почвенного плодородия, микробиологической активности, урожайности сельскохозяйственных культур, их качества и ускорения сроков вегетационного периода. Рассмотрены группы водорослей, отличающиеся высокой продуктивностью и полезными ассимиляционными свойствами, которые позволяют частично заменить устоявшуюся традиционную систему использования высоких доз минеральных удобрений, пестицидов и регуляторов роста. Приведены питательные среды для микроводорослей, технология производства и современные биореакторы.

Монография предназначена для специалистов сельскохозяйственных предприятий, крестьянско-фермерских хозяйств, научных работников, преподавателей и студентов высших сельскохозяйственных учебных заведений.

ISBN 978-5-7369-0751-9

© ФГБОУ ВПО «Курская ГСХА», 2014

© Лукьянов В.А., Стифеев А.И., 2014

- ОГЛАВЛЕНИЕ -

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ	5
1. ИСТОРИЧЕСКИЙ ОЧЕРК О РАЗВИТИИ МЕТОДОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРΟΣЛЕЙ	9
1.1 Культивирование микроводорослей в XIX-XX вв.	9
2. БИОЛОГИЯ МИКРОВОДОРΟΣЛЕЙ	25
2.1 Общая характеристика микроводорослей	25
2.2 Уровни организации и уровни индивидуальности	35
2.3 Строение клетки	38
2.4 Размножение	42
2.5 Физиологические особенности почвенных микро- водорослей	44
2.5.1 Метаболизм	44
2.5.2 Приспособительные особенности	49
3. ГЕОГРАФИЯ ВОДОРΟΣЛЕЙ	53
3.1 География морских водорослей	54
3.2 География пресноводных микроводорослей	55
3.3 География почвенных микроводорослей	60
4. РОЛЬ ВОДОРΟΣЛЕЙ В ПРИРОДЕ	62
4.1 Водоросли в балансе живого вещества	62
4.2 Водоросли в балансе кислорода	64
4.3 Микроводоросли - компонент биоценозов, агенты самоочистения окружающей среды и почвообразо- вательных процессов	65
5. РОЛЬ МИКРОВОДОРΟΣЛЕЙ В ПОЧВООБРАЗО- ВАНИИ И ЖИЗНИ БИОГЕОЦЕНОЗА	66
5.1 Влияние на физико-химические свойства почв	66
5.2 Влияние на оструктуренность почв	67
5.3 Азотфиксация	69
5.4 Влияние на микробиологическую активность	71
5.5 Микроводоросли - индикаторы экологического состояния почв	73
5.6 Биологическая регуляция нарушенных земель	74
5.7 Обработка семян сельскохозяйственных культур суспензией микроводорослей	75

5.8 Влияние на урожайность сельскохозяйственных культур	78
5.9 Влияние на почвенное плодородие	80
6. МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ВИДОВОГО СОСТАВА ПОЧВЕННЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ	84
6.1 Прямое микроскопирование почвенного образца	84
6.2 Идентификация почвенных водорослей	88
6.2.1 Количественный учет	89
7. КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКА РОСТА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ	95
8. СПЕКТРАЛЬНЫЙ СОСТАВ СВЕТА И ИСТОЧНИКИ ИСКУССТВЕННОГО ОСВЕЩЕНИЯ	106
9. МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ	112
10. БИОРЕАКТОРЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ	126
10.1 Основные требования к биореакторам	126
10.2 Промышленные биореакторы	127
11. ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ (НА ПРИМЕРЕ SPIRULINA PLATENSIS)	134
12. ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВА АЛЬГОЛИЗАЦИИ ПОЧВ МИКРОВОДОРОСЛЯМИ	136
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	139
ПРИЛОЖЕНИЯ	140
СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ	161
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	171

ВВЕДЕНИЕ

Мир водорослей огромен. Он занимает в растительном царстве совершенно особое, исключительное по своему значению место, как в историческом аспекте, так и в общем круговороте веществ в природе.

Наряду с очень важной ролью в природе, водоросли начинают приобретать существенное значение в практической жизни человека. Это связано с успехами прикладной альгологии, особенно в области управляемого культивирования микроводорослей.

В настоящее время одноклеточные и некоторые другие микроскопические фотоавтотрофные водоросли, широко изучаются не только в странах бывшего СНГ, но и в США, Японии, ФРГ, Франции, Италии, Швеции, Бельгии, Чехословакии, Болгарии и других странах (А.В.Рахимов, Х.Ф. Якубов, 1971).

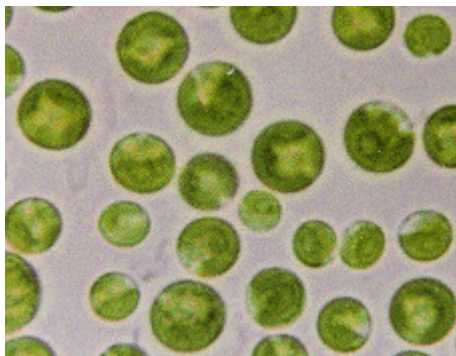


Рис. 1 – Микроводоросль
Chlorella vulgaris

Микроводоросли являются богатейшим источником простейших белков (около 50 %), минералов, витаминов, аминокислот, антиоксидантов и онкопротекторов, обладают сахаропонижающим эффектом, что объясняет их широкое применение в различных сферах человеческой деятельности: медицине, косметике, спорте, животноводстве, пчеловодстве, рыбководстве, птицеводстве, ветеринарии.

Присутствие микроводорослей и цианобактерий (*Chlorella vulgaris*, *Spirulina platensis*) в рационе человека в качестве пищевой добавки помогает естественным путем (без применения химически синтезированных лекарственных препаратов) нормализовать обмен веществ в организме. Особое место занимает использование биомассы спирулины в

качестве источника микроэлементов (йод, селен и пр.) крайне необходимых для полноценной жизнедеятельности человека и животных (Э.З.Зарипов, 1982).

Не менее важным направлением является получение из биомассы микроводорослей каких-либо ценных веществ: аминокислот, протеинов, разнообразных углеводов, липидов и т. д. В настоящее время существенно возрос интерес к пигментам микроводорослей, в частности *Porphyridium purpureum* является источником разнообразных биологически ценных веществ (фикобилипротеинов, внеклеточных сульфополисахаридов, ненасыщенных жирных кислот), что объясняется их высокой антиоксидантной активностью (А.А.Ефимов, 2007). Пигмент В-фикоэритрин, относящийся к классу фикобилипротеинов, имеет широкие перспективы использования в пищевой, косметической и медицинской промышленности. Это обусловлено его белковой природой, нетоксичностью, а также редко встречающимся оттенком красного цвета и ярко выраженной флуоресценцией

Зелёная микроводоросль *Dunaliella salina*, способна синтезировать β -каротин, который является мощным антиоксидантом. Он обладает антимуtagenными, радиопротекторными и противоопухолевыми свойствами, то есть замедляет старение организма, применяется в качестве биологически активной добавки к пище как общеукрепляющее и профилактическое средство. В пищевой промышленности β -каротин используется как краситель (А.Б.Боровков, 2005). Кроме того, морские галобные микроводоросли являются источником целого ряда биологически ценных веществ (например, жирных кислот высокой степени ненасыщенности, которые не синтезируются пресноводными видами).

Использование микроводорослей позволяет решить еще одну не менее важную биотехнологическую проблему несбалансированности рационов кормления животных. Чтобы достичь требуемого уровня содержания в рационах с/х животных и птиц питательных и биологически активных веществ, многим хозяйствам приходится использовать все возможные кормовые добавки. Исходя из результатов многолетних экспериментальных исследований учёных всего мира, воздействие отдельных видов одноклеточных фотосинтези-

рующих организмов (хлорелла, сценедесмус, дуналиелла, спирулина и др.) на сельскохозяйственных животных впечатляющее (Е.В.Шацких, Ш.С.Гафаров и др., 2006).

Метод биологической мелиорации, заключающийся в орошении почв удобрительной суспензией живых культур микроводорослей и цианобактерий (альго-лизация), способствует интенсификации процесса повышения плодородия почв, особенно в условиях поливного земледелия.



Рис. 2 – Альголизация с.-х. культур по вегетации микроводорослями

Водорослевая биомасса обогащает почву азотом, фосфором, калием, йодом и значительным количеством микроэлементов, пополняет также её бактериальную микрофлору.

Использование зелёных микроводорослей: хлорелла (*Chlorella*), сценедесмус (*Scenedesmus*) и синезелёных (цианобактерий) - носток (*Nostoc*), анабаена (*Anabaena*) способствуют накоплению органических и минеральных форм азота в почве, выделению биологически активных веществ, ускоряющих рост корней и стимуляции жизнедеятельности многих других полезных микроорганизмов почвы. При этом в почве микроводоросли разлагаются быстрее, чем навозные удобрения, и не засоряют её семенами сорняков, личинками вредных насекомых, спорами фитопатогенных грибов, оказывая значительную помощь в повышении плодородия почв, их рекультивации, пополнении запасов органических веществ и повышении урожайности сельскохозяйственных культур (В.А.Лукиянов, А.И.Стифеев, 2012; Э.А.Штина, 1984).

В агроценозах большой интерес представляют протококковые микроводоросли (хлорелла, сценедесмус) и синезелёные (спирулина, носток, анабена) цианобактерии. Однако вопрос их использования в растениеводстве и земледелии изучен недостаточно.

Фотосинтезирующие организмы обладают способностью

изменять качественное и количественное содержание органических соединений в клетках организма в зависимости от условий выращивания. Особо важен тот факт, что микроводоросли вносят около 50% в общую фотосинтетическую продукцию растений планеты и являются основой пищевых цепей для более 70% мировой биомассы.

Существование микроводорослей и цианобактерий в почве, на первый взгляд несовместимое с основными особенностями этих организмов, в действительности столь же обычно, как обитание их в водоемах. Общее их количество обнаруженных в почве видов приближается уже к 2000. В почвах РФ к настоящему времени найдено около 1400 видов, разновидностей и форм, относящихся главным образом к синезеленым (438), зеленым (473), желтозеленым (146) и диатомовым (324) одноклеточным организмам.

Таким образом, микроводорослям и цианобактериям отводятся важную роль в решении ряда глобальных проблем, волнующих все человечество: продовольственной, медицинской, энергетической, охраны окружающей среды и сельского хозяйства. Возможности широкомасштабного промышленного производства биомассы и расширение спектра их использования выдвигают ряд задач перед экологами, микробиологами и биотехнологами в области поиска высокопродуктивных штаммов и оптимизации условий их культивирования.

1. ИСТОРИЧЕСКИЙ ОЧЕРК О РАЗВИТИИ МЕТОДОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Многие методы и рецепты основных питательных сред, которые используются в настоящее время, были предложены в конце XIX и начале XX веков. В настоящее время в литературе накоплен значительный фактический материал по методам культивирования микроводорослей (Р.П.Тренкеншу и др., 2009). Многие из этих работ содержат исторические сведения. Дадим краткий обзор основных достижений в культивировании микроводорослей, начиная с зарождения науки о водорослях и до середины XX века.

1.1 Культивирование микроводорослей в XIX-XX вв.

Немецкий ученый Фердинанд Кох (F.Koch, 1850), основатель бактериологии, смог сохранить одноклеточную жгутиковую водоросль *Naematococcus* (Chlorophyceae) в течение некоторого времени и назвал эту процедуру «культивирование». Свои опыты он проводил в Бреслау (сейчас Вроцлав, Польша). Это была первая опубликованная работа о «культуре» водорослей. Однако в связи с тем, что Ф.Кох в процессе культивирования водоросли не использовал питательную среду, ему не удалось выделить *Naematococcus* из других организмов, и он не смог поддерживать культуру данной водоросли длительное время.

Русский физиолог растений А.С.Фаминцын (1871) из Санкт-Петербурга, один из основателей этой дисциплины в России, сделал первую попытку выращивать водоросли с использованием растворов нескольких неорганических солей. Он выращивал несколько видов зеленых водорослей, особенно два вида, которые он определил как *Chlorococcum infusio-num* Schrank) Meneghini и *Protococcus viridis* C.Agardh. Растворы, которые он использовал, были изменены Кнопфом в 1865 году для изучения сосудистых растений. Рецепт этой среды можно найти в работе Г. Болда (G.Bold, 1942).

Первые сведения о чистых (аксеничных) культурах микроводорослей можно найти в трудах датского микробиолога Мартинуса Бейеринка, хотя позднее Георг Клебс усомнился в

этом достижении (рис. 3). М.Бейеринк усовершенствовал бактериологический метод Р.Коха, предложенный им 10 лет назад, и в своих опытах стал использовать воду из пробы и среду с желатином. М.Бейеринк (1890, 1893) был первым исследователем, выделившим свободноживущие виды *Chlorella* и *Scenedesmus* в якобы свободные от бактерий культуры, и он также успешно выделил симбиотическую зеленую микроводоросль из *Hydra* («*Zoochlorella*») и лишайников (зеленая водоросль, которую определил, как *Cystococcus humicola* Naegeli сейчас рассматривается как вид рода *Trebouxia*). Позднее он также получил «чистые культуры» других водорослей, включая цианобактерии, и установил, что цианобактерии, такие как *Anabaena*, могут культивироваться в среде без азота (H.Preisig, R.Andersen, 2005).

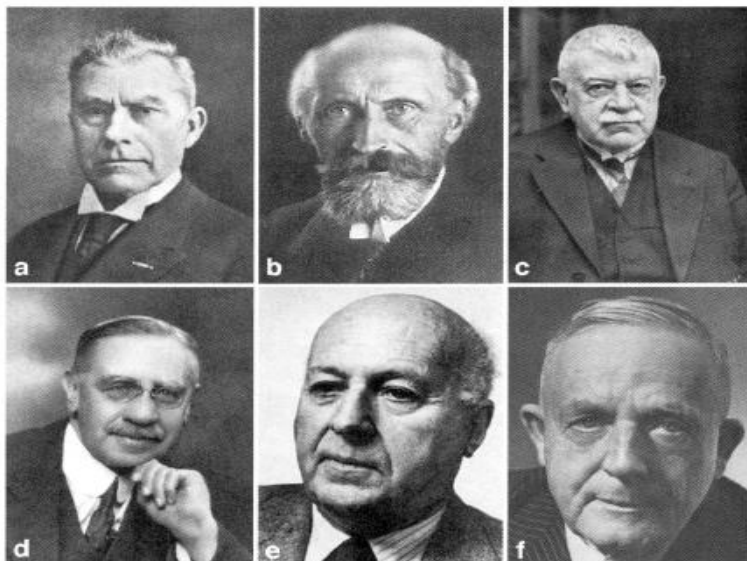


Рис. 3: a - Мартинус Уильям Бейеринк (*Martinus Willem Beijerinck*) (1851-1931); b - Георг Клебс (*Georg Klebs*) (1857-1918); c - Роберт Шодат (*Robert Chodat*) (1865-1934); d - Эдгар Джонсон Аллен (*Edgar Johnson Allen*) (1866-1942); e - Эрнст Георг Прингшейм (*Ernst Georg Pringsheim*) (1881-1970); f - Отто Генрих Варбург (*Otto Heinrich Warburg*) (1883-1970)

Исследования, равноценные по значимости работам М.Бейеринка для зеленых водорослей, были проведены П.Миквелом (P.Miquel, 1890) в Париже в Обсерватории Монтессори для диатомовых водорослей. П.Миквел, микробиолог, который также является великим первооткрывателем в сфере аэробологии (P.Comtois, 1997), был первым исследователем, получившим чистые (аксеничные) культуры пресноводных и морских диатомовых микроводорослей. Кроме того, он разработал несколько новых методов, таких как использование микропипеток для выделения клеток микроводорослей и органической мацерации в качестве источника органических добавок в минеральную среду (добавление органических питательных материалов в форме отрубей, соломы, травы, мхов и т.д.). С помощью микропипеток и микроскопа он выделял отдельные клетки и помещал их в отдельные сосуды, содержащие питательную среду. П.Миквел также использовал метод разведения: он добавлял образец, содержащий диатомеи в подготовленную воду (питательную среду), и потом разделял эту смесь на ряд пробирок.

П.Миквел предложил два раствора (А и В), содержащих минеральные соли, которые он использовал для обогащения морской воды. Позднее его знаменитые растворы А и В широко использовались для выращивания водорослей (Provasoli et al., 1957). Методика получения чистых культур диатомовых водорослей также была описана Л.Мачиатти (L.Macchiati) в Италии (H.Preisig, R.A.Andersen, 2005).

В Германии В.Крюгер и др. (W. Krüger) в 1894 году смог получить чистые культуры бесцветных и сахарофильных коккоидных зеленых микроводорослей (*Prototheca*, *Chlorella* sp.). Наиболее важными исследованиями в области культивирования водорослей были опыты, поставленные Г.Клебсом в Университете Базеля (Швейцария). Он пытался получить аксеничные культуры нитчатых и сифональных микроводорослей, помещая выделенные зооспоры внутрь агара. Г.Клебс достиг успеха в выращивании микроводорослей, однако не смог получить бактериологически чистые культуры. Он использовал чашки Петри для культивирования, и был первым, кто выделил микроводоросли на агаре. Желатин, применявшийся в ранних микробиологических исследованиях, не

подходил для этого, так как бактерии переваривали желатин, превращая твердый субстрат в жидкость (H.Preisig, R.Andersen, 2005).

Агар также использовался Н.Тишуткиным в Белоруссии, который впервые приписал себе получение чистой культуры цианобактерий, но чистота его культур всегда вызывала сомнения (R.Harder, 1917). Х.Вард в 1899 году в Кембридже рекомендовал разбухший агар с растворенной уксусной кислотой с последующим полным ополаскиванием для смыва всех солей (H.Bold, 1942). Х.Вард также описал несколько методов выделения микроводорослей.

Первый способ был основан на смешивании агара с раствором, обогащенным питательными веществами. Стерильный раствор разливался внутрь чашки, где он позже затвердевал. В этом случае некоторые выносливые микроводоросли начинали прорастать. Второй способ заключался в смешивании водорослей с раствором, обогащенным азотсодержащими соединениями и стерильным силикагелем. Подобным же образом он использовал большое количество известковой воды, в которую добавлялся газообразный диоксида углерода. Образующийся карбонат кальция затем разливался в чашки для культивирования и служил для ускорения роста водорослей. Х.Вард был первым ученым, использовавшим трафарет для создания узоров (образующихся в результате роста микроводорослей) на твердых субстратах. Для этого он накрывал чашки непрозрачной оболочкой, с прозрачной областью в форме буквы алфавита (например, А).

Таким образом, свет освещал поверхность агара только сквозь прозрачную область в форме буквы. После некоторого периода времени, в освещенной области наблюдался рост микроводоросли. Когда оболочку убирали, едва заметная зеленая буква алфавита была видна на агаре (H.Preisig, R.Andersen, 2005).

Исследования Р.Шодата и его коллеги в Женеве были важны для расширения знаний о культивировании микроводорослей. Однако условия культивирования Р.Шодата часто очень сильно отличались от естественных, и он обнаружил появление морфологических изменений в клетках. В течение

более чем 30-летних исследований он выделил более 300 видов микроводорослей в чистые культуры (R.Chodat, 1928).

В 1903 году О.Рихтер, родившийся в Праге австрийский ботаник, продолжил работы П.Миквела по выращиванию аксеничных культур диатомовых микроводорослей. О.Рихтер также расширил исследования по изучению других микроводорослей, и в 1911 году он представил свою детальную публикацию, обобщившую все предыдущие работы по питанию микроводорослей (O.Richter, 1913). В 1903 году в Соединенных Штатах Г.Мур (G.Moore, 1903) опубликовал резюме о культивировании микроводорослей.

В этом же году в Великобритании Гариетт Чик (H.Chick, 1903) представила свою работу о *Chlorella pyrenoidosa* Chick. Она получила чистые аксеничные культуры, которые многократно проверяла и пришла к заключению, что микроводоросль предпочитает азот в виде солей аммония.

В Германии Э.Кустер (E.Küster, 1907) опубликовал пособие по культивированию микроводорослей. В 1908 году Кустер предпринял успешную попытку вырастить динофлагелляты, хотя ему не удалось получить чистую культуру бесцветного морского вида, который он предварительно описал как *Gymnodinium fucorum* Küster.

Якобсен (H.Jacobsen, 1910), возможно, был первым, кто в 1910 году выделил бесцветную жгутиковую микроводоросль *Polytoma uvella* Ehrenberg. Он также был основоположником работ в выделении микроводорослей родов *Carteria*, *Chlamydomonas*, *Chlorogonium* и *Spondylomorom* (Chlorophyceae). Для органического обогащения он использовал различные сахара и пептон.

Шарлотта Тернец в 1912 году продолжила исследования Х.Зумстейна, начатые еще в 1900 году в Базеле, которые были посвящены изучению органического питания *Euglena gracilis*. Она обнаружила, что зеленые формы этих организмов становятся бесцветными при выращивании в темноте, но снова приобретают зеленую окраску на свету. С другой стороны, при этом существовали постоянно бесцветные, но менее жизнеспособные формы *Euglena gracilis* (H.Preisig, R.Andersen, 2005).

В 1910 году Э.Аллен, директор Морской Биологической Ассоциации Соединенного Королевства, и его коллега Нельсон (D.Nelson, 1979) внесли существенный вклад в развитие культивирования микроводорослей, включая самые ранние попытки выращивать микроводоросли в качестве корма для морских животных. Они выделяли и выращивали *Chaetoceros*, *Skeletonema* и *Thalassiosira* для питания морских беспозвоночных. Э.Аллен и Э.Нельсон создали искусственную морскую воду, используя различные концентрации солей. Кроме того, они установили важность железа как микроэлемента. Однако они добились хорошего роста микроводорослей только путем добавления небольшого количества естественной морской воды (менее 1-4%) к искусственно созданной. Э.Аллен в 1914 году отмечал (E.Allen, 1914), что этот эффект может быть следствием воздействия продуктов метаболизма бактерий и предположил, что органические микро-нутриенты так же важны, как и витамины, которые были только что открыты Казимиром Функом.

Так как Э.Аллен и Э.Нельсон выращивали массовые культуры микроводорослей не только в пробирках и колбах, они столкнулись с новыми проблемами. Они быстро осознали, что в больших сосудах для культивирования лимитирующим фактором является свет, и до сих пор лимитирующее действие света продолжает оставаться главной проблемой в массовом культивировании микроводорослей. В связи с потребностями в большом объеме культур, они перестали использовать искусственную морскую воду и впоследствии стали использовать только обогащенную естественную морскую воду. Они установили, что вода в гавани («резервуарная вода») была загрязнена, а морская вода из Английского Канала («внешняя вода») была намного чище. Для очистки больших объемов морской воды, они кипятили ее с последующим очищением древесным углем и пероксидом водорода. Исследователи даже пытались озонировать морскую воду, сообщая о небольшом успехе с использованием «несовершенного аппарата». Они предположили, что «промывка» раствора, проводимая П.Миквелом, могла бы быть «защитной» процедурой, при которой смывались или обезвреживались опасные субстанции (например, токсины). Подобное

происходило при использовании древесного угля (содержащего большое количество кальция и фосфата магния) и пероксида водорода, которые оказывали подобный защитный эффект. Э.Аллен и Э.Нельсон установили, что нитрат калия был первостепенно важным «питательным» ингредиентом в растворе Миквелла и обнаружили, что в некоторых случаях требовалось добавление фосфата.

Эти выдающиеся исследователи выращивали много диатомовых микроводорослей на «Морской воде Миквелла». Эта среда также поддерживала рост нескольких видов неустоенных видов красных микроводорослей, цианобактерий, зеленых мводорослей (например, *Enteromorpha*), *Vaucheria* (*Xanthophyceae*), и даже молодых растений *Laminaria* (*Phaeophyceae*). Эти наблюдения подвели Г.Дрю (K.Drew, 1949) к проведению экспериментов по искусственному культивированию *Laminaria digitata* (Hudson) Lamouroux и к открытию ранних стадий их жизненного цикла. Таким образом, Э.Аллена можно считать основоположником марикультуры водорослей, впервые использовавшим микроводоросли для корма морских животных и заложившим основы культивирования микроводорослей.

Хотя Г.Дрю смог культивировать *Laminaria*, он не обратил внимания на то, что водоросль имеет микроскопический гаметофит, и что макроскопическое растение является спорофитом. Первое открытие гетероморфного жизненного цикла у бурых водорослей было сделано несколькими годами позже С.Саважем (C.Sauvageau, 1915) во Франции, который культивировал *Sacchorhiza bulbosa* J.Agardh (другой вид порядка *Laminariales*).

Это очень важное открытие С.Саважа привело к повышенному вниманию многих исследователей к проблеме культивирования бурых водорослей. Стало очевидным, что циклы развития многих водорослей этой группы невозможно установить без лабораторного культивирования.

В 1912 году Э.Прингшейм, в то время работавший в Халле ан дер Саале (Германия), опубликовал первую часть своей монографии о методах культивирования водорослей (после многочисленных дополнений в течение долгого периода времени вплоть до 1970 года, его книга «Чистые культуры

водорослей» 1946 года (E.Pringsheim, 1946) и ее перевод на немецкий в 1954 году были очень популярны). В работе 1912 года Э.Прингшейм показал, что хлор в водопроводной воде вреден для выращивания пресноводных микроводорослей. Вместо водопроводной или ключевой воды он использовал дистиллированную воду, полученную с помощью стеклянного дистиллятора. Было доказано, что дистиллированная вода, полученная с помощью металлического аппарата, является практически непригодной.

Э.Прингшейм также усовершенствовал методику изоляции отдельных клеток или нитей с помощью капиллярной пипетки для уменьшения бактериального загрязнения. В этом же году он начал использовать почвенную вытяжку и позднее торф как добавки в очищенные минеральные среды для улучшения роста. С тех пор эти методики стали широко использоваться при культивировании микроводорослей.

Двухфазные культуры с пастеризованной почвой, покрытой водой, не только могли поддерживать лучший рост инокулированного материала, но также позволяли выращивать в культуре формы, не растущие на обычных средах. Установление того факта, что включение источников органического углерода в среды для культивирования способствует развитию бесцветных форм водорослей, привело к исследованиям гетеротрофии водорослей.

Согласно сведениям Р.Хардера (R.Harder, 1917), Э.Прингшейм был первым, кто смог получить аксеничные культуры цианобактерий. В 1921 году Э.Прингшейм установил, что ацетат является превосходным субстратом для гетеротрофного роста бактерий. Он показал, что различные виды *Volvocales*, *Euglenophyceae*, *Cryptophyceae* и диатомовые водоросли могут расти в темноте на ацетате, но не на глюкозе. С годами Э.Прингшейм создал большую коллекцию культур водорослей, сначала в Халле ан дер Саале, позднее в Германском Университете в Праге, которая к 1928 году включала почти 50 видов (к 1929 году более 100 видов). Позднее коллекция была перемещена в Кембридж и положила начало знаменитому Центру Культивирования Водорослей и Протозоа (CCAP). В 1953 году Э.Прингшейм покинул Кембридж и вновь уехал в Германию. Из взятых с собой субкультур он

основал другую большую коллекцию водорослей - Коллекцию культур водорослей Геттингена (SAG). В целом, Э.Прингшейму удалось выделить приблизительно 2000 культур, представляющих 400 видов водорослей.

Отто Варбург, прославленный физиолог и биохимик, живший в Берлине, установил, что быстрорастущие зеленые микроводоросли, такие, как *Chlorella*, являются идеальными экспериментальными объектами в биохимических и физиологических исследованиях и использовал эти культуры в своих работах по изучению процесса фотосинтеза. Он обогащал жидкие питательные среды воздухом, насыщенным диоксидом углерода, и применял искусственные источники света, состоящие из лампы в 300Вт в стеклянном стакане с холодной водой, который служил экраном, абсорбирующим инфракрасное излучение.

Похожий искусственный источник света был описан М.Хартманом. Подобные лампы он использовал в своих успешных экспериментах по культивированию вольвоксовых водорослей (например, *Eudorina*, *Gonium*), которые ранее рассматривались как наиболее трудно культивируемые (М.Хартманн, 1924). Первыми исследователями, получившими чистые культуры *Volvox*, были русские ученые Е.Успенский и В.Успенская (Е.Успенски, В.Успенская, 1925). Они использовали среду, содержащую смесь минеральных солей, включая железо, с добавлением цитрата для предотвращения его осаждения.

Андрей Львов, работавший в Институте Пастера в Париже, был современником Прингшейма. А.Львов больше интересовался протозоа, грибами, бактериями и вирусами, однако он сделал несколько дополнений в знания о росте водорослей с использованием органических соединений, особенно аминокислот. Свои идеи он опубликовал в целом ряде сводок о методике культивирования микроорганизмов (А.Львов, 1923, 1929, 1932). Изучение потребностей некоторых водорослей в специфических органических соединениях послужили толчком для исследований М.Друпа и открытия убихинона для роста динофлагелляты *Oxyrrhis marina* Dujardin (М.Друп, Дж.Дойл, 1966).

Э.Шрайбер (E.Schreiber, 1927) разработал специальную комбинацию питательных веществ для культивирования вольвоксовых пресноводных водорослей и для морского фитопланктона. Его знаменитая среда, состоящая из смеси нитрата и фосфата, была основана на минимуме потребностей в двух элементах, необходимых для культур диатомовых водорослей. Д.Хаммерлинг, студент М.Хартмана (рис. 4), расширил эти исследования путем добавления почвенной вытяжки в среду Шрайбера для выращивания зеленой водоросли *Acetabularia*. Эта «почвенная среда Шрайбера» в течение многих лет успешно использовалась для выращивания как одноклеточных, так и бентосных морских водорослей, которые не могли расти на других средах (В.Фюп, 1934).



Рис. 4: a - Андрей Львов (André Lwoff) (1902-1994); b - Ульям Вишер (Wilhelm Vischer) (1890-1960); c - Харольд Чальз Болд (Harold Charles Bold) (1909-1987); d - Луджи Провасоли (Luigi Provasoli) (1908-1992); e - Ричард Камрон Старр (Richard Cawthron Starr) (1924-1998); f - Хироши Тамия (Hiroshi Tamiya) (1903-1984)

Ф.Майнкс, сотрудник Э.Прингшейма в Германском Университете в Праге, также внес большой вклад в знания о культивировании микроводорослей. Он предложил метод центрифугирования для изоляции водорослей и был одним из первых исследователей, использовавших фототаксис подвижных стадий для получения чистых культур. С.Скиннер в Университете Миннесоты модифицировал метод Бристоль-Роач в новую методику выделения микроводорослей с использованием агара, основанную на методе разведения (C.Skinner, 1932). Он готовил серию из нескольких питательных агаровых тест-пробирок, которые затем охлаждались до застывания агара. В первую пробирку он вносил несколько капель суспензии почвы и воды и многократно встряхивал пробирку. Затем он помещал небольшое количество суспензии из первой пробирки и помещал во вторую. Этот процесс повторялся более 10 раз. После инкубации он разбивал стеклянную тест-пробирку и помещал цилиндрический кусочек агара на стерильную бумагу. С.Скиннер многократно ломал (не резал) агар и с помощью маленькой лупы и препаровальной иглы снимал небольшие колонии микроводорослей, растущие на поверхности агара. Колонии, представляющие собой потомство отдельных клеток, вносились в жидкую среду, выращивались и потом снова помещались на застывший агар. После второй серии разрушения тест-пробирки и выделения колоний из одиночных клеток он установил, что приблизительно половина колоний микроводорослей были аксеничными.

У.Вишер, ранее работавший с Р.Шодати, был выдающимся специалистом в области культивирования наземных водорослей, особенно групп Chlorophyceae и Heterocontae (W.Vischer, 1926, 1937, 1960). В 1975 году его большая коллекция культур в Университете Базеля (Швейцария), включающая многие типовые штаммы, была перенесена в коллекцию культур ASIB в Инсбруке (Австрия), где она остается до сих пор и составляет большую часть настоящей коллекции (G.Gärtner, 2004).

Трое из самых видных фикоологов последнего века – Гейтлер в Вене (Австрия), Корнманн в Хелголанде (Германия) и вон Стош в Магдебурге (Германия) – при исследовании куль-

тур водорослей основной акцент уделяли жизненным циклам и систематике. Их наиболее активная научная карьера началась в 1920-х (Гейтлер) и в 1930-х годах (Корнманн и вон Стош) и продолжалась до 1980-х годов (D.Garbury, M.Wynne, 1996).

В Соединенных Штатах Харольд Болд разработал собственные методы культивирования (H.Bold, 1936, 1949, 1974) и внес неоценимый вклад в изучение микроскопических водорослей. Его знаменитый обзор «Культивирование водорослей» (1942) стал новым словом в фикологии.

С. Чу, который прибыл в Великобританию из Китая в 1938 году и сначала работал вместе с Фричем в Лондоне и позднее в Милпорте и Плимуте (в 1945 году он уехал в Америку и потом вернулся обратно в Китай), также был пионером среди тех, кто изобретал питательные среды, имеющие сходство с субстратами, на которых растут водоросли в естественных условиях. Его очень успешная среда Чу-10 была сходна по составу солей и концентрации с водой из эвтрофных озер (S.Chu, 1942).

Л.Провасоли, сначала в Италии, позднее в Соединенных Штатах, вместе с С.Хатнером, И.Пинтнером и другими коллегами (S.Hutner et al., 1950; L.Provasoli, I.Pintner, 1960) занимался проблемой создания искусственных сред для культивирования водорослей в течение более чем 40 лет (в 1930-80-х годах). Он и его коллеги были одними из первых исследователей, использовавших антибиотики для получения бактериологически чистых культур (L.Provasoli et al., 1948). Хотя потребность в витаминах была известна ранее, они провели всесторонние исследования для определения потребности в витаминах для большого числа водорослей (L.Provasoli, 1958a). Включение витаминов и органических экстрактов в морские среды значительно увеличивало количество водорослей, выращиваемых аксенично. Другим нововведением, которое сделало среду Провасоли такой успешной, было добавление ЭДТА (этилендиаминтетрауксусной кислоты), метаболически инертного хелатора, заменяющего органические хелаторы, такие как цитрат (S.Hutner et al., 1950). ЭДТА позволяла обогащенным искусственным средам и морской воде дольше сохранять свойства среды, по сравнению со сре-

дами с добавлением почвенного экстракта (L.Provasoli et al., 1954; L.Provasoli et al., 1957; L.Provasoli, 1958b).

Необходимость добавления микроэлементов была кратко обобщена Л.Провасоли и И.Пинтнером (L.Provasoli, I.Pintner, 1960), которые объяснили, почему сначала в среду было необходимо добавлять только железо, а потом – кобальт, медь, марганец, молибден, ванадий и цинк. Они отмечали, что в результате промышленных методов очистки «химически чистые» соли подвергаются многим изменениям, что приводит к появлению постоянно изменяющихся примесей. Другим новшеством Л.Провасоли было использование физиологически инертного рН буфера и применение глицерофосфата натрия в качестве растворимого источника фосфора, что предотвращало осаждение железа. Л.Провасоли был первым, кто смог получить аксеническую культуру зеленой ветвящейся водоросли *Ulva*. Он обнаружил, что в культуре при отсутствии бактерий для нормального развития тела водоросли необходимы растительные гормоны (L.Provasoli, 1958a).

Наследие Провасоли существует в виде его большой коллекции морских водорослей, которые были присоединены к коллекции Роберта Джулиарда и сейчас существуют в составе Национального Центра Культивирования Морского Фитопланктона Провасоли-Джулиарда (CCMP) в Лаборатории Океанических наук Бигелу в Мейне.

Открытие пенициллина, стрептомицина и других антибиотиков привело к их широкому использованию против бактерий в культурах водорослей. Л.Провасоли с соавторами (L.Provasoli et al., 1948), работая над получением аксенических штаммов с применением антибиотиков, обнаружили, что стрептомицин может использоваться для получения бесцветных мутантов *Euglena*. Ранние сообщения о получении аксенических культур с использованием антибиотиков включают данные М.Голдзвейг-Шелубски, который получил бактериологически чистые культуры *Scenedesmus*, *Navicula*, *Euglena* в результате обработки пенициллином; С.Спенсера, который смог очистить *Phaeodactylum*; К.Рейча и Д.Кана о получении аксенической культуры *Prymnesium parvum* Carter; М.Друпа о

разработке метода для очистки микроводорослей с применением антибиотиков (H.Preisig, R.Andersen, 2005).

Р.Старр, студент Х.Болда, в 1953 году начал создавать коллекцию культур в Университете Индианы, которую в 1976 году перевез в Техасский Университет в Остине (Коллекция культур водорослей UTEX) (R.Starr, J.Zeikus, 1993). Сначала она содержала преимущественно штаммы зеленых водорослей (особенно Volvocales, Chlorococcales, Desmidiaceae), которые он использовал для своих исследований, а также 200 штаммов, которые он получил от Э.Прингшейма. Эта коллекция затем была значительно расширена (в 1976 году она насчитывала 2000 штаммов), и сейчас она состоит примерно из 2300 штаммов (относящихся приблизительно к 200 различных родам), представляющих одно из крупнейших и разнообразных собраний живых водорослей на Земле.

Кроме достижений Э.Аллена и Э.Нельсона (E.Allen, D.Nelson, 1910), которые выращивали водоросли для сельского хозяйства, ученые развивали новые методы массового производства водорослей для других целей. Первые работы по выращиванию микроводорослей (особенно *Chlorella*) на твердых культурах проводились О.Варбургом в Берлине. В Институте Океанографии Вудс Хоул (Woods Hole Oceanographic Institution) в США Б.Кетчум и А.Редфилд) описали методику поддержания непрерывных культур морских диатомовых водорослей в больших объемах для химических анализов. Процедура включает периодический сбор урожая из установленной части (на килограмм или более сухого материала) в критический момент кривой роста, пока оставшаяся популяция продолжает размножаться и расти до сбора нового урожая. С помощью этой методики Б.Кетчум также добился роста и оптимального урожая клеток и других одноклеточных водорослей. Этот полунепрерывный метод культивирования до сих пор используется в сельском хозяйстве как средство быстрой продукции фитопланктона для корма морских животных. В Геттингеме (Германия) Р.Хардер и Х.Уич также начали эксперименты по массовому культивированию диатомовых для определения возможности получения жиров из этих культур (H.Preisig, R.Andersen, 2005).

Большой аппарат для выращивания *Chlorella* в непрерывных культурах был создан в Техасском Университете в Остине для поддержания культур в определенной точке кривой роста путем разбавления раствора, контролируемого фотометрической системой. В оригинале эта установка представляла собой вертикальную камеру в форме рукава, освещенную вертикальной трубчатой лампой таким образом, чтобы эффективное освещение не зависело от общего объема раствора. Клетки собирались вручную через определенные интервалы, при этом оставляли небольшой объем раствора для инокулята.

Микроводоросли, такие как *Chlorella*, рассматривались как потенциальные объекты для коммерческого использования (например, для получения продовольствия) Х.Споером и Х.Милнером из Института Карнеги Стенфордского Университета в Калифорнии. Дальнейшие исследования по применению лабораторных методов для непрерывного промышленного культивирования хлореллы проводились П.Куком в Стенфордском Исследовательском Институте, который построил небольшой пилотный (экспериментальный) завод. Заинтересованность в продолжение массового культивирования микроводорослей проявил Институт Карнеги через контракт с Артуром Д.Литтлом и компанией из Кембриджа (Массачусетс), который создал и запустил несколько заводов, расположенных на крыше промышленного здания (J.Burlew, 1953).

Краткосрочные урожаи хлореллы составляли 11г сухого веса м²/сутки. Было сделано заключение, что урожая до 20-25г сухого веса м²/сутки можно достичь только за счет улучшения технологии и культивирования в более подходящих географических условиях.

В конце 1940-х и в начале 1950-х годов важные работы по промышленному производству хлореллы проводились в Германии Х.Витшем. Ф.Гуммерт с коллегами начал исследовательскую программу по крупномасштабному производству микроводорослей в оранжереях и на открытом воздухе в Эссене. Примерно в это же время другая серия лабораторий и пилотных заводов по выращиванию хлореллы была запущена в Японии под руководством Х.Тамия в Институте Току-

гайя в Токио. Эта же группа ученых добилась успехов в интродукции методики синхронизации культур. Синхронизация, экспериментально достигнутая координация индивидуальных жизненных циклов в популяции клеток, была большим прогрессом для экспериментальной работы в физиологии микроводорослей и впоследствии использовалась для модификации других методик (Н.Тамиа, 1966).

Результаты первого всплеска массового культивирования микроводорослей были опубликованы в сводке под редакцией Дж.Бурлеу (J.Burlew, 1953). Более поздние данные о культивировании микроводорослей представлены в работе Соедера (C.Soeder, 1986).

2. БИОЛОГИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

2.1 Общая характеристика микроводорослей

Мир растений, насчитывающий около 0,5 млн. видов, занимает огромные площади континентов земного шара и акватории Мирового океана, на которых образует почти сплошной покров. Даже в Антарктиде на свободных ото льда местах растут мхи и лишайники, а поверхность ледяных и снежных пустынь нередко покрыта разрастаниями одноклеточных водорослей. Растительность суши и океана осуществляет на Земле уникальную функцию превращения в процессе фотосинтеза под воздействием солнечного света неорганических соединений в органические, создавая тем самым возможность существования на нашей планете иных форм жизни, включая человека.

Хотя в мире растений существуют и не фотосинтезирующие организмы, наиболее характерной и важной в глобальном масштабе особенностью растений является их способность к фотосинтезу, к биоконсервации солнечной энергии и углекислого газа атмосферы в виде органических соединений, к выделению в ходе этого процесса кислорода, необходимого для дыхания всех аэробных организмов, доминирующих на нашей планете. Таким образом, зеленый экран суши и океана представляет собой гигантский фотосинтетический реактор, обеспечивающий жизнь на Земле в целом.

Наука, занимающаяся изучением водорослей, называется альгологией (alga – водоросль, logos – наука). Роль водорослей в биосфере очень велика, их продукция за год составляет 550 млрд. тонн.

Водоросли – это древнейшие фотосинтезирующие организмы на Земле, создавшие ее кислородную атмосферу и являющиеся весьма существенной частью природы.

Кроме способности к фотосинтезу растения имеют и другие своеобразные черты, отличающие их от представителей животного мира. Это и специфическое строение клетки, и преимущественно неподвижный образ жизни, и тенденция к неограниченному росту в течение вегетативной фазы

жизненного цикла при высокой степени расчлененности тела. Однако, мир растений настолько многообразен, что ни один из указанных выше признаков, не является общим для всех его представителей. Таких общих для всех растений признаков практически вообще нет.

У некоторых простейших одноклеточных растений, как и у животных, могут отсутствовать клеточная оболочка, тонопласт и даже пластиды. Наряду с неподвижными существует множество простейших растений, активно передвигающихся в пространстве в вегетативном состоянии и неотличимых по этому признаку от представителей животного мира. Гиганты растительного мира, населяющие воду и сушу, уживаются с микроскопическими организмами, размеры которых не превышают долей микрометра; сложно расчлененные многоклеточные формы — с простейшими одноклеточными, шаровидными или каплевидными, не дифференцированными на какие-либо органы.

Наряду с зелеными существуют растения, окрашенные в сине-зеленый, желто-зеленый, голубой, фиолетовый, розовый, красный, до темно-красного и почти черного, желтый, бурый, золотистый цвета, а также бесцветные. Наряду с фотоавтотрофными к миру растений относят также некоторые связанные с ними тесным родством гетеротрофные — сапрофитные, паразитические и голозойные организмы. Известны растения, онтогенез которых продолжается сотни лет, и организмы, жизнь которых от рождения до смерти длится всего несколько часов.

Все растения разделяют на высшие, объединяющие около 300 — 350 тыс. видов, и низшие — около 150 — 200 тыс. видов. В качестве основного критерия этого деления используют морфологический признак — наличие или отсутствие дифференциации вегетативного тела растения на многоклеточные органы, выполняющие различные функции (корень, стебель и листья). К низшим относят организмы, тело которых не расчленено на органы, а представлено недифференцированным талломом, или слоевищем. Поэтому низшие растения получили название слоевищных, или талломных (Thallophyta), в отличие от высших — листостебельных, или кормофитов (Cormophyta).

Половые органы низших растений, если они имеются, — одноклеточные, высших — многоклеточные. В отличие от нынешних, низшие растения характеризуются более простым анатомическим строением. У них отсутствует стела — центральный цилиндр, включающий в себя проводящие элементы (сосуды, ситовидные трубки). Поэтому низшие растения называют также бессосудистыми (*Plantae cellulares*), в отличие от высших — сосудистых (*Plantae vasculares*). Термин «бессосудистые растения» шире по объему, чем термин «низшие растения», поскольку кроме собственно низших растений, к которым обычно относят вирусы, бактерии, водоросли, грибы и лишайники, охватывает также мохообразные. В отличие от высших цветковых, или семенных, растений низшие растения называют также споровыми, в связи с тем, что они никогда не образуют цветков и семян, но могут размножаться спорами. Однако понятие «споровые растения» еще шире, чем «низшие» или «бессосудистые», поскольку к споровым принадлежат также хвощи, плауны и папоротники. Отсутствие цветков послужило основанием для присвоения низшим растениям еще одного названия — тайнобрачные (*Cryptogamen*).

Открытие в органическом мире двух кардинально различающихся типов строения клетки — прокариотического и эукариотического, между которыми отсутствуют какие-либо промежуточные формы, привело к пересмотру критериев деления органического мира на царства. В свете этих данных многие ученые разделяют органический мир на царства прокариот (*Procaryota*) и эукариот (*Eucaryota*). Вирусы и вириоды, не имеющие клеточной организации, в этой системе составляют отдельную группу доклеточных организмов.

Царство *Procaryota* насчитывает около 5 тыс. видов, включая бактерии (в широком смысле) и прокариотические водоросли. Все остальные живые существа, населяющие нашу планету (примерно 1,5 млн. видов) и имеющие клеточное строение, относятся к царству *Eucaryota*.

Некоторые ученые рассматривают прокариот и эукариот в ранге над царств, а в пределах надцарства *Procaryota* выделяют два царства: бактерии (*Bacteria*) и фотосинтезирующие

прокариотические организмы (Photoprocaroyota), а в пределах надцарства Eucaryota — три царства: растения (Vegetabilia), животные (Animalia) и грибы (Mycelalia).

Концепции пяти царств придерживаются Л. Маргелис и К. Шварц, причем в одно из этих царств (Mopera) они объединяют все прокариотические организмы, а к остальным четырем относят эукариотические (растения — Plantae, животные — Animalia, грибы — Fung и примитивные эукариоты — Protoctista). В последнее время в биологической литературе наблюдается тенденция к еще большему увеличению количества царств живой природы — до семи или даже до девяти. С другой стороны, Л. Диллон, напротив, считает, что биохимическое и клеточное единство жизни наилучшим образом может быть отражено в системе, включающей одно единственное царство живых существ.

Имеются также разногласия по поводу того, на каком уровне — прокариотическом или эукариотическом — произошла дифференциация живых организмов на растения и животные. Нередко это важное событие в биологической эволюции относят к эукариотическому уровню, в связи с чем, прокариотические водоросли исключают из системы растительного мира. Однако известно, что фотоэвтотрофный тип питания возник еще на прокариотическом уровне жизни и уже на этом уровне определил развитие живой материи по растительному пути.

Водоросли — слоевковые бессосудистые споровые растения — являются типичными представителями низших растений. Они характеризуются способностью к оксигенному фотосинтезу (фотоавтотрофному способу питания). Правда, среди них известны и бесцветные, и даже беспластидные (апо-пластидные) организмы, питающиеся гетеротрофно (сапротрофы, паразиты и организмы с голозойным способом питания). Однако в преобладающем большинстве случаев их генетические связи с окрашенными фотоавтотрофными формами не вызывают сомнений, и поэтому они рассматриваются как вторично гетеротрофные организмы, утратившие способность к фотоавтотрофному способу питания в результате приспособления к особым условиям существования в богатых органикой биотопах.

Водоросли – преимущественно обитатели водной среды, но многие (по-видимому, вторично) приспособились к жизни во вневодных местообитаниях – в почве и на ее поверхности, на скалах, стволах деревьев и в других наземных биотопах.

Понятие «водоросли» (Algae) является не систематическим, а биологическим. К водорослям относится ряд отделов растительного мира. Возникнув в разное время и, по-видимому, от разных предков, различные группы водорослей в дальнейшем развивались самостоятельно, но в результате конвергентной эволюции в сходных условиях обитания приобрели много сходных черт. Эта гетерогенность группы Algae нашла отражение в современных системах органического мира, в которых водоросли распределены между разными царствами (надцарствами) живой природы и расчленены на большое количество отделов и классов.

В основу настоящего издания положено деление водорослей на отделы, принятое Д.К. Зеровым, который относил водоросли к двум царствам Procaryota и Eucaryota. Однако в систему Д. К. Зерова внесены некоторые изменения. В нее введен недавно открытый отдел прокариотических зеленых водорослей (Prochlorophyta). Согласно требованиям «Международного кодекса ботанической номенклатуры» название отдела Chloromonadophyta заменено на Raphidophyta. Из-за неоднозначной трактовки объема отдела Pyrrhophyta мы употребляем наименование Dinophyta. Зеленые водоросли рассматриваем в качестве самостоятельного отдела Chlorophyta, из которого выделен отдел харовых – Charophyta. В связи с этим в настоящем справочнике принято следующее деление водорослей на отделы:

Прокариотические водоросли

Отдел 1. Синезеленые водоросли – Cyanophyta

Отдел 2. Прокариотические (первичные) зеленые водоросли Prochlorophyta

Эукариотические водоросли

Отдел 1. Эвглеиовые водоросли – Eugenophyta

Отдел 2. Динофитовые водоросли – Dinophyta

Отдел 3. Криптофитовые водоросли – Cryptophyta

Отдел 4. Рафидофитовые водоросли – Raphidophyta

- Отдел 5. Золотистые водоросли - Chrysophyta
- Отдел 6. Диатомовые водоросли – Bacillariophyta
- Отдел 7. Желтозеленые водоросли – Xanthophyta
- Отдел 8. Красные водоросли – Rhodophyta
- Отдел 9. Бурые водоросли – Phaeophyta
- Отдел 10. Зеленые водоросли – Chlorophyta
- Отдел 11. Харовые водоросли – Charophyta

Науку о водорослях – альгологию рассматривают как самостоятельный раздел ботаники. Водоросли изучают в морфологическом, цитологическом, генетическом, онтогенетическом, физиолого-биохимическом, экологическом, флористическом, систематическом, эволюционно-филогенетическом и некоторых других направлениях. Нередко их используют в качестве объектов для решения вопросов, относящихся к области других наук (биохимии, биофизики, генетики и др.) Данные альгологии нередко учитывают при разработке общебиологических проблем, а также хозяйственных задач. Водоросли являются неотъемлемым компонентом биоценозов.

С учетом обитания водорослей в различных местах, выделяют несколько экологических группировок водорослей, среди которых:

- Водные водоросли
- Планктонные водоросли
- Наземные водоросли
- Почвенные водоросли
- Водоросли горячих источников
- Водоросли снега и льда
- Водоросли известкового субстрата
- Водоросли листьев и коры деревьев и др.

На поверхности почвы нередко можно видеть невооруженным глазом различные разрастания – кожистые или войлокообразные пленки или слизистые слоевища синезеленых водорослей. Часто наблюдается также общее позеленение почвы, обусловленное массовым развитием микроскопических форм, рассеянных среди почвенных частиц.

Водоросли, населяющие толщу почвы, можно обнаружить лишь под микроскопом. Особенно хорошо заметны

водоросли при просмотре пробы почвы или почвенной суспензии в люминесцентном микроскопе. Кроме того, их можно обнаружить с помощью культур, помещая почву в благоприятную для роста водорослей среду и таким образом способствуя быстрому увеличению численности имеющихся в почве зачатков водорослей. Для выявления почвенных водорослей применяют два вида культур: водные, когда небольшое количество почвы вносят в колбу со стерильной питательной средой, и почвенные - когда почву помещают в чашки Петри, увлажняют и на ее поверхность кладут стерильные покровные стекла, на которых водоросли хорошо разрастаются. Культуры выдерживают на свету при комнатной температуре и по мере роста водорослей просматривают и определяют их состав.

Водоросли – это наиболее примитивные организмы из современных зеленых растений. На коре деревьев растут зеленые микроводоросли родов *Pleurococcus* (*P.vulgaris*), *Chlorella*, *Trentepohlia* (*Tr.umbrina*), *Stichococcus*, *Chlorococcum*, *Chlorella*. Во влажных тропиках на листьях деревьев преобладают трентеполиевые и синезеленые – *Phormidium*, *Scytonema*, *Schizothrix*. Наряду с зелеными и синезелеными могут обитать и диатомовые водоросли. На скалах поселяются *Stichococcus bacillaris*, *Chlorella elipsoidea*, виды рода *Chlorococcum* и др. На известковых скалах преобладают синезеленые микроводоросли.

К водорослям, обитающим во льдах и снегу, относятся *Chlamydoonas nivalis*, содержащая в своих клетках красный пигмент и поэтому при ее массовом размножении снег окрашивается в красный цвет. *Chlamydomonas flavor-virens* за счет своего пигмента при массовом размножении окрашивает снег или лед в желто – зеленый цвет. К обитателям снега и льда относится также и синезеленая водоросль *Glenodinium pascher*.

Водоросли встречаются не только на суше, но и в водных биотах любого типа. В соленых водах обитает зеленая микроводоросль *Dunaliella salina*, по своему строению похожая на хламидомонаду. Она содержит красный пигмент каротин и при массовом развитии и гибели клеток, выделившийся из разрушенных клеток пигмент, внедряется в рапу,

в результате этого соль окрашивается в красный цвет.

В соленых водах массово может размножаться синезеленая водоросль *Chlorogloea sarcinoides*, погибшие клетки которой накапливаются в иле. Ил, содержащий отмершие хлороглей, используются в лечебных целях.

В соленых водоемах обитают и бурые водоросли. Среди них есть кустистые, шнуroidные и древовидные формы, достигающие очень больших размеров.

Синезеленые водоросли являются обитателями и горячих источников.

Развитие прикладной альгологии происходит в трех основных направлениях: 1) обоснование способов непосредственного использования водорослей в медицине и в различных областях хозяйства; 2) поиски путей использования водорослей для решения природоохранных вопросов; 3) накопление данных о водорослях для решения задач других отраслей.

В течение последних десятилетий в развитии альгологии произошел качественный скачок, выдвинувший ее в ряд передовых наук современности. Особое значение для развития альгологии имело усовершенствование электронно-микроскопической техники и методов, биохимического анализа, а также разработка способов выделения аксенических культур и создание в разных странах коллекций штаммов микроводорослей. Все это стимулировало развитие экспериментальных работ. Расширение объема альгологических исследований привело к существенному увеличению информации о микроводорослях. В результате произошла дальнейшая дифференциация альгологии, и на стыке альгологии с другими науками возникли новые научные направления (палеоальгологическое, радиобиологическое и др.).

В недалеком будущем следует ожидать вычленения из альгологии дисциплин, аналогичных тем, которые уже выделились из раздела ботаники, посвященного высшим растениям. Стремление к новому, в общем созвучное с современным стилем научного мышления, привело к определенному перераспределению интересов исследователей водорослей: намного возросла, например, доля физиолого-биохимических и экологических работ, но значительно со-

кратилась доля исследований, проводимых в традиционных (морфологическом, систематическом и др.) направлениях

Вместе с тем, недооценка значимости работ в традиционных направлениях (содержание которых ничем заменить нельзя) опасна, она может привести даже к кризисному состоянию альгологии. Необходимо гармоническое развитие всех направлений альгологии (как новых, так и традиционных) в сочетании с глубоким целенаправленным теоретическим и методологическим анализом и синтезом полученных знаний. Такой подход приведет не только к вычленению из альгологии частных отраслей, но и к становлению общей альгологии как самостоятельного раздела науки о водорослях, специально посвященного общим закономерностям структурной организации и функционирования низших фотоавтотрофных организмов.

Обитая в ризосфере, почвенные микроводоросли взаимодействуют с корнями растений (в ризосфере, как правило, преобладают зеленые и синезеленые микроводоросли).

Значительное большинство их представлено микроскопическими формами, которые являются постоянной и характерной составной частью живого микромира почвы. И только при массовом их разрастании можно увидеть невооруженным глазом на поверхности позеленение (цветение почвы) или образование корочки (например, при массовом развитии *Nostoc commune*).

Экологическими особенностями почвы являются ее сложность, гетерогенность, регулярное самообновление и поэтому почвообитающие микроорганизмы существуют в очень сложных условиях, обусловленных очень сложным с огромной удельной поверхностью пространством почвы, заполненной водой и воздухом в постоянно меняющихся соотношениях.

Почва, как биотоп, имеет сходство как с водными, так и с воздушными местообитаниями, потому что в почве есть воздух насыщенный водяными парами, что обеспечивает дыхание микроорганизмов атмосферным воздухом без угрозы высыхания, а также и влага. Поэтому почва очень широко используется организмами как промежуточная среда при переходе от водного образа жизни к наземному.

Природные группировки микроводорослей в почвах являются составной частью в соответствующих почвенных биоценозах, объединяющих всех обитателей почвенного слоя.

Все биоценозы почвы можно разделить на ценозы наземные, в которых все организмы обитают на поверхности почв, камней и всяких других субстратов. Такие ценозы составляют аэрофитон.

И вторая группа ценозов – это ценозы, находящиеся внутри почв (эдафон) и в глубине каменистого субстрата (эндолиитофитон). Представители этой группы ценозов являются переходной группой между гидрофилами и аэрофилами.

По систематическому и видовому составу почвенные микроводоросли достаточно разнообразны. Среди них Cyanophyta (синезеленые), Chlorophyta (зеленые), Xanthophyta (желтозеленые), Bacillariophyta (диатомовые), Euglenophyta (эвгленовые), Chrysophyta (золотистые), Pyrrophyta (пирофитовые), Rhodophyta (багрянки).

Среди них самыми многочисленными являются синезеленые, зеленые, диатомовые и разножгутиковые микроводоросли. Их представляют виды родов *Nostoc*, *Microcoleus*, *Prasiola*, *Phormidium*, *Trentepohlia*, *Chloococcum*, *Chlorella*, *Botrydium*, *Vaucheria*, *Gloeocapsa*, *Stigonema* и др.

В наибольшем количестве видов представлены синезеленые микроводоросли (Cyanophyta), зеленые (Chlorophyta) и диатомовые (Bacillariophyta).

К почвенным зеленым микроводорослям относятся *Chlamydomonas atactogama*, *Chlorella vulgaris*, *Chroococcum humicola*, *Macrochloris dissecta*, *Chlorochytrium paradoxum*, *Characium acuminatum*, *Ankistrodesmus falcatus*, *Scenedesmus obliquus*, *Ulotrix tenerrima*, *Phormidium nitens*, *Stichococcus bacillaris*, *Prasiola crispa*, *Gongrosira terrola*, *Microspora tamidula*, *Vaucheria geminate*, *Mesotaenium macrococcum*, *Closterium moniliferum*, *Cosmarium anseps*, *Bumilleria vulgaris* и др.

К почвенным сине-зеленым микроводорослям относятся *Microcystis pulveria*, *Aphanothece castagnei*, *Gloeocapsa minuta*, *Nostoc commune*, *Nostoc microsporium*, *Anabaena variabilis*, *Cylindrospermum licheniforme*, *Cylindrospermum musciola*, *Tolypothrix tenuis*, *Calothrix elenkinii*, *Phormidium autumnale*,

Lyngbya martensiana, *Micrococcus vaginates*, *Plectonema edaphicum*.

Среди почвенных диатомовых микроводорослей очень часто встречаются *Navicula mutica*, *Pinnularia borealis*, *Hantzschia amphioxys*, *Nitzschia bantzschiana*.

Характерными, хотя и не столь многочисленными, являются желтозеленые микроводоросли (Хантофита) и эвгленовые (Евгленофита). Почвенные желтозеленые – это *Pleurochloris magna*, *Botrydiopsis eriensis*, *Ellipsoidion regulare*, *Monodus acuminata*, *Characiopsis minutissima*, *Bumilleriopsis brevis*, *Heterothrix exilis*, *Bumilleria klebsiana*, *Tribonema vulgare*, *Botrydium granulatum*.

Из почвенных золотистых, красных (или багрянок) и эвгленовых микроводорослей очень часто встречаются *Euglena mutabilis*, *Trachelomonas robusta*, *Porphyridium cruentum*, *Chrootheca richterianum*, *Chrysococcus rufescens*, *Cryptomonas erosa*.

Вопросы альгологизации почв впервые были затронуты в работах Дэ, обратившего внимание на стабильность урожая риса в Индии при монокультуре без внесения удобрений. Оказалось, что на рисовых полях Индии обитает большое количество синезеленых микроводорослей, среди которых много азотфиксирующих форм. Очевидно, что применение микроводорослей в качестве биоудобрения является экономически выгодным и более безопасным для окружающей среды по сравнению с химическими удобрениями.

2.2 Уровни организации и уровни индивидуальности

К числу основных понятий современной биологии принадлежит понятие об уровнях организации живых объектов (как сложных динамических систем взаимосвязанных элементов), характеризующихся определенной целостностью и качественным своеобразием.

Говорят о молекулярном, клеточном, организменном, популяционном, ценоотическом и других уровнях, нередко объединяемых в один линейный ряд, в котором низший уровень организации входит в состав следующего по принципу иерархичности (ступенчатого соподчинения). Пра-

вильнее, однако, говорить не об одном, а о нескольких иерархических рядах, принципиально различающихся по форме организации биологических объектов. Так, К. М. Завадский различает четыре основные формы организации живого, составляющие первичный иерархический ряд: организменная, популяционно-видовая, биоценотическая и биоструктурная (учитывающая как фауну и флору замкнутых биогеографических областей, так и биосферу в целом). Для каждой из этих четырех основных первичных форм организации могут быть построены иерархические ряды уровней организации, соответствующие главным (иерархически соподчиненным) ступеням эволюции.

В организменной форме организации живого, исходя из современных данных, целесообразно, прежде всего, выделять: доклеточный (в частности вироидный), прокариотический и эукариотический (включая мезокариотический) уровни организации и в их пределах различать свои иерархические ряды строения живых объектов. Здесь мы напомним только, что большинство водорослей относится к эукариотическому уровню организации, или ступени эволюции, и только отделы синезеленых (*Cyanophyta*) и первичных зеленых (*Prochlorophyta*) водорослей — к прокариотическому.

Особи прокариотических и эукариотических микроводорослей нередко живут одиночно, но очень часто образуют разнообразные соединения, в том числе колонии. Степень целостности и обособленности этих соединений может меняться в процессе жизненного цикла микроводорослей и зависит от условий окружающей среды. В связи с этим существенное значение приобретает проблема уровня индивидуальности микроводорослей. Этот вопрос подробно рассмотрен на примере *Cyanophyta*.

Индивиду в смысле «особь», «организм» у одноклеточных синезеленых микроводорослей наиболее соответствует свободноживущая клетка, у многоклеточных — обособленная нить, содержащая один трихом. Такие индивиды с позиций проблемы индивидуальности называются «простыми», нити, содержащие более одного трихома, а также наиболее целостные колонии — колониальными индивидами

(колониальными организмами), менее целостные, но все же телесно непрерывные соединения особей - колониями индивидов. На рисунке 5 изображены некоторые представители микроводорослей, обитающих в почве.

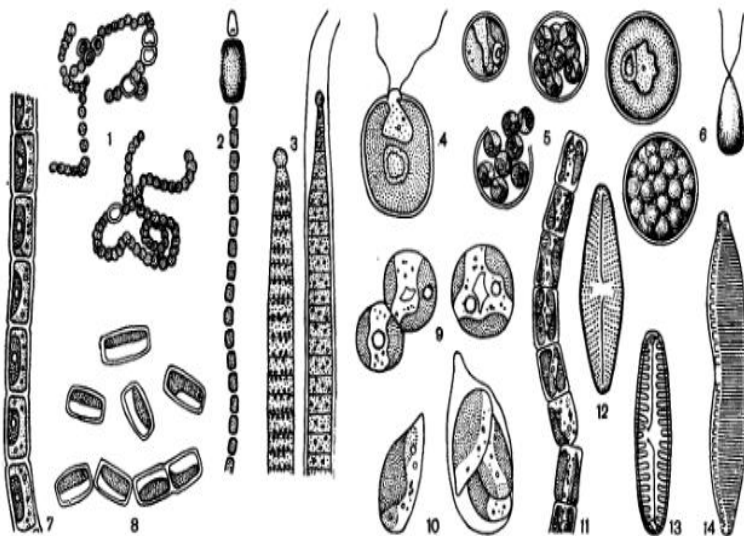


Рис. 5 – Микроводоросли, обитающие в почве:
 1-3 Синезеленые (1-*Nostoc microscopicum*;
 2 *Cylindrospermum licheniforme*, 3-*Phormidium autumnale*),
 4-8 Зеленые водоросли (4-*Chlamydomonas atactogama*,
 5-*Chlorella vulgaris*, 6-*Chlorococcum humicola*,
 7-*Hormidium nitens*, 8-*Stichococcus bacillaris*);
 9-11 Желтозеленые водоросли (9- *Pleurochloris magna*,
 10 – *Monodus acuminata*, 11 *Heterotrix exilis*, участок нити);
 12-14 Диатомовые водоросли
 (12-*Navicula mutica*; 13-*Pinnularia borealis*;
 14-*Hantzschia amphioxys*).

Организмами колонии индивидов считать нельзя — они являются одновременно и индивидами и не индивидами. Еще в большей степени это касается физически непрерывных комплексов индивидов, переходящих в комплексы пространственно разобщенных особей.

Таким образом, наряду с уровнем организации живых объектов следует учитывать также уровень их индивидуальности. В заключение подчеркнем, что уровни организации живых объектов следует отличать от уровней их изучения. Вид микроводорослей, например, можно исследовать не только на уровне особей, но и на уровне популяций; индивид — на молекулярном, клеточном и других уровнях. Строение микроводорослей обычно изучают на клеточном и организменном уровнях. Именно результатам такого исследования посвящен первый раздел. В последнее время, однако, многие альгологии стали рассматривать популяцию водорослей как особый объект исследования; появилось стремление к познанию закономерностей популяционной структуры вида.

2.3 Строение клетки

Существуют разнообразные типы клеток микроводорослей. Их выделяют по форме (шаровидные, цилиндрические и т. д.), функциям (половые, вегетативные, способные и не способные к фотосинтезу и др.), расположению (интеркалярные, базальные, апикальные и др.) и пр. Но наиболее принципиальным в наши дни считается классифицирование клеток по особенностям их тонкого строения, обнаруживаемого с помощью электронного микроскопа. С этой точки зрения различают, прежде всего, клетки, содержащие типичные ядра, т. е. ядра, окруженные ядерными оболочками (мембранами), и клетки, не имеющие типичных ядер, окруженных ядерными оболочками. В первом случае говорят об эукариотическом строении клетки, во втором — о прокариотическом.

Прокариотическое строение клетки имеют бактерии, синезеленые микроводоросли (Cyanophyta) и первичные зеленые микроводоросли (Prochlorophyta), эукариотическое —

представители всех других отделов микроводорослей, а также грибы, высшие растения и животные. Выделяют также и мезокариотические организмы, клетки которых имеют черты, характерные как для эукариотических, так и прокариотических клеток. Однако все мезокариотические организмы (к ним относят водоросли из отдела *Dinophyta*) имеют ядра, окруженные ядерными оболочками, поэтому их целесообразно рассматривать среди эукариот.

Среди прокариотических (первичных) зеленых микроводорослей (*Prochlorophyta*) лучше всего изучены одноклеточные формы с шаровидными клетками 6–30 мкм в диаметре (рис. 6). К синезеленым микроводорослям принадлежат как одноклеточные, так и нитчатые многоклеточные (трихомальные) организмы, способные образовывать разнообразные колонии с одноклеточными или многоклеточными цианоидами (рис. 7). Ширина клеток синезеленых микроводорослей чаще всего находится в пределах 2–10 мкм.

Одноклеточные индивиды и одноклеточные цианоиды колоний синезеленых микроводорослей чаще всего шаровидные или эллипсоидные (после деления полушаровидные), реже вытянутые, до цилиндрических и веретеновидных, прямые или согнутые, иногда грушевидные и др. У прикрепленных одноклеточных индивидов (а иногда и у одноклеточных цианоидов) нередко наблюдается гетерополярность клеток и образование слизистых ножек и дисков, которыми клетки прикрепляются к субстрату.

Интеркалярные (срединные) клетки трихомов шаровидные, овалоидные, дисковидные или цилиндрические, на поперечном срезе круглые или слегка сжатые, и только у представителей рода *Gomoriella* Teod. серповидные, а у *Starria* Lang. — трехрадиальные. Апикальные (конечные) клетки на верхушке округленные, несуженные или конические, но бывают острыми и головчатыми. Трихомальные индивиды *Synophyta* могут состоять только из клеток, внешне сходных между собой, т. е. недифференцированных по форме и, вероятно, функции — т. н. гомоцитные трихомальные индивиды, или из клеток, явно отличающихся по форме и функциям — т. н. гетероцитные трихомальные индивиды.

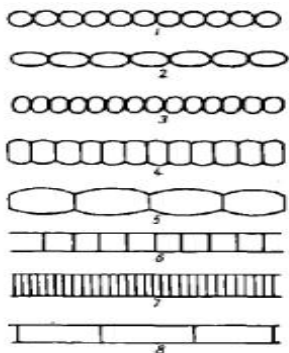


Рис. 6 – Основные формы трихомов и клеток, образующих трихома клетки:

- 1-шаровидные;
- 2-удлинненно-эллипсоидные;
- 3-коротко-эллипсоидные;
- 4-коротко-боченковидные;
- 5-удлинненно-боченковидные;
- 6-квадратно-цилиндрические;
- 7-дисковидно-цилиндрические;
- 8-удлинненно-цилиндрические;
- Трихомы: 1-3-четковидные;
- 4-5-перетянутые;
- 6-8-цилиндрические (не перетянутые)

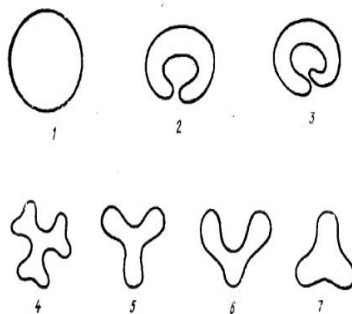


Рис. 7 – Форма клеток гормогониевых водорослей на срезе, поперечном к главной оси нити:

- 1-круговидная;
- 2,3-полукольцевидная, или серповидная;
- 4-7-трехрадиальная

В общем, у синезеленых микроводорослей различают такие основные типы клеток: 1) клетки одноклеточных индивидов и одноклеточные цианонды колоний; 2) клетки гомоцитных трихомальных индивидов, 3) вегетативные клетки гетероцитных трихомальных индивидов; 4) особые клетки (гетероцисты, акинеты и др.) индивидов.

Ниже, когда речь идет о строении (и размерах) клеток *Cyanophyta* без указания их типа, имеются в виду клетки трех

первых типов. При описании особых клеток везде приведено их наименование.

В связи с тем, что основная масса известных видов прокариотических водорослей принадлежит к отделу Cyanophyta, сведения, приведенные в настоящем разделе, касаются по сути клеток синезеленых водорослей.

Клетка синезеленых микроводорослей состоит из клеточных покровов и внутреннего содержимого — протопласта, к которому относятся плазмалемма и цитоплазма с различными внутрицитоплазматическими структурами (фотосинтетический аппарат, ядерный эквивалент, рибосомы и другие).

К клеточным покровам принадлежат все структуры, окружающие протопласт: клеточные оболочки, слизистые обертки и особые трубчатые образования — т. н. влагалища.

Клеточная оболочка (клеточная стенка). Клетки синезеленых микроводорослей всегда окружены хорошо развитыми слоистыми жесткими оболочками, которые обуславливают форму клеток, выполняют опорную и защитную функцию. Толщина оболочки в среднем равна 35—50 нм, реже больше. У акинет и гетероцист оболочка толще, чем у вегетативных клеток. Части клеточных оболочек, расположенные на границе двух смежных клеток одной нити, называются поперечными перегородками. Считают, что в поперечных перегородках присутствуют субмикроскопические поры и микроплазмодесмы, соединяющие протопласты соседних клеток три влагалища и нередко слизистые обертки окружают многие клетки. В последнее время эти образования совместно с клеточной стенкой и цитоплазматической мембраной предложено называть клеточной оберткой.

2.4 Размножение

Воспроизведение себе подобных у водорослей совершается посредством вегетативного, бесполого и полового размножения.

Вегетативное размножение одноклеточных водорослей заключается в делении особей надвое. У многоклеточных водорослей оно происходит несколькими способами, в том числе при механическом разрушении слоевища на части (волнами, течением, в результате погрызов животными) или вследствие процессов, сопровождающихся распадением нитей на многоклеточные или одноклеточные части. Например, делению нитей синезеленых водорослей на части нередко предшествует отмирание отдельных клеток. Иногда для вегетативного размножения служат специальные образования.

Вегетативное размножение представляет собой форму бесполого размножения, осуществляемого вегетативными частями. Бесполое размножение сопровождается, во-первых, делением протопласта клетки на части и, во-вторых, выходом продуктов деления из оболочки материнской клетки. При этом перед делением протопласта в нем происходят какие-то не вполне изученные процессы физиологической перестройки, ведущие к его омоложению. Выход продуктов деления из оболочки материнской клетки — наиболее существенное отличие настоящего бесполого размножения от вегетативного. Бывает, что в клетках образуется по одной споре, но, в отличие от акинет, они покидают оболочку материнской клетки.

Бесполое размножение водорослей происходит посредством спор или зооспор (спор со жгутиками). Они образуются или в клетках, не отличающихся по форме от других клеток, или в особых клетках, называемых спорангием и, которые нередко имеют другие размеры и форму, чем вегетативные. Главное отличие спорангиев от других клеток заключается в том, что они возникают как выросты обычных клеток и выполняют только функцию образования спор. Отличительная особенность спор и зооспор — упрощенная по сравнению с обычными клетками форма и мелкие размеры. Они бывают

шаровидными, эллипсоидными или яйцевидными, покрытыми оболочкой или без нее.

Синезеленые водоросли, являющиеся прокариотами, имеют два рода спор — эндоспоры и экзоспоры. Эндоспоры образуются по нескольку в клетках в результате дробления содержимого. Экзоспоры возникают как вырост протопласта на вершине клетки (только у одноклеточных представителей порядка хамецифоновых); по мере его роста в длину появляются перетяжки, отчленяющие шаровидные споры.

Образованию спор и зооспор у эукариотических водорослей как в спорангиях, так и в вегетативных клетках предшествует деление ядра. При этом в зависимости от особенностей цикла развития может происходить редукция числа хромосом (мейоз). Дочерние ядра равномерно распределяются в цитоплазме. Одновременно делятся хлоропласты и другие органеллы, после группировки их вокруг отдельных ядер происходит деление цитоплазмы и окончательное формирование спор или зооспор. У некоторых динофитовых водорослей зооспоры образуются почкованием на поверхности материнской клетки.

У большинства эукариотических водорослей бесполое размножение осуществляется посредством зооспор. В одной клетке или спорангии их может быть от одной (эдогониум из зеленых) до нескольких сотен (кладофора из зеленых). Зооспоры могут иметь различное строение, что в известной мере отражает различия в строении одноклеточных водорослей, бывших предками соответствующих групп. Зооспоры бывают с одним, двумя, четырьмя или множеством жгутиков; в последнем случае они располагаются венчиком на конце.

У водорослей можно встретить несколько типов спор. Многие хлорококковые из зеленых и желтозеленых имеют споры, одевающиеся оболочкой внутри материнской клетки. Такие споры называют апланоспорами. При образовании особо утолщенной оболочки их именуют гипноспорами, так как они способны длительный срок находиться в состоянии покоя. Гипноспоры формируются по одной в клетке, но, в отличие от акинет, оболочка материнской клетки не участвует в образовании их оболочки. Иногда апланоспоры сразу в

материнской клетке приобретают форму, подобную ей. В таких случаях говорят об автоспорах.

2.5 Физиологические особенности почвенных микроводорослей

Интенсивное развитие почвенных микроводорослей, как фототрофных организмов, возможно только в пределах проникновения света, в так называемом фототрофном слое. Наибольшее количество микроводорослей во всех случаях (за исключением нарушенных вспашкой земель) обнаруживается в верхних слоях почвы. В зависимости от влажности почвы и от наличия растительного опада максимум микроводорослей наблюдается или на самой поверхности почвы или несколько глубже, но в пределах нескольких сантиметров. В нижележащих горизонтах уменьшается как количество видов, развивающихся в культурах, так и количество клеток.

Максимальная глубина, на которой были найдены жизнеспособные водоросли - 2,7 м в окультуренной почве и 1,5 м - в целинной.

Активная жизнь микроводорослей в почве за пределами проникновения света доказывается прямыми наблюдениями: при микроскопировании почвы просматриваются клетки морфологически целые и нормально окрашенные. Люминесцентное микроскопирование обнаруживает интенсивную флуоресценцию хлорофилла микроводорослей в пробах, взятых из глубоких слоев почвы.

2.5.1 Метаболизм

Почвенные микроводоросли - не единственный пример их жизни в темноте. Известно нахождение живых микроводорослей в пещерах на далеком расстоянии от входа, под арктическими льдами и на глубинах океана, в фитопланктоне на такой глубине, где интенсивность света менее 0,06-0,07% от наружной.

Почвенные микроводоросли не имеют уникальных физиологических свойств, но отражают своеобразие почвенной

среды (I.Lund, 1962). Разнообразии способов питания является особенностью почвенных микроводорослей.

Микроводорослям свойственна фототрофия (фотолитотрофия и фотоорганотрофия) и хемотрофия (хемлитотрофия и хемоорганотрофия). Большинство микроводорослей представляют собой фотолитоавтотрофы. Многие микроводоросли способны переходить от одного типа обмена к другому.

Облигатные автотрофы (фотоавтотрофы), живущие за счет только фотосинтеза и, следовательно, только в пределах проникновения света в заселенный ими субстрат, обнаружены в разных отделах водорослей, хотя предполагается, что их немного среди почвенных микроводорослей. К ним относятся некоторые виды диатомей, из зеленых - ряд видов хлорококковых и хламидомонад, некоторые цианобактерии.

По поводу облигатной автотрофии цианобактерий существуют различные мнения. С одной стороны существуют многочисленные сведения о том, что синезеленые микроводоросли - облигатные автотрофы (A.Smith, 1973; T.Brock, 1973). С другой - есть бесспорные доказательства гетеротрофии у абсолютно чистых культур - представителей Cyanophyta (N.Carr, 1973; A.Smith, 1973).

До какой глубины возможно фототрофное питание в почве? Проникновение света, очевидно, ограничивается несколькими миллиметрами. При наличии трещин эта глубина увеличивается до нескольких сантиметров. Проникновение света зависит от свойств почвы, от наземной растительности и толщины опада, от влажности почвы.

Нужно помнить, что многие микроводоросли являются облигатно теневыми растениями и могут использовать для фотосинтеза свет очень слабой интенсивности. Фотосинтез водорослей возможен при интенсивности света 0,04-0,1% от полного света (М.М.Голлербах, Э.А.Штина, 1969).

Облигатные автотрофы способны к разным способам усвоения углерода. Это организмы, у которых восстановление CO_2 идет по типу фотосинтеза, фоторедукции или хемосинтеза. Клетки некоторых микроводорослей могут осуществлять сразу три процесса восстановления CO_2 - фотосинтез, фоторедукцию и хемосинтез, продукты которых очень близ-

ки. Так *Scenedesmus quadricauda* и *Chlorella vulgaris* на свету осуществляют фотосинтез или фоторедукцию, в темноте - хемосинтез.

Фоторедукция - фотосинтез бескислородного типа. Многие цианобактерии осуществляют бескислородный фотосинтез. При этом синтез АТФ в клетке сопряжен только с циклическим электронным транспортом, связанным с фотосистемой I. В качестве экзогенных доноров электронов цианобактерии могут использовать некоторые восстановленные соединения серы (H_2S , $Na_2S_2O_3$), молекулярный водород, ряд органических соединений (сахара, кислоты). Предполагают, что процесс бескислородного фотосинтеза может протекать у цианобактерий двумя путями:

1. фотосистема I индуцирует как циклический, так и нециклический транспорт электронов. Вследствие функционирования обоих электронных потоков фотохимическим путем образуются АТФ и НАДФ \cdot H $_2$, используемые для ассимиляции CO $_2$ в цикле Кальвина. В этом случае процесс бескислородного фотосинтеза цианобактерий сходен с таковым зеленых бактерий.

2. функция фотосистемы I сводится к получению клеточной энергии в процессе циклического фосфорилирования. Восстановитель образуется в темновых реакциях. Этот вариант близок к схеме фотосинтеза, осуществляемого пурпурными бактериями.

В настоящее время способность к бескислородному фотосинтезу обнаружена у многих цианобактерий из разных групп, но активность фиксации CO $_2$ за счет этого процесса низка, составляя несколько процентов от скорости ассимиляции CO $_2$ в условиях функционирования обеих фотосистем. Только некоторые цианобактерии могут расти за счет бескислородного фотосинтеза, например *Oscillatoria limnetica*, выделенная из озера с высоким содержанием сероводорода, термофильный штамм *Spirulina*, компонент микрофлоры термального сероводородного источника (М.В.Гусев, Л.А.Минеева, 1985).

Способность цианобактерий переключаться при изменении условий с одного типа фотосинтеза на другой служит иллюстрацией гибкости их светового метаболизма, имеющей

важное экологическое значение. Однако считается, что широкого распространения в природе процессы фоторедукции и хемосинтеза у водорослей не имеют, так как условия для их протекания слишком специфичны.

Давно известна способность многих микроводорослей к усвоению органических веществ в темноте и на свету в отсутствии CO_2 . Многие микроводоросли, особенно зеленые, обладают лабильным обменом веществ и способность переключаться от фототрофного до темного хемогетеротрофного, в зависимости от условий среды. Степень проявления разных типов питания в метаболизме микроводорослей регулируется различными экологическими факторами, важнейшие из которых - освещенность, состав и количество органических и минеральных веществ в среде, окислительно-восстановительные условия и pH среды.

Способность к гетеротрофному росту отмечена у зеленых, диатомовых, желтозеленых. В отношении способности цианобактерий к гетеротрофному росту существуют противоречивые мнения. Брок (T. Brock, 1973) подчеркивает отсутствие роста в гетеротрофных условиях как одну из экологических особенностей синезеленых. Смит (A. Smith, 1973) и Кар (N. Carr, 1973) приводят доказательства гетеротрофии у бактериологически чистых культур синезеленых микроводорослей. Совершенно неспособными к росту в темноте оказались микроводоросли, лишенные слизистой капсулы. Рост в темноте идет всегда медленнее, чем на свету.

При сравнении микроводорослей из разных экологических условий наибольший процент сапротрофных видов дали почвенные микроводоросли (Я.В. Тоом, 1969).

В экспериментах, доказывающих способность водорослей расти гетеротрофно в темноте, обычно использовались в качестве источника углерода сахара и органические кислоты. Простых органических веществ в почве мало, зато множество почвообитающих микроорганизмов, более конкурентоспособных вследствие своей облигатной гетеротрофности. Микроводоросли - факультативные гетеротрофы - не способны к разложению сложных веществ, которое производится лишь облигатными гетеротрофами. Поэтому рост в темноте водо-

рослей может лишь в ассоциации с облигатными гетеротрофами (В. Parker, 1961).

В отличие от способности жить в темноте полностью за счет органического вещества (хемоорганотрофно), свойственной лишь некоторым микроводорослям, усвоение тех или иных органических веществ на свету одновременно с фотосинтезом (фотоорганотрофия или миксотрофия), присуще большинству микроводорослей.

Особое значение для роста имеют органические вещества при условии недостаточной интенсивности света. При слабом освещении органические вещества могут действовать косвенно, через стимуляцию роста бактерий.

У многих цианобактерий экзогенные органические вещества действуют по-разному в темноте и на свету. *Anabaena variabilis* энергично потребляет глюкозу и ацетат на свету, хотя в темноте не росла ни на одном из органических веществ. Хемогетеротрофный рост цианобактерий всегда немного медленнее фотогетеротрофного и особенно фотоавтотрофного.

В настоящее время достоверно доказанными и имеющими реальное значение в природе считаются два способа питания почвенных микроводорослей:

1) фототрофное и миксотрофное питание в пределах проникновения света

2) гетеротрофное питание в темноте.

Способность переходить на гетеротрофный образ жизни в толще почвы наиболее выражена у зеленых и желтозеленых микроводорослей.

Известны формы микроводорослей, которые относятся к числу ауксотрофных организмов и нуждаются в экзогенных источниках некоторых физиологически активных веществ, в частности витаминах B_1 , B_{12} , в биотине.

В отношении азотного питания микроводоросли подобны зеленым растениям. Они хорошо усваивают минеральные формы азота - нитраты и аммонийные соли. Усвоение NO_3 и NH_4 клетками микроводорослей подчиняется тем же закономерностям, которые найдены Д.Н. Прянишниковым для высших растений (Д.Н. Прянишников, 1945).

Специфическим способом ассимиляции азота является фиксация молекулярного азота, свойственная некоторым цианобактериям, являющимся уникальными организмами, сочетающими в одной клетке фотосинтез и способность к усвоению молекулярного азота.

Как факультативная форма азотного питания для водорослей показано усвоение азота из органических соединений. В противоположность ограниченной способности использовать органические вещества как источник углерода, многие цианобактерии могут получать азот в органической форме, вырабатывая соответствующие ферменты.

Мочевина, амиды, аминокислоты хорошо используются для азотного питания зелеными микроводорослями.

По потребности в других элементах и способам их усвоения микроводоросли принципиально не отличаются от высших растений, хотя у отдельных видов и отделов обнаруживаются специфические особенности.

2.5.2 Приспособительные особенности

Микроводоросли, живущие в почве и на ее поверхности, имеют разнообразные морфологические приспособления, обеспечивающие им существование при низкой влажности почвы и сохранение жизнеспособности при высыхании.

Почвенные микроводоросли - преимущественно пойкилоксерофиты, т.е. растения, не регулирующие водный режим и существующие за счет увлажнения после выпавших осадков.

Ряд морфологических и физиологических особенностей почвенных водорослей обеспечивают поглощение и удержание воды, а также сохранение жизнеспособности при засухе.

1. Обильное образование слизи - слизистых чехлов и оберток, широко распространенных у зеленых и синезеленых микроводорослей. Они состоят из гидрофильных коллоидных полисахаридов и способны поглощать и удерживать воду.

2. Мелкие размеры почвенных микроводорослей. Мелкие клетки легче перемещаются в почве, более устойчивы против засухи, имеют большую водоудерживающую спо-

способность, легче распространяются с пылью. Например, в дерново-подзолистой почве (Домрачева, Штина, 1985) клетки с диаметром менее 10 мкм составили 60% общего количества клеток.

3. У многих почвенных микроводорослей отсутствуют зооспоры, жгутиковые формы обладают слабой подвижностью. Период увлажнения после засухи приводит к быстрому образованию гамет и зооспор, например у зеленых, которые обладают фототаксисом и распространяются на поверхности почвы.

4. "Эфемерность" вегетации - способность почвенных микроводорослей быстро переходить из состояния покоя к активной вегетации и, наоборот, без образования особых стойких спор и специфических стадий.

5. Протопласт обладает физиолого-биохимическими особенностями, которые обеспечивают высокую засухоустойчивость даже видам, не имеющим чехлов. Эти особенности - вязкость протоплазмы и устойчивость против плазмолиза; высокая концентрация клеточного сока и относительно высокое содержание связанной воды в клетке; отсутствие крупных вакуолей и большая сосущая сила, позволяющая использовать даже гигроскопическую влагу воздуха; накопление масла (у диатомей).

6. Снижение интенсивности дыхания в клетке по мере ее обезвоживания. При этом дыхание сохраняет свою энергетическую полноценность, что видно по количеству органического кислоторастворимого фосфора, который не разрушается при высыхании у пойкилоксерофитов. При обезвоживании сохраняется вся организация клетки, происходит "телефикация протоплазмы", и растение переходит из жизнедеятельного в не жизнедеятельное, но жизнеспособное состояние.

Есть много примеров большой выносливости и длительного сохранения жизнеспособности в сухом состоянии. *Nostoc commune* был оживлен после 107-летнего хранения в гербарии.

Наиболее устойчивыми к засухе считаются синезеленые микроводоросли, особенно спорообразующие, и ряд одно-

клеточных зеленых, в частности хлорококковые. Наименее засухоустойчивы диатомеи и желтозеленые микроводоросли.

Почвенные микроводоросли распространены до аридных почв, где поверхность почвы нагревается до 50-70°, что заставляет предположить значительную стойкость протопласта этих микроводорослей к высоким и низким температурам. Теплоустойчивость микроводорослей зависит от продолжительности действия температуры, от влажности и от природы микроводорослей, причем особенно устойчивы одноклеточные зеленые. Устойчивость к экстремальным температурам связана с экологическими условиями, из которых выделены исследуемые микроводоросли.

Микроводоросли, выделяемые из лесных почв, заметнее ингибировались высокими температурами, чем пустынные почвенные.

Как и в отношении засухоустойчивости, отмечаются две группы микроводорослей, отличающиеся высокой теплоустойчивостью – синезеленые и локкоидные зеленые.

Тепловую границу сохранения жизнеспособности, однако, надо отличать от температурных границ роста; например, для *Chlorella protothecoides* тепловая смерть наступала во влажных условиях при 44-46°C, в сухих - при 64-67°C, а кардинальные температурные точки роста были минимум 5-6°C, оптимум - 27°C, максимум - 30-31°C (Э.А.Штина, М.М.Голлербах, 1976). Почвенные водоросли выдерживают и максимально низкие температуры. Известны примеры выживаемости при - 80°C. Возможно, что гибель при замораживании связана с потерей воды и поэтому одни и те же виды бывают одновременно засухоустойчивыми и холодоустойчивыми.

Среди почвенных микроводорослей нет отдела, в котором бы не встречались холодостойкие виды, наибольшее количество холодостойких форм известно среди зеленых и синезеленых микроводорослей, которые преобладают в альгофлоре Антарктиды. Среди них есть светолюбивые и тенелюбивые формы. Часто светолюбивые связаны с засухоустойчивостью. Теневыносливыми считаются желтозеленые микроводоросли, поскольку они обычно развиваются в поверхностных слоях почвы. Однако, желтозеленые могут

интенсивно развиваться и на открытой поверхности почвы, вызывая ее "цветение". Диатомовые микроводоросли могут активно передвигаться в почве в зависимости от степени освещения. Устойчивостью против ультрафиолетового облучения обладают синезеленые микроводоросли. Этим пользуются для получения бактериологически чистых культур, поскольку УФ-лучи губят бактерии. УФ-облучение в течение 30с - 5 минут стимулировало рост и азотфиксирующую активность цианобактерий.

Почвенные микроводоросли проявляют активность против радиоактивных излучений. При исследовании разрушенной взрывом почвы в районе ядерных испытаний в штате Невада обнаружено, что первыми в ней из растений появились микроводоросли. *Microcoleus vaginatus* был обнаружен через 3 месяца после взрыва на расстоянии 0,6 мили от места взрыва, через 10 месяцев - на расстоянии 0,4 мили. Другие растения появились лишь через 2 года в 0,6 мили от эпицентра. Гамма-радиацию от Co_{60} используют для очистки синезеленых микроводорослей от бактерий.

При росте на засоленных почвах, микроводоросли проявляют еще одну черту высокой толерантности - солеустойчивость. Клетки *Zygonium ericetorum* остаются неплазмолитизированными в 10%-ном растворе солей морской воды с осмотической концентрацией 75 атм.

Микроводоросли устойчивы к отдельным токсическим солям или ионам - они поселяются на поверхности зольных промышленных отвалов, содержащих Al_2O_3 в отвалах с мышьяком и цианистым калием (Э.А.Штина, 1984).

Таким образом, почвенные микроводоросли способны существовать даже при крайне неблагоприятных условиях среды. Лабильность обмена веществ, высокая устойчивость против засухи, резких колебаний влажности и температуры, против недостатка и избытка света, засоленности почвы и т.п. объясняют широкое распространение почвенных и наземных микроводорослей и быстроту их разрастания даже при кратковременном проявлении необходимых факторов.

3. ГЕОГРАФИЯ ВОДРОСЛЕЙ

Вопросы географии водорослей разработаны еще крайне слабо. Особенно это касается водорослей континентальных водоемов. Тем не менее, уже сейчас накоплен довольно большой материал по отдельным группам, позволяющий достаточно полно осветить некоторые аспекты географии водорослей. Благодаря широкой приспособленности к разнообразным условиям существования, водоросли распространены по всему земному шару повсеместно. От полярных широт до тропиков, от глубин океанов до высоких гор в несколько тысяч метров над уровнем моря, в воде и на суше, в снегу, льдах и горячих источниках — всюду встречаются водоросли (С.П. Вассер и др., 1989).

Пути распространения водорослей, как и других растений, весьма многообразны и в достаточной мере обеспечивают повсеместное расселение их зародышей. Морские течения разносят их по морям и океанам, реки — с одной части континента на другую. Такую же роль отчасти выполняют и рыбы, особенно мигрирующие, совершающие длинные пути для нереста, так как обнаружено, что некоторые планктонные водоросли нередко застревают у них в жабрах. Выброшенные на берег и высохшие, вместе с пылью и илом, водоросли разносятся по воздуху ветром и птицами. Животные неизбежно переносят их с одного места водопоя на другое.

В различных местообитаниях водоросли создают разнообразные экологические группировки — сообщества, характеризующиеся более или менее определенным составом слагающих их видов, приспособленных к определенной амплитуде экологических факторов.

Кроме приуроченности разных видов к тем или иным местообитаниям, в географическом распределении водорослей также имеются определенные закономерности, связанные с общим комплексом внешних условий, меняющихся в зависимости от географического положения.

3.1 География морских водорослей

Географическая зональность распространения особенно отчетливо выражена у морских бентосных водорослей, и наиболее общим ее выражением является распределение видового разнообразия по широтным зонам. Обычно в теплых морях, где условия более благоприятны, чем холодных, мы находим и большее количество видов, что видно из следующих цифр: в Карском море обнаружено всего 55 видов бурых, красных и зеленых донных водорослей, в Баренцевом — 172, в Средиземном — 423, в Малайском архипелаге — 860, а в Антарктике — только 63 вида.

Географическая зональность распределения водорослей в общем виде проявляется в том, что в относительно холодных морях преобладают бурые водоросли (40–43 %) по сравнению с зелеными (12–13 %), а в теплых — наоборот (18 % бурых и 24 % зеленых), тогда как количество красных водорослей изменяется не столь значительно — 46 % в холодных морях и 58 % в теплых, хотя и среди них широко проявляется специфическая приуроченность к определенным географическим зонам.

Четко выражена приуроченность отдельных видов и целых систематических групп к определенным географическим районам. Так, виды рода *Fucus* характерны для литорали северных морей, *Macrocostis* — для побережья Тихого океана. И, вообще, многие виды имеют вполне определенные области распространения, не встречаясь в других местах.

Наряду с этими среди морских водорослей имеется много видов, встречающихся повсеместно. Например, обширным ареалом характеризуются большинство видов порядка *Ulvales*, обитающих в морях. Существует мнение о широком, вплоть до космополитного, распространения многих из них. Приспособленность *Ulvales* к жизни в различных географических условиях объясняется комплексом их физиологических и биологических особенностей. Многие из них способны в различной форме переживать неблагоприятные условия, плодоносить на разных стадиях морфологического развития, изменять характер размножения и смену форм развития. Слабая дифференцированность слоевища ульвовых оп-

ределяет способность отдельных его частей и даже отдельных клеток к длительной самостоятельной вегетации и даже к плодоношению. Это свойство отчасти объясняет распространение видов *Ulvaes* на большие расстояния. Поскольку *Ulvaes* однолетние или сезонные формы, они скорее, чем многолетние, могут найти благоприятные условия для вегетации в различных географических районах. Все эти особенности способствуют широкому расселению их в морях Мирового океана. В частности виды порядка *Ulvaes* в морях СССР, расположенных в европейской и азиатской частях страны, представлены одними и теми же видами, подвидами или замещающими видами. Причем их видовой состав, морфологическое разнообразие и обилие изменяются от низких широт к высоким параллельно как в европейских, так и в азиатских морях СССР. В этом отношении Черное море имеет очень много сходства с Японским, в частности с заливом Петра Великого, Белое — с Охотским и т. д.

3.2 География пресноводных микроводорослей

Одним из важных аспектов географии пресноводных водорослей является вопрос об их космополитном распространении. До недавнего времени среди большинства ботаников географов было распространено мнение, что пресноводные водоросли, особенно одноклеточные, являются космополитами или убикистами. В защиту этого мнения приводились различные аргументы. Существенным обстоятельством, способствующим более широкому распространению водорослей по сравнению с высшими растениями, является среда обитания водорослей. Вода как среда обитания гораздо менее зависит от климатических факторов, чем воздух, и более постоянна. К тому же, растения, живущие в воде, должны быть приспособленными только к одной среде, в то время как растения, живущие на суше, приспосабливаются к двум средам — воздуху и почве. Все это, несомненно, способствует большей протяженности ареалов водных растений.

Постоянство воды как среды обитания большинства водорослей приводит к тому, что особое значение в их распространении приобретают специальные условия их биотопов,

т. е. экологические факторы, которые в водоемах даже одной климатической зоны бывают различными. Среди низших водорослей существует немало убиквистов, обитающих в водоемах разнообразных типов и поэтому широко распространенных, часто независимо от климата. Таковы, например, виды рода *Scenedesmus*. Однако хорошо известно, что многие низшие водоросли развиваются только в узких пределах колебаний физико-химических условий среды, вследствие чего они могут даже служить своего рода биологическими индикаторами, т. е. показателями условий, существующих в водоеме.

Другим аргументом, выдвигаемым в защиту космополитизма пресноводных водорослей является факт отсутствия у многих низших водорослей полового воспроизведения. Предполагают, что при этом темп видообразования снижается, вид имеет тенденцию оставаться постоянным и, в связи с этим, получает более широкое географическое распространение. Считают, что именно поэтому среди организмов, которым присуще только или преимущественно бесполое размножение, число видов с обширными ареалами больше, чем среди организмов, размножающихся строго сексуально. Однако эти рассуждения не подтверждаются фактами, так как установить зависимость между способом размножения (полового или бесполого) и протяженностью ареала не удается.

Рассмотренным выше аргументам в пользу коемполитизма пресноводных водорослей можно противопоставить факт существования довольно значительного числа видов, приуроченных к разным географическим районам или обладающих весьма ограниченным ареалом. Хорошо известным (но далеко не единственным) примером водоема, богатого эндемиками, может служить озеро Байкал, во флоре которого обнаружено 9 эндемичных видов рода *Draparnaldia* Vogu, 6 -- *Chaetophora* Schrank, 3 -- *Cladophora* Ktzt. и множество видов диатомовых. По отношению к последним количество эндемиков здесь колеблется от 10 до 30%. Если даже считать, что при дальнейшем пополнении пробелов в еще слабо исследованной флоре диатомовых многие эндемичные виды окажутся в действительности более широко распространенными, то все же едва ли можно сомневаться в том, что явле-

ние эндемизма у диатомовых водорослей встречается не так уж редко. Ф. Гесснер и Р. Кольбе (F.Gessner, R.Colbe, 1934) утверждают, что число космополитов среди диатомовых водорослей невелико. А. П. Жузе (1939) отмечает, что распространение диатомовых в общем показывает определенную зависимость от географических причин, хотя среди них есть и космополиты.

Применительно к разным группам низших водорослей вопрос об их географическом распространении решается по-разному. Согласно М. Лефевру (M.Lefevre, 1928), пресноводные перкдинеи не являются космополитами и многие их виды очерчены географически. По данным Е.Бижара (E.Bigeard, 1933), среди видов рода *Pediastrum* юлько часть встречается повсеместно, тогда как другие, имеют ограниченный ареал.

Вопрос о географии синезеленых водорослей в свое время подробно рассматривался А. А. Еленкиным (1936-1949). Он справедливо оспаривал необоснованную точку зрения о космополитизме большинства синезеленых водорослей и убедительно показал плодотворность в ряде случаев применения географического метода к выявлению видов этого отдела. Особенно важными представляются соображения А. А. Еленкина о наличии т. н. полувикарирующих видов синезеленых водорослей (редких в Западной Европе, но господствующих в СССР), и его указание на то, что при формальной возможности отождествления многих видов с западноевропейскими, они, все же, сплошь и рядом показывают более или менее крупные отличия от них, на выявление которых и должно быть обращено внимание альгологов.

Можно утверждать, что закономерности географического распределения достаточно отчетливо выступают и у *Desmidiales*. Многие виды этого порядка приурочены к определенным географическим районам и могут быть отнесены к эндемикам. В тропиках встречается ряд видов и даже родов, которые до сих пор не обнаружены в других частях земного шара (например, роды *Phymatodoeis* Nordst., *Ichtyocercus* West). Род *Slireptoncma* Wall, из *Desmidiales* известен лишь в Индии, *Amscottia* Gronbl. в Бразилии). Другие роды, например, *Pleurotaenium* Nag. имеют преимущественное распро-

странение в тропических странах. Среди одноклеточных родов *Desmidiaceae* имеется большое число видов, которые известны только в тропиках. Например, в Бразилии число космополитов из *Desmidiaceae* очень ограничено. В основном здесь произрастают специфические для Бразилии виды. В то же время исследование в бразильских пробах представителей *Volvocales* и *Chlorococcales* показало, что за немногими исключениями, здесь встречаются космополиты. Значительным числом эндемичных видов *Desmidiaceae* характеризуется также остров Мадагаскар. На некоторых океанических островах, находящихся на больших расстояниях от материков, многие *Desmidiaceae* отсутствуют. Например, на Азорских островах не обнаружены вид *J* рода *Micrasterias* Ag. Большое количество эндемичных видов (более 50 %) указывается для видов рода *Dunaliella* Teod. Узкоэндемичный характер распространения имеют все пресноводные виды десмидиевых, большинство морских видов, а также ряд гипергалинных видов австралийских и туркменских. Отмечено зональное распределение определенных сообществ водорослей, особенно из диатомовых и *Desmidiaceae* в районах Арктики. В водоемах Западной Сибири также обнаружена широтная зональность в распределении водорослей. Причем здесь зональность проявляется не только в различии видового состава сообществ, но и в особенности развития и продуктивности водорослей.

При подробном изучении отдельных видов *Desmidiaceae* можно легко установить различие состава их сообществ в разных флористических областях мира. Так, например, сообщества *Desmidiaceae* альпийских болот в горах отличаются от таковых в небольших низменных водоемах. Особые сообщества *Desmidiaceae* образуются в узких влажных ущельях и на голых или моховых поверхностях скал, обрызгиваемых водопадами. На равнинах, где создаются сходные с горными экологические условия, образуются сходные ассоциации *Desmidiaceae*. Поэтому горные, или альпийские, виды встречаются также на равнинах, в олиготрофных болотах или в более высоких широтах.

В пользу наличия зависимости распределения водорослей от географических и экологических факторов говорит и возможность фитогеографического районирования конти-

континентальных водоемов по альгофлоре. В этих случаях речь идет, правда, не о географических границах расселения отдельных видов, но несомненно, что сама возможность такого районирования говорит в пользу того, что такая зависимость существует.

Весьма интересная трактовка проблемы географического распространения водорослей континентальных водоемов принадлежит Н. Н. Воронихину (1946, 1950, 1951), который полагал, что один и тот же вид в разных географических районах различается по входящим в его состав *элементарным расам*, или вариантам.

Схожую мысль относительно высших растений высказывал и Н. И. Вавилов (1931). Изучение элементарных рас очень перспективно с точки зрения флористической альгологии, причем особое значение приобретает сравнительное исследование местных флор районов, различающихся климатически, а также параллельные исследования водноименных биотопах разных областей (Н.Н.Воронихин, 1946). Кроме того, при современном уровне систематики водорослей трудно гарантировать, что тот или иной вид, найденный в одном регионе, действительно идентичен встречаемым в другом регионе, так как в этих случаях не исключена возможность конвергенции. Весьма возможно, что при значительном морфологическом сходстве, не дающем права говорить о разных видах, в пределах широко распространенных форм имеется ряд различных физиологических рас, приуроченных к разным частям ареала. Нельзя забывать и о видах-двойниках — вопрос совершенно не изученный у водорослей

В последнее время, в связи с использованием приемов сравнительной флористики получены интересные данные, подтверждающие наличие определенных закономерностей в географическом распространении водорослей. Так, сравнение систематической структуры флор Desmidiaceae двух горных стран (Украинских Карпат и Крыма) и трех физико-географических областей равнинной части УССР показало не только сходство, но и различие в соотношении ведущих родов, слагающих богатство данных флор. Сходные соотношения ведущих родов равнинной части УССР свидетельствуют о единстве систематической структуры сравниваемых

флор и наличии общих региональных факторов, обуславливающих особенности структуры флор этих частей. Некоторые различия в этих соотношениях подчиняются определенным географическим закономерностям. Прежде всего, наблюдается повышение роли господствующих родов в сложении флор Desmidiaceae в направлении с севера на юг, а именно: Украинское Полесье — 59,0 %; Лесостепь — 61,4; Степь — 68,0 %. Постепенно, с севера на юг, уменьшается общая доля родов *Euastrum* Ehr., *Stauroidesmus* Tei 1., *Cosmoastrum* Pal.-Mordv., *Raphidiastrum* Pal.-Mordv., *Spondylosium* Breb. и увеличивается доля родов *Micraslerias* C. Ag., *Penium* Breb. Несомненно, что указанные закономерности определяются общими зональными климатическими факторами. Сходные результаты были получены при исследовании флор других регионов СССР на примере других водорослей.

Таким образом, наличие определенных ботанико-географических закономерностей в распространении пресноводных водорослей, подтверждено многочисленными исследованиями; представление о космополитизме большинства пресноводных водорослей следует считать ошибочным.

3.3 География почвенных микроводорослей

Определенным закономерностям зонального характера подчинено распространение почвенных микроводорослей. В данном случае зональность проявляется в распространении сообществ. На больших континентах с равнинным рельефом, в частности на территории СССР, хорошо выражена зональность в распределении почв и растительности, которая находит отражение и в зональности водорослевых сообществ. По мере перехода от одной почвенно-растительной зоны к другой меняются состав и количество почвенных микроводорослей, характер их приспособления к жизни в почве. При этом в составе сообществ наблюдаются определенные закономерные изменения. Наряду с убиквистами, встречающимися повсюду, в разных почвах получают преобладание разные группы микроводорослей.

Из всех зональных почв наибольшим разнообразием водорослей отличаются дерново-подзолистые; здесь обнаружи-

ваются разнообразные синезеленые, зеленые, желтозеленые и диатомовые, причем зеленые и синезеленые представлены равным числом видов. К северу и к югу от мест залегания этих почв уменьшается общее число видов водорослей; к северу — главным образом за счет диатомовых и синезеленых, к югу — за счет зеленых, желтозеленых и диатомовых. Одновременно изменяется относительная роль отдельных систематических групп в формировании сообществ. Роль зеленых микроводорослей, которые господствуют в тундровых почвах и сильно развиты в почвах дерново-подзолистой зоны, неуклонно уменьшается с севера на юг; одновременно уменьшается и число видов синезеленых.

Имеются сведения и о вертикальной зональности распределения почвенных микроводорослей в горных массивах. Так, на Западном Памире с изменением почв и растительности по мере увеличения высоты от 2400 до 3930 м н. у. м. уменьшается разнообразие микроводорослей. В Апеннингах Центральной Италии наибольшее разнообразие микроводорослей с доминированием синие-зеленых обнаружено в почве высокогорного пастбища на высоте 2500 м н. у. м. Здесь же отмечена и наибольшая численность — 1 млн. 399 тыс. зачатков микроводорослей в 1г почвы. Из них 50% синезеленых, 48% диатомовых и 2% зеленых. На меньших высотах, особенно в зоне лесов на кислых почвах, повышается численность зеленых микроводорослей за счет снижения роли синезеленых. На больших высотах, при переходе к нивальному поясу, численность микроводорослей также уменьшается. В Восточных Альпах, при движении вверх от 3000 до 3800 м н. у. м., обнаружено резкое сокращение видов микроводорослей.

В описанных случаях зональная смена сообществ микроводорослей обусловлена совокупным влиянием нескольких взаимообусловленных факторов: климатических условий, свойств почвы и состава растительности.

Таким образом, в горных местностях сообщества почвенных микроводорослей особенно разнообразны в связи с разнообразием почв, растительности и микроклиматических условий.

4. РОЛЬ ВОДОРΟΣЛЕЙ В ПРИРОДЕ

Повсеместно распространенные в природе водоросли входят в состав разнообразных гидро и геобиоценозов, вступая в различные формы взаимосвязей с другими организмами, принимая участие в круговороте веществ. В триаде групп организмов, осуществляющих круговорот веществ в природе (*продуценты – консументы – редуценты*), водоросли вместе с аутоτροφными бактериями и высшими растениями составляют звено продуцентов, за счет которого существуют все остальные бесхлорофилльные нефотогинтезирующие организмы нашей планеты.

4.1 Водоросли в балансе живого вещества

Роль водорослей в общем балансе живого вещества Земли определяется их количественным развитием, которое колеблется в больших пределах в зависимости от условий конкретного местообитания и сезона года. Так, биомасса фитопланктона в арктических морях может достигать $6 - 14 \text{ г/м}^3$ воды, в Каспийском море в среднем равна $1 - 3 \text{ г/м}^3$, а в приустьевой зоне поднимается до $100 - 140 \text{ г/м}^3$, в Азовском — в летние месяцы — до 270 г/м^3 . В днепровских водохранилищах при «цветении» воды в летние месяцы биомасса водорослей может составлять 500 г/м^3 .

Донные водоросли в Баренцевом море у Мурманского побережья дают $4,5 - 15 \text{ кг}$ сырой массы на 1 м^2 , в отдельных случаях — до 30 кг/м^2 , в Черном море их биомасса в среднем составляет 3 кг/м^2 . У побережья Шотландии биомасса морских водорослей варьирует в пределах $20 - 45 \text{ т/га}$, в некоторых районах Антарктиды она составляет в среднем 70 т/га , у Калифорнийского побережья — 100 т/га . В пресных водоемах биомасса донных водорослей обычно меньше, и только в случаях массовых разрастаний видов *Cladophora* сырая масса может составлять около 3 кг/м^2 .

Благодаря высокой скорости самовозобновления, *продукция* водорослей (определяемая как прирост биомассы организмов за определенный промежуток времени в расчете на единицу площади) иногда во много раз превышает их биомассу. Годовая продукция фитопланктона в Баренцевом мо-

ре определяется в 30—50 т органического вещества (в сырой массе) на гектар, донных водорослей до 231 т/га. В Черном море продукция донных водорослей несколько ниже: от 77 т/га в год в открытом море до 170 т/га в год в защищенных местах. Суточная продукция океанов колеблется от сотых долей грамма до 3 г связанного углерода на 1 м². Самые высокие значения продукции были зарегистрированы у западного побережья Южной Африки в водах Бенгальского течения: 6 т/га в год. Самые низкие значения отмечаются в тропических районах океанов: 1—2 кг/га в год.

Продуктивность пресных водоемов (особенно по фитобентосу) значительно ниже, чем морей и океанов. Во вневодных местообитаниях продукционная роль водорослей обычно несоизмерима с ролью высших растений, хотя продукция почвенных водорослей по первым приблизительным расчетам составляет 54—642 кг/га в год, во много раз (на 720—32 000 %) превышая их биомассу в почве (Э.А.Штина, М.М.Голлербах, 1976). Тем не менее, основной вклад в общую продукцию органического углерода на Земле принадлежит водорослям, обитающим в воде, где их место и роль в биоценозах сравнимы с таковыми высших растений на суше.

Средняя *первичная продукция* (продукция первичного звена пищевой цепи водного биоценоза, которое представлено водорослями) океанов, определенная радиоуглеродным методом, составляет 550 кг/га в год. Она в 2,5 раза меньше по сравнению с продуктивностью суши. На суше такая продуктивность отмечается лишь в пустынях. Однако благодаря необозримым просторам Мирового океана, занимающего свыше 70 % поверхности Земли, суммарная величина её первичной продукции составляет 550,2 млрд. тонн (в сырой массе) в год, превышая суммарную биомассу водорослей (1,7 млрд. т) в 306 раз. Согласно оценкам разных ученых (Э.А.Штина, 1959), вклад водорослей в общую продукцию органического углерода на нашей планете составляет 26—90 %.

4.2 Водоросли в балансе кислорода

Не меньшее значение имеет также то, что в водной среде водоросли являются единственными продуцентами свободного кислорода, необходимого для дыхания водных организмов, как животных, так и растений. Аэробный тип дыхания преобладает в энергетике водных экосистем, а содержание кислорода в воде нередко намного ниже нормального.

По образному выражению В.И. Вернадского, борьба за существование в гидросфере — это борьба за кислород. Поэтому роль водорослей как основных продуцентов органической пищи и кислорода в водных экосистемах Земли трудно переоценить. От их жизнедеятельности в значительной степени зависит общая биологическая продуктивность водоемов и их рыбопродуктивность. Являясь источником пищи и кислорода, заросли водорослей в Мировом океане служат пристанищем и защитой для многочисленных видов животных, местом нереста рыб.

Наблюдениями над прибрежными зарослями *Cystoseira barbata* в Новороссийской бухте на Черном море установлено, что столб воды диаметром 15 см и высотой 35 см объемом 5 л с кустом этой водоросли содержит 150-250 экземпляров моллюсков, 300—500 клещей, 34—56 тыс. ракообразных — всего до 60 тыс. особей наряду с беспозвоночными, в зарослях *C. barbata* обитают многие виды рыб.

Водоросли играют большую роль в общем балансе кислорода на Земле. Вклад наземной растительности не дает длительной чистой прибавки к глобальному балансу кислорода, так как на суше высвобождаемый при фотосинтезе кислород расходуется примерно в таком же количестве микроорганизмами, разлагающими органический опад. В водоемах же разложение отмерших организмов идет в основном на дне анаэробным путем. Возмещение кислорода, непрерывно отчуждаемого из атмосферы в результате процессов горения, возможно только благодаря активности фитопланктона. Океаны служат главным регулятором баланса кислорода атмосферы.

4.3 Микроводоросли - компонент биоценозов, агенты самоочищения окружающей среды и почвообразовательных процессов

Водоросли являются источником разнообразных химических соединений, выделяемых в окружающую среду, в том числе биологически активных веществ. Оказывая регуляторное воздействие на развитие других организмов, они участвуют в процессах формирования гидробиоценозов, влияют на органолептические показатели воды, на формирование качества природных вод. Обогащая воду кислородом, необходимым для жизнедеятельности аэробных бактерий, водных грибов и других организмов — активных агентов самоочищения загрязненных естественных вод, многие виды водорослей принимают непосредственное участие в утилизации некоторых органических соединений, солей тяжелых металлов, радионуклидов, очищая, облагораживая окружающую среду. С другой стороны, при массовом развитии водоросли могут быть причиной вторичного биологического загрязнения и интоксикации природных вод.

В наземных местообитаниях водорослям наряду с другими микроорганизмами принадлежит роль пионеров растительности. Исследования различных горных массивов показали, что в условиях отсутствия органического вещества поверхность выветривающихся пород заселяется, прежде всего, микроколониями одноклеточных водорослей и сопутствующих им бактерий, образующими, так называемый, горный загар. Нередко также комплексы водорослей и бактерий обнаруживают способность к усвоению молекулярного азота.

Кроме скальных пород, подобные явления наблюдались на вулканическом пепле, на безжизненных минеральных субстратах антропогенного происхождения (золотоотвалы, пылящие промышленные отходы, шлаки и другие промышленные отвалы). На территориях, по той или иной причине лишенных растительности и почвенного покрова, формируются примитивные почвы, в образовании которых водоросли нередко вносят существенный вклад, образуя начальную стадию сукцессий.

5. РОЛЬ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В ПОЧВООБРАЗОВАНИИ И ЖИЗНИ БИОГЕОЦЕНОЗА

Почвенные микроводоросли оказывают разнообразное воздействие на почвенное плодородие, наиболее важными аспектами которого являются накопление органического вещества (включая фиксацию молекулярного азота), изменение физико-химических свойств почв, стимуляция их микробиологической активности. Кроме того, в настоящее время доказано положительное воздействие микроводорослей на рост высших растений (благодаря выделению водорослями физиологически активных веществ). Почвенные микроводоросли могут также служить индикаторами состояния почв и участвовать в биологической регуляции нарушенных почв.

5.1 Влияние на физико-химические свойства почв

Установлено, что водоросли способны улучшать физико-химический режим почв. Развиваясь на поверхности почв в массовых количествах, микроводоросли могут поглощать большое количество минеральных солей, что предохраняет их от вымывания из почвы, так как после отмирания клеток эти вещества становятся доступными для корней высших растений. Таким же образом, осуществляется и биологическое закрепление смываемых с полей удобрений. Замечено, что на пониженных участках и на местах стока вблизи полей нередко развиваются дернины микроводорослей, «перехватывающих» сток и фиксирующих какую-то часть минеральных солей. Избирательное поглощение солей микроводорослями влияет на перераспределение подвижных форм химических элементов в почвенных слоях.

Одной из форм связывания химических элементов почвы является хелатизация — образование комплексных соединений металлов с некоторыми органическими веществами микроводорослей. Хелатообразователями выступают как внеклеточные продукты, выделяемые водорослями в окружающую среду, так и слизистые вещества оболочек, а также вещества, остающиеся после отмирания клеток. Хелатообразующие вещества переводят ионы металлов из не-

растворимого в растворимое состояние, поддерживают резервы элементов в полудоступной для высших растений форме.

Еще одной формой химического воздействия микроводорослей на почву является изменение ее pH. Известно, что водоросли, ассимилируя в процессе жизнедеятельности углекислый газ, подщелачивают среду, что наблюдается в природных водоемах, в условиях культуры, а также в почвах. Так как в почве микроводоросли распределены неравномерно, существенное подщелачивание почвы за счет микроводорослей происходит в местах их скопления, где условия особо благоприятны для их развития.

В качестве положительного фактора химического воздействия микроводорослей на почву необходимо упомянуть аэрацию почв за счет кислорода, выделяемого при фотосинтезе. Особенно важно это для заболоченных, тяжелых, плохо аэрируемых почв. Кислород водорослей способствует улучшению дыхания корней высших растений и жизнедеятельности аэробных микроорганизмов (М.М.Голлербах, Э.А.Штина, 1969).

5.2 Влияние на оструктуренность почв

Поверхностные пленки микроводорослей могут иметь большое противозерозионное значение. Слизистые вещества чехлов и клеточных оболочек склеивают почвенные частицы, переплетающиеся нити микроводорослей механически скрепляют их.

Особое значение имеют нитчатые формы со слизистыми обертками, например виды порядка Oscillatoriales из сине-зеленых водорослей. В ряде случаев скрепляющее значение имеют и одноклеточные зеленые микроводоросли, выделяющие обильную слизь. Развитие микроводорослей влияет на структурированность мелкозема, придавая ему водостойкость и препятствуя выносу с поверхностного слоя. Ослизненные покровы синезеленых микроводорослей в присутствии влаги способны абсорбировать ее и удерживать какое-то время после наступления сухого периода. Благодаря этому влажность почвы под водорослевыми пленками обычно вы-

ше, чем там, где они отсутствуют. Показано, что после роста микроводорослей, водоудерживающая способность почвы возрасла на 10–15 %, а в некоторых случаях до 40 % (М.М.Голлербах, Э.А.Штина, 1969). На риунке 8 изображено схематическое влияние микроводорослей на оструктуренность почв.

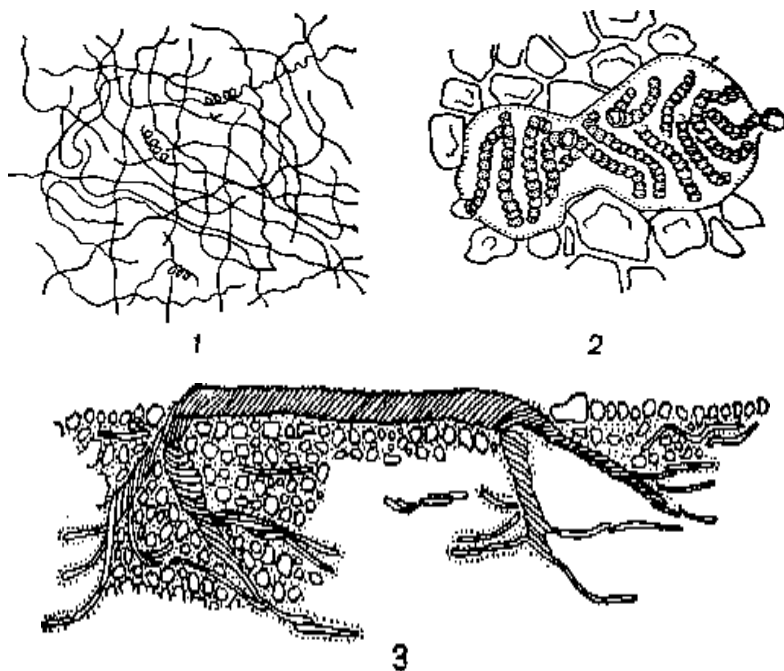


Рис. 8 - Влияние сине-зеленых водорослей на закрепление почвенных частиц;

1 – начальная стадия войлокообразных разрастаний нитчатых форм по поверхности субстрата; 2 – молодая колония ностока (*Nostoc*), погруженная в песок и склеивающая песчинки колониальной слизью (поперечный срез); 3 – разрастание микроколеуса (*Microcoleus*) в форме жгута, разветвляющегося в почве на более мелкие жгуты и отдельные нити, скрепляющие рыхлую почву

Кроме того, пленки микроводорослей уменьшают водопроницаемость почвы и замедляют испарение воды, что оказывает влияние и на солевой режим почвы. Уменьшается вымывание легкорастворимых солей, их содержание под макро-разрастаниями водорослей выше, чем на других участках.

В то же время замедляется поступление солей из более глубоких горизонтов почвы. Н. Н. Большев наблюдал на солончаках пятна, покрытые влажной водорослевой пленкой, на поверхности которой отсутствовали соли. Это свойство микроводорослей послужило поводом для предположения о возможности уничтожения засоления почвы путем интродукции микроводорослей (Н.Н.Большев, 1968).

5.3 Азотфиксация

Одним из важных факторов повышения почвенного плодородия является биологическая фиксация атмосферного азота. Ведущая роль в этом процессе принадлежит синезеленым микроводорослям, которые, в отличие от гетеротрофных азотфиксаторов, не требуют для усвоения молекулярного азота готового органического вещества, а сами приносят его в почву. Например, для почв умеренной зоны годовую продукцию азотфиксирующих синезеленых микроводорослей оценивают в 20-577 кг/га (в сухой массе). Способность к самостоятельной азотфиксации в размерах, имеющих реальное значение для плодородия почвы, свойственна только гетероцистным формам синезеленых микроводорослей.



Рис. 9 – Синезеленая микроводоросль (цианобактерия)
Anabaena sphaerica

Всего их известно более 500 видов, в почвах СССР обнаружено 132 вида. Наиболее распространенными являются представители родов *Nostoc*, *Anabaena*, *Cylindrospermum*,

Calothrix, *Tolypothrix*. Нитрогеназная активность у безгетероцистных форм синезеленых микроводорослей проявляется преимущественно в микроаэробных и анаэробных условиях. Возможность азотфиксации безгетероцистных форм в условиях кислородного дефицита помогает не только выживанию водорослей в экстремальных условиях, но в ряде случаев ведет к их доминированию в биоценозах.

Значение азотфиксирующих микроводорослей неодинаково в различных почвенно-климатических зонах. Они являются важным компонентом флоры аридных районов. Накопление азота корочками синезеленых на поверхности аридных почв составляет от 1,5 кг/га (Австралия) до 10–100 кг/га (США) или даже 21–205 кг/га в год (Туркменская ССР) (Е.М.Панкратова, 1979).

В почвах умеренной зоны СССР годовое азотонакопление составляет 1,6–26,0 кг/га, зарубежные авторы для почв этой зоны приводят цифры 2,0–51,0 кг/га (Е.М.Панкратова, 1985). Большую роль играют азотфиксирующие синезеленые микроводоросли в тропических почвах, где они широко распространены и накапливают значительную биомассу. Восстановление азота в некоторых тропических почвах вообще считается не бактериальным, а альгологическим процессом (Е.М.Панкратова, 1979).

Благоприятные условия для развития синезеленых микроводорослей создаются в затопляемых почвах рисовых полей. Наиболее обычны для рисовых полей СССР такие виды как *Anabaena variabilis* Kiitz., *Nosloc linckia* (Roth), *Cylindrospermum michailovscoense* Elenk. Ведущая роль представителей родов *Nostoc*, *Anabaena*, *Cylindrospermum* характерна и для рисовых полей Вьетнама, Китая, Индии. Более ограниченное распространение имеют азотфиксирующие микроводоросли, обнаруженные на рисовых полях тропической зоны – *Chlorogloeopsis frilschii* Mitra, *Anabaena ambigua* Rao, *A. fertilissima* Rao, *Aulosira fertilissima* Ghose, *Tolypothrix camptilonemoides* Ghose и некоторые другие. Азотонакопление в почвах рисовых полей составляет 15–90 кг/га в год (Е.М.Панкратова, 1985). Вклад микроводорослей в экономику азота почв составляет 1044,2 тыс. т в год (Е.М.Панкратова, 1981).

Таким образом, почвенные микроводоросли как продуценты оказывают существенное воздействие на плодородие почв. Большая часть углерода, входящего в их состав, удерживается почвой в виде гуминовых кислот и фульвокислот. Скорость минерализации органических соединений микроводорослей того же порядка, что и органических азотсодержащих веществ других почвенных микроорганизмов. Внеклеточный азот их выделений (40–60 % фиксированного азота) доступен бактериям, грибам, нефиксирующим водорослям и мхам. Доказано, что микроводоросли способны обеспечить 4,3–15 % потребности высших растений в азоте.

5.4 Влияние на микробиологическую активность

Почвенные микроводоросли оказывают непосредственное влияние на жизнедеятельность населяющих почву микроорганизмов. Оно проявляется в двух основных формах – ассоциации и антагонизма.

Антагонистическое действие микроводорослей осуществляется прежде всего путем выделения антибиотических веществ. Выделяемые микроводорослями ингибиторы обладают специфичностью действия, подавляя развитие одних видов, они могут быть полезными для других. Спектр ингибирующего действия различен у разных видов микроводорослей. Кроме того, микроводоросли могут подавлять развитие других микроорганизмов и иными средствами: молекулярный кислород микроводорослей может подавлять деятельность анаэробных бактерий; известно ингибирование развития бактерий высоким рН среды в культурах микроводорослей; многие виды азотфиксирующих микроводорослей обладают фунгицидным действием.

Органическое вещество микроводорослей отличается легкой усвояемостью и дает высокий энергетический эффект, благодаря чему его используют многие гетеротрофные микроорганизмы почвы. Сущность взаимодействия бактерий и микроводорослей состоит в том, что водоросли снабжают гетеротрофные организмы энергетическим материалом, содержащимся в слизи и внеклеточных выделениях; органические кислоты, слизи и растворимые полисахариды, жирные

кислоты и вещества липоидного характера, растворимые полипептиды, свободные и незаменимые аминокислоты, биологически активные вещества. Среди выделений микроводорослей обнаружены витамины, ауксины и многие внеклеточные ферменты, влияющие также и на развитие бактерий.

Поэтому микроводоросли стимулируют развитие многих бактерий. Показано, что усиление развития микроводорослей в почве ведет к увеличению численности многих физиологических групп: микроорганизмов (Ч.Джеффри, 1980). Способность водорослей к образованию слизи, часто обильной, благоприятствует развитию в них бактерий. Колониальная слизь, ослизненные клеточные оболочки и слизистые чехлы водорослей обильно заселены бактериями. Особое значение имеет сосуществование микроводорослей с азотфиксирующими и олигонитрофильными бактериями (последние преобладают среди бактерий – спутников микроводорослей).

Азотфиксирующая способность альгобактериальных сообществ, как правило, выше, чем фиксация азота отдельными ее компонентами. Кроме того, микроводоросли оказывают стимулирующее действие на свободноживущих азотфиксаторов, что позволило разработать рекомендации по включению микроводорослей в бактериальные препараты с целью повышения их эффективности в почве (Е.М.Панкратова, 1981).

Главный показатель повышения биологической активности – высокая активность ферментов, например полифенолоксидазы и пероксидазы. Как известно, к оксидоредуктазам относят ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции - каталаза, дегидрогеназы, пероксидазы, полифенолоксидазы и др. (И.П.Ермаков, 2005).

Определение активности полифенолоксидазы и пероксидазы, участвующих в процессах гумусообразования, является дополнительной характеристикой процессов синтеза и распада гумусовых веществ. Отношение активности полифенолоксидазы к пероксидазе является условным коэффициентом гумификации, и в определенной мере может характеризовать направленность этого процесса. Внесение в почву микроводорослей изменяет активность этих ферментов, в соответствии с численностью группировок микроорганиз-

мов, принимающих участие в процессе гумификации. Как правило, при повышенной биологической активности почв наблюдается активный рост, развитие растений и увеличение их урожайности.

Результаты проведенных исследований (В.А.Лукьянов, 2014) показали положительное влияние микроводорослей *Chlorella vulgaris* и *Spirulina platensis* на активность и жизнедеятельность целлюлозоразрушающих микроорганизмов. Результаты активности целлюлозоразрушающих микроорганизмов приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Целлюлозоразрушающая активность по вариантам опыта, 2013

Варианты опыта	Степень разложения, %				
	повторность			среднее	отклонение
	1	2	3		
1. Контроль	19,02	19,71	19,29	19,34	-
2. <i>Chlorella vulgaris</i>	43,57	43,11	44,38	43,69	+24,35
3. <i>Spirulina platensis</i>	39,42	40,76	41,05	40,41	+21,07

Данные, полученные в таблице 1 подтверждают эффективность применения микроводорослей в агроценозах. Так на контрольном варианте, микробиологическая активность целлюлозоразрушающих организмов была минимальной и составила 19,34%. На варианте с применением микроводорослей *Chlorella vulgaris* и *Spirulina platensis* степень разложения составила по вариантам 43,69% и 40,41% соответственно.

Все это свидетельствует о том, что микроводоросли в почвенных условиях оказывают стимулирующее воздействие на микробиологическую активность почв.

5.5 Микроводоросли – индикаторы экологического состояния почв

Почвенные микроводоросли могут не только служить для повышения почвенного плодородия, но и быть его индикатором.

торами — будучи автотрофами, как и высшие растения, они сходным образом реагируют на условия среды.

Многочисленные данные свидетельствуют о том, что микроводоросли могут служить тест объектами как при определении потребности почвы в удобрениях, так и при испытании различных пестицидов, в частности оценки остаточной токсичности гербицидов в почве.

Микроводоросли могут быть использованы для изучения механизма действия различных гербицидов, а также в качестве тест-объекта при изучении фитотоксических химических соединений и индикации их структуры.

Отмечена связь между развитием некоторых видов микроводорослей и отдельными факторами почвенной среды — влажностью, значением pH и др. Однако, более надежными индикаторами состояния почвы являются не отдельные виды микроводорослей, а их сообщества.

Перестройка альгоценоза, обеднение его видового состава, изменение численности микроводорослей в почве может служить показателем стойкого загрязнения почвы фитотоксическими веществами. Известно, что численность микроводорослей в почве отражает динамику элементов питания, а по их видовому составу можно судить о выходе эдафических факторов за пределы толерантности.

Таким образом, почвенные микроводоросли, четко реагирующие на любые воздействия на почву, должны быть обязательно включены в почвенный мониторинг.

5.6 Биологическая регуляция нарушенных земель

Особая значимость микрочувствительных водорослей заключается в участии их в биологической рекультивации нарушенных почв. Известно, что микроводоросли первыми из автотрофов начинают осваивать лесные пожарища (А.В.Веретенников, 1963).

Поселение микроводорослей становится первым этапом естественного зарастания различных антропогенных субстратов — зольных, шламовых, песчаных и угольных отвалов, выработанных торфяников. На отвалах всех типов микроводоросли являются постоянным источником обогащения суб-

стратов органическим веществом. На 10–14-летних участках отвалов биомасса микроводорослей превышала таковую в зональных почвах Кузбасса до 30 раз; основным компонентом разрастаний выступают здесь синезеленые микроводоросли (М.Г.Шушуева, 1977). Микроводоросли участвуют в биологической рекультивации почв, нарушенных сильными загрязнениями, например, при заливании нефтью и пластовыми растворами в районе нефтепромыслов. После нефтяных разливов почва заселяется, прежде всего, синезелеными и диатомовыми микроводорослями. Очевидно, что процесс полной рекультивации земель, пострадавших от хозяйственной деятельности, исключительно медленный и не может обеспечить их ввод в хозяйственный оборот без специальных мероприятий. Усиление антропогенных воздействий на почву требует научно-обоснованных прогнозов об изменениях в направлении и скорости различных процессов, происходящих в почве. В их состоянии могут внести свой вклад и материалы о почвенных водорослях, влияющих на биологическое освоение техногенных участков и первичное почвообразование.

5.7 Обработка семян сельскохозяйственных культур суспензией микроводорослей

Микроводоросли оказывают весьма весомое влияние и на рост и развитие высших растений. Выделяя физиологически активные вещества, они ускоряют рост проростков, особенно их корней. Например, семена хлопчатника, предварительно замоченные в суспензии смешанной культуры зеленых микроводорослей, прорастают быстрее и из них скорее развиваются растения, чем из необработанных семян. Выращивание растений в присутствии микроводорослей или фильтратов из их культур способствует увеличению массы корней и побегов (у ржи на 42–64 % и 17–27 % соответственно), а также более интенсивному росту проростков (Э.А.Штина и др., 1964).

Обработка семян суспензией клеток сине-зеленой микроводоросли *Naralosisphon* приводила не только к увеличению всхожести семян и урожайности растений, но и к повыше-

нию содержания в семенах первой репродукции общего азота, незаменимых аминокислот и липидов. Такая обработка приводила к прибавке урожая риса на 10-12 %, арахиса на 23-32%, арбуза на 25 % (Нгуен Тхи Куй, 1987). Указана также возможность использования неазотфиксирующих микроводорослей с целью регулирования роста и урожая риса.

Другими авторами (А.И.Стифеев, В.А.Лукьянов и др. 2013) проведены исследования с яровым ячменем в Центрально-Черноземном регионе. Так, для обработки семян использовали микроводоросль *Chlorella vulgaris* выращенной на среде Тамия согласно общепринятым нормам культивирования протококковых водорослей. Для проведения опыта использовали семена ячменя сорта «Суздалец».

За контрольный вариант была принята водопроводная вода, за второй - семена, обработанные хлореллой (*Chlorella vulgaris*).

Опыт проводился в условиях Курской ГСХА на кафедре «Экология и охрана природы». В таблице 2 приведены данные о влиянии суспензии хлореллы на энергию прорастания семян ячменя.

Таблица 2 – Энергия прорастания семян, 2011г.

Варианты опыта	Повторность				Среднее, %
	1	2	3	4	
1. Контроль	13	9	10	14	12
2. <i>Chlorella vulgaris</i>	46	34	41	44	41

Наибольшая энергия прорастания семян ячменя было на варианте с применением суспензии хлореллы и составила 41%. На варианте с применением дистиллированной воды, энергия прорастания была минимальной (12%). Таким образом, благодаря ценному биохимическому составу, суспензия хлореллы положительно влияет на энергию прорастания семян.

В таблице 3 приведена всхожесть семян ячменя с применением микроводоросли *Chlorella vulgaris*.

Таблица 3 – Всхожесть семян по вариантам опыта, 2011г.

Варианты опыта	Повторность				Среднее, %
	1	2	3	4	
1. Контроль	94	96	93	94	94
2. <i>Chlorella vulgaris</i>	100	99	100	100	100

Из приведенных в таблице данных видно, что на варианте с применением суспензии хлореллы всхожесть семян была максимальной и составила 100%. Все это подтверждает положительное влияние суспензии хлореллы на всхожесть семян.

На рисунке 10 представлены проросшие семена ячменя.



Рис. 10 – Проращивание семян ячменя по вариантам опыта, 2011г.
(слева с применением *Chlorella vulgaris*,
справа контрольный вариант)

Влияние микроводоросли *Chlorella vulgaris* на длину проростков семян ячменя приведена в таблице 4.

Таблица 4 – Длина проростков семян ячменя, 2011г.

Варианты опыта	Повторность				Среднее, мм
	1	2	3	4	
1. Контроль	14	11	15	13	13
2. <i>Chlorella vulgaris</i>	32	31	34	33	33

На контрольном варианте длина проростков резко отличалась от длины проростков с применением суспензии хлореллы. Так, на контроле длина проростков была минимальной - 13 мм по сравнению со вторым вариантом, где применялась суспензия хлореллы - 33 мм (В.А.Лукьянов, 2012).

Таким образом, микроводоросли положительно влияют микроводорослей на рост и продуктивность высших растений.

5.8 Влияние на урожайность сельскохозяйственных культур

Микроводоросли повышают урожайность сельскохозяйственных культур. По данным (М.М.Голлербах, Э.А.Штина, 1969) они обогащают почву органическими веществами, улучшают ее структуру, стимулируют рост полезных почвенных микроорганизмов. Кроме того, они являются источников физиологически активных веществ, играющих особую роль в почвенных процессах (Т.Т.Музафаров и др., 1977). Микроводоросли способны изменять рН в сторону нейтральной реакции среды. Там, где микроводоросли находятся в достаточном количестве, почва всегда нейтральная или слабощелочная. Под их влиянием водоудерживающая способность почв повышается до 50%.

Микроводоросли обогащают почву макро- и микроэлементами, являются продуцентами антибиотически активных веществ, которые благоприятно влияют на рост и развитие высших растений. Имеются различные способы внесения микроводорослей в почву. Многократные опыты показали, что их внесение возможно по разным фазам развития растений. После внесения они продолжают свой рост, где их биомасса увеличивается до 10-15 раз.

Весьма эффективно вносить микроводоросли в весенний и осенне-зимний период. При наступлении биологической зрелости почв (при температуре выше 10⁰С), особенно после дождей и полива, микроводоросли начинают очень бурно развиваться. Совместно с ними, возможно вносить куриный помет, навоз или их вытяжку для более высокой урожайности и высокого накопления биомассы. Изучение альголизации орошаемых земель и ее влияние на биологическую активность почв урожайность сельскохозяйственных культур и почвенного плодородия показало высокую эффективность применения этого метода в растениеводстве.

Так, по данным авторов (В.А.Лукиянов, 2012), микроводоросль *Chlorella vulgaris* увеличивала урожайность зерна ячменя в мелкоделяночном опыте на темно-серых лесных почвах по вариантам опыта. Работы проводились на территории учебно-опытного хозяйства «Знаменское» Курской ГСХА.

Таблица 5 – Урожайность зерна ячменя по вариантам опыта, 2012г.

Варианты	Повторность				Среднее, ц/га
	1	2	3	4	
1.Контроль	22,4	22,9	23,2	22,7	22,8
2.Обработка семян хлореллой (5л/т)	26,4	27,3	27,0	27,7	27,1
3.Внесение в почву (60 кг/га)	32,4	32,9	33,5	33,2	33,0
4. Обработка семян хлореллой (5л/т) +внесение в почву (60 кг/га)	44,6	45,9	46,4	45,5	45,6

Минимальная биологическая урожайность (22,8 ц/га) была получена на контрольном варианте (без применения хлореллы). При замачивании семян в течение 16 часов урожайность повысилась до 27,1 ц/га, что незначительно отличается от варианта, где вносили хлореллу в почву – 33,0 ц/га. При комплексном внесении хлореллы в почву и замачивании семян урожайность была значительно выше, чем на контроле и составила 45,6 ц/га.

5.9 Влияние на почвенное плодородие

Практические подходы к использованию почвенных микроводорослей для повышения почвенного плодородия в настоящее время развиваются в двух направлениях. Первое — это стимулирование автохтонного комплекса микроводорослей в почве. Как уже отмечалось выше, развитие водорослей стимулирует внесение минеральных удобрений. Синезеленые микроводоросли, как наиболее цепная в практическом отношении группа микроводорослей, нуждаются в таких агротехнических приемах, как, например, известкование почв, внесение фосфорных, молибденовых удобрений, положительно влияют на их развитие небольшие стартовые дозы азотных удобрений. Развитие микроводорослей улучшает агротехника с минимализацией обработки почвы, что уменьшает ее иссушение.

Второе направление — внесение живых культур микроводорослей в почву (альголизация). Ее проводят до посева растений или при посеве вместе с семенами (например, хлопчатника), либо микроводоросли вносят после посева, что оказалось особенно эффективно на рисовых полях. Альголизация как метод практического использования микроводорослей имеет значительные перспективы в условиях поливного земледелия.

В странах Юго-Восточной Азии, где сосредоточены основные площади мирового рисосеяния, альголизация успешно применяется и дает большой экономический эффект. В условиях умеренной зоны этот метод не продуктивен. Большой эффект дает совместное применение микроводорослей и бактериальных удобрений (азотбактерина, нитрагина и др.), агротехническое действие которых эффективно на фоне высокого плодородия. Важной задачей является поиск штаммов микроводорослей, обладающих высокой азотфиксирующей активностью, выживаемостью и способностью размножаться в природных условиях.

Роль микроводорослей как накопителей органического вещества особенно велика в биоценозах, развивающихся в экстремальных условиях, где высшие растения либо вообще не развиваются, либо ценозообразующая роль их существен-

но снижена. Например, на некоторых этапах формирования такыров микроводоросли служат единственным источником обогащения почвы органическим веществом. Их биомасса здесь составляла 0,5—0,7 т/га (в сухой массе). На водорослево-лишайниковых такырах это значение достигало (суммарно с лишайниками) 1,4 т/га. В полынных пустынях США водоросли накапливают до 300 кг/га органического вещества (Л.Н.Новичкова-Иванова, 1977).

В биологической продуктивности сформировавшихся фитоценозов доля органического вещества микроводорослей достаточно незначительна (1—2 % массы высших растений), однако микроводоросли, заполняя пространства, не занятые высшими растениями, служат фактором дополнительной ассимиляции лучистой энергии и дополнительной биомассы, что особенно ярко проявляется в случаях их массового разрастания на поверхности почв. Кроме того, за счет микроводорослей удлиняется вегетационный период фитоценоза, что также создает предпосылки дополнительной ассимиляции. Микроводоросли занимают поверхность почвы на полях, лугах с разреженным травостоем, эродированных участках, а также развиваются на антропогенных безжизненных субстратах. Биомасса микроводорослей при отсутствии их макроскопических разрастаний достигает 1 т/га, а при «цветении» почвы приближается к 15 т/га.

Роль микроводорослей как накопителей органического вещества особенно возрастает при применении минеральных удобрений, которые более эффективны в присутствии органического вещества и стимулируют их развитие (Э.А.Штина, 1977). Так, при весенней подкормке посевов, когда удобрения вносятся на влажную поверхность почвы, происходит бурное развитие водорослей, в результате чего почва «цветет», т. е. покрывается зеленым налетом.

Органическое вещество микроводорослей разлагается быстрее растительных остатков, что делает его более доступным для других обитателей биоценоза. Скорость мобилизации азота и углерода из биомассы микроводорослей определяется типом почвы и ее гидротермическим режимом. Интенсивность минерализации повышается при увеличении влажности и температуры почвы (Г.В.Мезенцева, 1987).

Учеными (Т.Т.Музафаров и др., 1977) на сероземных почвах установлено увеличение гуминовых кислот по сравнению с контролем на 45-55%. При альголизации почв микроводорослями происходит бурное развитие микробиологических и биохимических процессов. В результате образуются легкодоступные гумусовые вещества. Это в большей части гидролизующие формы, более подвижные, легко усваиваются микроорганизмами, а также образуют питательные вещества для высших растений.

Установлено (И.Д.Джуманиязов и др., 1977), что гидролизующие формы гумуса при применении микроводорослей достигают 43-75% по сравнению с контролем. Сняты спектры поглощения гумусовых веществ в опытных вариантах при длине волны в видимых областях 350-800 нм и ультрафиолетовых 200-350 нм. В опыте с видимыми областями гумусовые соединения и их оптическая плотность при длине волны D465 выше, чем в контроле. В ультрафиолетовой области оптическая плотность этих веществ при длине волны D 220 достигает максимума также по сравнению с контролем.

Другими авторами (В.А.Лукиянов, А.И.Стифеев, 2012) отмечено положительное влияние микроводорослей на содержание гумуса и основных макроэлементов. После уборки урожая, были отобраны почвенные образцы для агрохимического анализа. Биомасса микроводоросли *Chlorella* способствовала накоплению по вариантам опыта азота, фосфора, калия, а также отмечалось увеличение основного показателя почвенного плодородия – гумуса. Результаты агрохимического анализа почвенных образцов приведены в таблице 6.

Внесение микроводоросли хлореллы по вариантам опыта изменяло агрохимические свойства темно-серой лесной почвы. Ввиду того, что один из основных элементов питания (азот) был расходован на увеличение урожайности ячменя (таблица 5), то его содержание снижалось. Содержание гумуса было минимальным на контрольном варианте и постепенно увеличивалось по вариантам опыта.

Таблица 6 – Агрохимический анализ почвенных образцов по вариантам опыта, 2012г.

Варианты	N, мг/кг	P, мг/кг	K, мг/кг	Гумус, %
1.Контроль	68,0	115	115	2,77
2.Обработка семян хлореллой (5л/т)	64,6	116	122	2,79
3.Внесение в почву (60 кг/га)	58,5	118	150	2,83
4. Обработка семян хлореллой (5л/т) +внесение в почву (60 кг/га)	55,3	125	150	2,93

Таким образом, применение микроводоросли *Chlorella vulgaris* способствует легкой минерализации в течение вегетации и активизирует биологические процессы в почве.

6. МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ВИДОВОГО СОСТАВА ПОЧВЕННЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

При отборе почвенных образцов для исследования состава альгофлоры необходимо выполнять общие правила микробиологических анализов почвы: правильно отбирать среднюю пробу, соблюдать стерильность, правила этикетирования и хранения образцов, проводить сопутствующие анализы почвы и растительного покрова. В случае присутствия поверхностных разрастаний микроводорослей в виде общего позеленения почвы, зеленых, синезеленых или коричневых налетов, пленок и корочек, собирают поверхностный слой почвы с водорослями на участке, размеры которого могут быть различными в зависимости от однородности и компактности водорослевого налета - от 10 до 100 см². Для выявления микроводорослей в толще целинной почвы берут индивидуальные пробы весом 20-50 г, приуроченные к определенным растительным ассоциациям и определенному почвенному горизонту.

В окультуренных почвах берут смешанный образец весом 20-50 г, составленный из 5-10 исходных. Нередко приходится отбирать пробы из всего почвенного профиля, при этом рекомендуется отбирать пробы из середины каждого генетического горизонта, начиная с самых глубоких, и следить, чтобы частички почвы из верхних горизонтов не попадали в образцы из нижних слоев.

Во всех случаях пробы берут стерильным ножом, совком или лопатой. В полевых условиях стерилизация может быть проведена спиртом или многократным втыканием ножа в исследуемую почву.

Образцы почв отбирают в конверты из плотной бумаги, предварительно простерилизованные. Образцы исследуют в свежем виде или хранят в воздушно-сухом состоянии для последующего культивирования.

6.1 Прямое микроскопирование почвенного образца

Непосредственный просмотр небольшой порции почвы под микроскопом в препарате в капле воды дает представле-

ние о доминирующих видах. Таким путем обнаруживаются микроводоросли, образующие макроскопически заметные талломы (*Hostoc commune*, *N.flagelliforme*) или массовые разрастания на поверхности почвы (*Microcoleus vaginatus*). Однако для большинства видов эти препараты не дают представления обо всем многообразии содержащихся в почве форм.

Культуральные методы исследования состава почвенных микроводорослей. При выявлении видового состава водорослей используются разные варианты культурального метода. Задача культивирования в данном случае заключается в получении интенсивного роста всех имеющихся в почве микроводорослей, чтобы иметь достаточное количество особей каждого вида, находящихся на разных стадиях онтогенеза, для наблюдения, описания и идентификации. При этом обнаруживаются как виды, представленные активными стадиями, так и виды, сохраняющиеся в почве в покоящемся состоянии - в форме спор или цист. При постановке культур микрочувствительных водорослей применяют общепринятые приемы микробиологической техники, касающиеся стерильности посуды, питательных сред, воды и инструментов. Инкубацию культур проводят обязательно на свету.

Наиболее простым методом для выявления состава почвенной альгофлоры является метод "стекло обрастания". Исследуемую почву, по возможности в ненарушенном состоянии, помещают в стерильные чашки Петри и в увлажненном состоянии выдерживают на свету. Для увлажнения применяют дистиллированную воду или минеральную среду.

На поверхность почвы (одновременно с постановкой культуры или на следующий день) раскладывают стерильные покровные стекла в количестве 4-8 на чашку. Поверхность почвы в чашке должна быть в мелких неровностях, ее не следует уплотнять и заглаживать. Между стеклами и почвой должны оставаться небольшие свободные пространства - "влажные камеры". Почву периодически увлажняют до 80% от полной влагоемкости. На нижней поверхности "стекла обрастания" начинается развитие микроводорослей, преобладающих в данной почве. Обычно уже через 4-5 дней можно начинать просмотр стекол под микроскопом. Для этого по-

кровное стекло снимают с поверхности почвы пинцетом и, удалив с него крупные частички почвы, кладут на предметное стекло в каплю воды. Целесообразно просматривать не все стекла одновременно, а последовательно, с промежутками в 3-5 дней. Для полного выявления видового состава водорослей в почве достаточно 3-6 недель инкубации. К этому сроку стекла так интенсивно зарастают микроводорослями, что поселение каких-либо новых видов оказывается невозможным.

На стеклах обрастания быстро размножаются диатомеи, и стекла можно без дополнительных процедур использовать для приготовления постоянных препаратов.

Для приготовления водных культур используют питательные среды, содержащие все необходимые для роста водорослей элементы, в частности, азот, фосфор, серу, магний, железо, калий, кальций и микроэлементы.

Разработано множество питательных сред, применительно к тем или иным группам микроводорослей. Готовые питательные среды разливают по колбам из расчета 50-80 мл раствора на колбу емкостью в 100-150 мл. Удобнее всего пользоваться коническими колбами, но пригодна и другая посуда. Закупоренные ватными пробками колбы стерилизуют в автоклаве при 110° в течение 20 мин. Для посева берут определенную навеску почвы (обычно 1-2г) или определенный объем почвы. Желательно применять принцип средней пробы из каждого данного образца и 2-3-кратную повторность культур. Можно засеивать воздушно-сухую почву, но наилучшие сроки хранения, различны для неодинаковых почв и групп микроводорослей.

Развитие микроводорослей в водных культурах обычно становится заметным после 2-3 недель инкубации на свету. Наблюдается последовательность появления и исчезновения видов в культурах, что определяет необходимость многократного просмотра микроводорослей по мере их развития, начиная с трех недель и кончая 3-4 мес.

Для приготовления препаратов при изучении водорослей берут на предметное стекло пробы налетов и пленок со дна и стенок колб, с поверхности и из толщи раствора, соблюдая обычные приемы стерильности.

Агаровые культуры. Питательные среды с 1,5-2% агара применяются как для поддержания чистых культур, так и для выделения микроводорослей из почвы, которую наносят на поверхность агара в виде почвенного мелкозема. На агаре хорошо разрастаются диатомовые, зеленые и синезеленые микроводоросли, в том числе спорообразующие формы, медленно растущие на стеклах. Поскольку вокруг каждой мелкой почвенной частицы вырастает немного видов водорослей, а иногда только один вид, то с агаровых культур легко выделить альгологически чистые культуры. Инкубация всех культур проводится на свету. Чаще всего для инкубации служат различной конструкции люминистаты.

Разные виды культур имеют свои достоинства и недостатки. Так, водные культуры, хорошо выявляя общий состав обитающих в почве микроводорослей, могут дать неправильное представление о количественных соотношениях между видами и о доминирующих формах. Коррективы в эти представления вносят почвенные культуры со «стеклами обростания», выявляющие, в первую очередь, массовые и жизнедеятельные формы, или прямые наблюдения свежевзятой почвы. Необходимо учитывать, что во всех описанных культурах, особенно в почвенных, наряду с микроводорослями, хорошо развиваются протонема мхов, а иногда и заростки папоротников из спор, находящихся в почве.

Альгологически чистые культуры микроводорослей. Нередко для идентификации вида и изучения физиологических и экологических его особенностей необходимо получение альгологически чистых культур, т.е. культур, в которых содержится одновидовая популяция микроводорослей, но могут присутствовать разнообразные гетеротрофные организмы. Бактериологически чистые культуры, необходимые для физиолого-биохимических исследований, получить значительно труднее.

Выделение альгологически чистых культур производят разными способами: путем последовательных пересевов на агаровые среды и проведения материала через отдельную колонию с помощью обычной микробиологической техники; с помощью микропипетки, извлекающей из смеси микроводорослей отдельную клетку или колонию. Альгологически

чистые культуры микроводорослей получают и на мембранных фильтрах, на которых из смешанной культуры выделяют с помощью волоска нужные клетки при просмотре под микроскопом.

Их хранят обычно в специальных коллекционных люминистатах при пониженной температуре на свету и периодически пересевают. Основные учреждения, располагающие коллекциями почвенных микроводорослей: Институт филологии растений РАН, Институт биологии южных морей НАН Украины и др. научно-исследовательские институты.

6.2 Идентификация почвенных микроводорослей

Для идентификации почвенных микроводорослей нет специального определителя, и приходится пользоваться многотомными определителями пресноводных микроводорослей. Однако и в этих определителях еще не составлены выпуски, посвященные одноклеточным зеленым микроводорослям, что заставляет обращаться к отдельным журнальным статьям.

В данном руководстве мы ограничиваемся ключами для определения основных родов встречающихся в почве микроводорослей (приложение 2).

Не исключено, что при выделении из почвы могут встретиться микроводоросли, не описанные в таблицах. В начале дается идентификация отделов, затем родов. Для зеленых микроводорослей, наиболее разнообразных в почве, дано также и разделение по порядкам. В разных отделах водорослей основные систематические признаки различны. Так, для синезеленых основным критерием является строение тела - размеры, наличие влагалищ (чехлов), у нитчатых форм - ветвление и т.п.

Определение диатомовых микроводорослей ведется по пустым панцирям, для рассмотрения которых покровное стекло с водорослями прокаливается и препарат заполняется особой средой (или канадским бальзамом). При определении зеленых и желтозеленых микроводорослей большое значение имеют способы размножения, в частности образование подвижных зооспор или неподвижных автоспор. Обычно раз-

множение интенсивно происходит в водных культурах. Выяснение способов размножения требует наблюдательности, чтобы в накопительных культурах не спутать зооспоры и автоспоры с клетками микроводоросли. Многие мководоросли размножаются с наступлением темноты, поэтому существуют приемы затемнения культур перед просмотром. Нередко идентификация до рода возможна только после выделения водоросли в альгологически чистую культуру.

Предлагаемый ключ служит для предварительной характеристики почвенной альгофлоры. Определение до вида требует обращения к специальным определителям.

6.2.1 Количественный учет

Количество почвенных микроводорослей подвержено резким колебаниям и за короткий промежуток времени изменяется в значительных пределах, поэтому для установления количественных характеристик водорослевых группировок необходимы многократные учеты.

Отбор почвенных образцов и подготовка их к количественному анализу. Наблюдая изменение количественных показателей во времени, необходимо убедиться, что они не являются результатом пространственной гетерогенности почвы. Вопросы распределения микроводорослей в почве и методам отбора средней пробы посвящены многочисленные методические исследования. Для микроводорослей, рассеянных в толще почвы, характерно групповое (контагиозное) распределение. Микроводоросли в поверхностных разрастаниях подчиняются закономерностям случайного распределения.

При решении вопроса о размере выборки, репрезентативно характеризующей генеральную совокупность, отбору индивидуальных проб предпочитают среднюю пробу.

Усредненная проба может быть составлена из разного числа (от 5 до 10) индивидуальных почвенных проб. Пробы берут рендомизированным способом случайного отбора или располагают места отбора проб в шахматном порядке, не приурочивая их к массовым разрастаниям микроводорослей. Унификация в методике отбора проб и подготовки образцов к счету важна в такой же степени, как и творческое применение

ние имеющихся методов. В том и другом случае критерием точности экспериментальных данных служит их сравнимость и воспроизводимость.

Отбор почвенных образцов производят обычно с глубины 0-10 см, поскольку водоросли населяют преимущественно самый верхний слой почвы. Однако в некоторых случаях, в частности на пахотных почвах, приходится отбирать пробы и из нижележащих горизонтов.

Для определения массы микроводорослей в поверхностных разрастаниях берут пробы площадью 1 см² и глубиной 0,5-1,0 см и в дальнейшем рассчитывают данные не на вес, а на площадь почвы. Пробы в этих случаях следует брать специальным буриком с площадью сечения 1 см² (рис. 11).

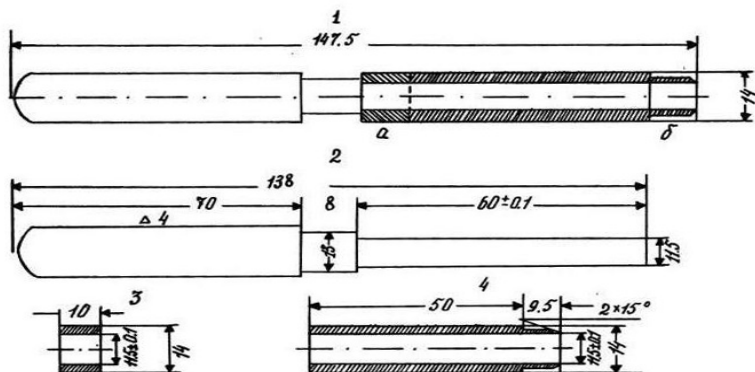


Рис. 11 – Бур для взятия проб почвы:
1-бур в собранном виде; 2-рукоятка с песником;
3- съемное кольцо; 4-гильза

При подготовке к количественному анализу необходимо добиться относительно равномерного, распределения клеток в объеме почвенного образца. Для этого необходимо разрушить почвенные комочки, десорбировать почвенные колонии, что достигается различными приемами. Используют те или иные варианты растирания, размола, размельчения на гомогенизаторе. В некоторых случаях гомогенизации пред-

шествует подсушивание образца. Перемешанную подсушенную почву распределяют ровным слоем толщиной 0,5 см в виде прямоугольника, который делят на квадраты. Для составления навески берут из каждого квадрата небольшое количество почвы, захватывая ее на всю глубину. Навески в 1 г помещают в пробирки или пеницилиновые склянки. Иногда берут за единицу учета 1 см^3 почвы, отбираемый из смешанного образца буриком. Во всех случаях определяют влажность почвы, при которой взята навеска или объемная проба. Повторность проб от 3 до 5.

Для очень влажных и медленно высыхающих образцов подбирают способы усреднения без высушивания (например, образцы тундровой почвы тщательно размешивают в воде), чтобы избежать гибели клеток микроводорослей.

Ф.Х.Хазиев предлагают проводить гомогенизацию образцов без предварительного высушивания путем приготовления суспензии из расчета 1 г почвы на 4-5 частей воды. Гомогенизации достигают размешиванием вручную или на размельчителе тканей в течение 15-20 мин (Ф.Х.Хазиев и Р.Р.Кабилов, 1986).

Счет микроводорослей проводят с помощью микроскопа, используя свежую почву (допустимо хранение в холодильнике при 5° увлажненной почвы в течение нескольких суток). Если немедленная обработка невозможна, образец почвы для счета водорослей можно сохранить в течение длительного времени. Для этого пробы для счета микроводорослей помещают в пробирки или невысокие пузырьки и фиксируют 4% формалином (объем 4-5 мл). Если за единицу почвы принимают 1 г, то навеску из средней пробы берут немедленно после доведения почвы до воздушно-сухого состояния, так как при длительном ее высушивании клетки водорослей деформируются и трудно выявляются при микроскопировании.

Если за единицу принимается 1 см^3 , то этот объем почвы, взятый из средней пробы, заливают формалином без предварительного высушивания. Можно фиксировать 1г не высушенной почвы, но в этом случае надо определить ее полевую влажность для последующего пересчета. В этикетке, вложенной в склянку, должно быть точно указано место и глубина взятия пробы, ее размер, дата.

Прямые методы количественного учета почвенных микроводорослей. Приготовление препарата для прямого учета микроводорослей среди почвенных частиц состоит в следующем.

Навеску почвы растирают в склянке, с добавлением небольшого количества воды или в том объеме формалина, в котором была зафиксирована почва. Для растирания используют пестик, изготовленный из препаровальной иглы с резиновым наконечником, вырезанным пробочным сверлом. Затем добавляют воду, доводя объем суспензии до 4 мл, и тщательно взбалтывают в течение 2 мин. После полуминутного отстаивания взвесь над осадком сливают в центрифужную пробирку. К осадку добавляют 3 мл воды, взбалтывают 1 мин, отстаивают 30 сек. и взвесь сливают в ту же центрифужную пробирку. Процедуру повторяют еще раз. После этого осадок отбрасывают. В зависимости от гранулометрического состава почвы и особенностей распределения в ней микроводорослей время растирания, взбалтывания и отстаивания можно менять, добиваясь, чтобы осадок не содержал водорослей.

Суспензию, слитую в центрифужную пробирку, разливают по нескольким пробиркам и центрифугируют 1 мин 500 г/мин. Осадок доводят до объема 10 или 20 мл, иногда до 40 мл в зависимости от густоты суспензии.

Каплю суспензии, после тщательного перемешивания в пробирке (не менее 1 мин) помещают на предметное стекло. Для отбора капли используют мерные пипетки со слегка подточенным носиком. Следует нанести на предметное стекло одну из первых капель, пока не нарушена гомогенность суспензии.

Нанося каплю суспензии, подсчитывают число капель в 1 мл и определяют, таким образом, ее объем. Для замедления подсыхания препарата в каплю суспензии можно добавить каплю глицерина, перемешивая смесь краем покровного стекла и добиваясь равномерного распределения микроводорослей в препарате. Каплю закрывают покровным стеклом. Препарат готов для микроскопирования.

Приготовленный препарат просматривают: при люминесцентном освещении, если почва свежая, или при обычном освещении микроскопа, если почва фиксирована формалином. Можно считать микроводоросли не во всей капле, а

только в части ее, просматривая, например, каждую вторую или каждую пятую полосу, равную по ширине диаметру поля зрения. Число просчитываемых полос устанавливается эмпирически в зависимости от разведения суспензии и количества микроводорослей в ней. Отмечают число встреченных в препарате микроводорослей, отдельно по систематическим группам: синезеленые (цианобактерии), зеленые и желтозеленые (вместе), диатомовые. При наличии многоклеточных форм указывают число особей и число клеток. Можно сразу измерять обнаруженные клетки и нити для последующего определения их объема и расчета биомассы. Для этого используют окуляр-микрометр. Цену линейки определяют с помощью объект-микрометра.

Люминисцентный метод учета микроводорослей. При просмотре почвенной суспензии под люминисцентным микроскопом водорослевые клетки выявляются за счет красного (на черном поле) свечения, обусловленного естественной флуоресценцией хлорофилла. Используются люминисцентные микроскопы МЛ-1, МЛ-2, МЛ-4. Наблюдения проводят в отраженном свете при максимально открытых полевой и апертурной диафрагмах. Для возбуждения флуоресценции используют свет с максимумом 365 мкм. Разграничение водорослей по группам достигается просмотром препарата под микроскопом при переключении света люминисценции на проходящий свет.

Используя люминисцентный микроскоп, можно упростить процедуру подготовки почвенной пробы к счету, в частности, исключить процедуры отмучивания и центрифугирования.

Предложен другой метод приготовления препаратов для люминисцентной микроскопии. Почвенную суспензию обрабатывают на ультразвуковом диспергаторе (2 кГц, 44 А, 2 мин), наносят на тщательно обезжиренное предметное стекло (0,01 мл на препарат) и равномерно распределяют по площади 4 см² (квадрат 2х2 см). При данной площади на каждом стекле можно приготовить 3 препарата. Препараты высушивают на воздухе при комнатной температуре, фиксируют их легким нагреванием и микроскопируют. Число микроводорослей в 1 г почвы рассчитывают по формуле:

$$N = a \cdot n \cdot S / p, \text{ где}$$

a - среднее число клеток в поле зрения;

p - площадь поля зрения (мкм^2);

n - показатель разведения;

S - площадь мазка

В данном случае площадь мазка 4см^2 или $4 \cdot 10^8 \text{мкм}^2$. Тогда формула примет вид:

$$N = 4 \cdot a \cdot n / p$$

При отсутствии люминисцентного микроскопа можно использовать люминисцентные подставки ОИ-17, ОИ-18. Хорошее свечение клеток наблюдается при использовании светофильтров СФ-1, теплозащитного СЗЗ-7, запирающего КС-18 и их аналогов. Нельзя применять в люминисцентном микроскопе пробы, зафиксированные формалином, т.к. он гасит естественную флуоресценцию клеток микроводорослей (Г.М.Зенова, Э.А.Штина, 1990).

7. КИНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РОСТА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Существует два способа культивирования клеток микроводорослей: накопительный (периодический) и непрерывный (А.С.Лелеков, 2007). В случае накопительного способа выращивания в освещаемый культиватор, заполненный питательной средой, содержащей необходимые для роста биогенные элементы, вносится небольшое количество клеток микроводорослей (инокулят). Рост микроводорослей приводит со временем к увеличению концентрации клеток до некоторой максимальной плотности культуры (В.Е.Кокова, 1976). Эта плотность ограничена либо элементами минерального питания, либо интенсивностью света, либо накоплением метаболитов, либо другими физико-химическими условиями среды. Графически такой рост изображается S - образной кривой, форма которой зависит от условий, в которых выращиваются клетки, и кинетических характеристик культуры микроводорослей (Ю.Л.Гуревич, 1984).

Совсем иная картина будет наблюдаться при вмешательстве экспериментатора в процессы роста в любой фазе развития периодической культуры, например, при разбавлении культуры питательной средой (С.Д.Перт, 1978). Картина роста будет зависеть от величины этого разбавления и используемой среды. При определенных условиях (неизменность биохимического состава, возрастной структуры популяции клеток, концентрации метаболитов и др.) динамика роста после разбавления будет повторять прежнюю (Р.П.Тренкеншу, 1999). Процедуру разбавления можно повторять неоднократно, в результате чего в культиваторе будет наблюдаться непрерывный рост культуры. Подбирая относительные объемы и моменты разбавления можно управлять процессами роста микроводорослей. Разбавление культуры представляет собой основу управления ростом микроводорослей.

Причем управление ростом в культуре может осуществляться только по плотности культуры и времени, что следует из определения кинетических характеристик роста. Действительно, выбирая относительный объем разбавления можно

уменьшать плотность культуры до необходимой величины, а, изменяя промежуток времени между разбавлениями, можно повышать плотность до необходимой за счет роста культуры. Ясно, что регулирование имеет пределы, определяемые внешними условиями и предельными видоспецифическими характеристиками роста микроводорослей.

В связи с изложенными аспектами возникает вопрос о способах культивирования микроводорослей. Разработке систем культивирования микроводорослей посвящено немало литературы (С.Д.Перт, 1978; J.Fabregas, 1998; A.Novick, 1950). Авторы предлагают разные виды конструкций, начиная от самых элементарных лабораторных культиваторов, заканчивая автоматизированными промышленными системами (R.Ukeles, 1976; A.Vonshak, 1986).

Реально в научно-исследовательских учреждениях в качестве лабораторных культиваторов традиционно используется химическая посуда. При этом, как правило, процедура измерения поверхностной радиации практически не учитывает расхождение форм освещаемых поверхностей. При перемешивании суспензии барботированием воздухом или газовой смесью довольно приблизительно указывается количество воздуха на единицу объема перемешиваемой суспензии. Указанные обстоятельства не дают возможности корректного сравнения экспериментальных данных, например, для расчета кинетических характеристик роста микроводорослей.

В основе метода лежит деление накопительной кривой на следующие фазы: лаг-фаза, экспоненциальная фаза, линейная фаза, фаза замедления роста, стационарная фаза и фаза отмирания. Каждая фаза характеризуется постоянством какого-либо кинетического параметра (Р.П.Тренкеншу, 2005). Описанный способ расчета кинетических характеристик роста носит приближенный характер из-за условности границ фаз роста, но он незаменим для сравнения различных накопительных кривых роста. Стоит отметить, что чем больше экспериментальных точек на каждой фазе накопительной кривой, тем выше качество расчетных характеристик.

Основной кинетической характеристикой роста микроводорослей является скорость роста, которая определяется

процессами фотобиосинтеза и зависит от скорости синтеза биомассы. В общем случае, рост и биосинтез компонентов клетки является результатом двух процессов: собственно фотосинтеза и дыхания (Р.П.Тренкеншу, 2005). Расходы на дыхание, связанные с ростом (фотодыхание) пропорциональны "чистому" фотосинтезу, их трудно вычлениить из общего процесса, обычно при моделировании подразумевается, что "чистый" фотосинтез уже включает этот процесс. Поэтому рост можно рассматривать как разность двух процессов: "чистого" фотобиосинтеза и "темнового" дыхания. Итак, продуктивность (скорость роста) культуры – это кинетическая характеристика, показывающая количество синтезируемой биомассы в единицу времени:

$$P = \frac{dB}{dt}$$

Удельная скорость роста – кинетическая характеристика, показывающая сколько единиц биомассы синтезирует каждая единица биомассы в единицу времени:

$$\mu = \frac{1}{B} \cdot \frac{dB}{dt}$$

Удельная скорость дыхания – кинетическая характеристика, показывающая относительное количество биомассы, распадающейся в единицу времени:

$$\mu_r = \frac{1}{B} \cdot \frac{dB_r}{dt}$$

Определение этих параметров позволит количественно описать динамику роста микроводорослей в условиях периодического (накопительного) культивирования. Для проведения подобного анализа рассмотрим накопительную кривую, представленную на рисунке 12.

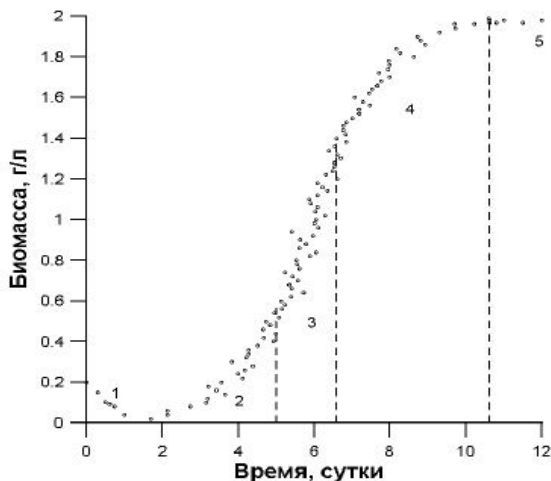


Рис. 12 - Накопительная кривая и фазы роста:
 1 - лаг-фаза, 2 - экспоненциальная, 3- линейная,
 4 - замедления, 5 - стационарная.

Лag-фаза. Как правило, для первоначального периода роста и развития культуры характерно либо отсутствие роста, либо скорость отрицательна, при этом происходит уменьшение числа клеток или биомассы. В это время клетки микроводорослей адаптируются к новым условиям среды. Длительность периода занимает от нескольких минут до нескольких суток, в зависимости от различия условий, в которых клетки находились до внесения их в данную среду и новыми условиями. Динамика роста культуры на этой фазе описывается зависимостью:

$$B = B_0 \cdot e^{(-\mu_r \cdot (t-t_0))}$$

где μ_r - удельная скорость темнового дыхания (расхода биомассы на поддержание структуры);

B_0 - биомасса в начальный момент времени t_0 .

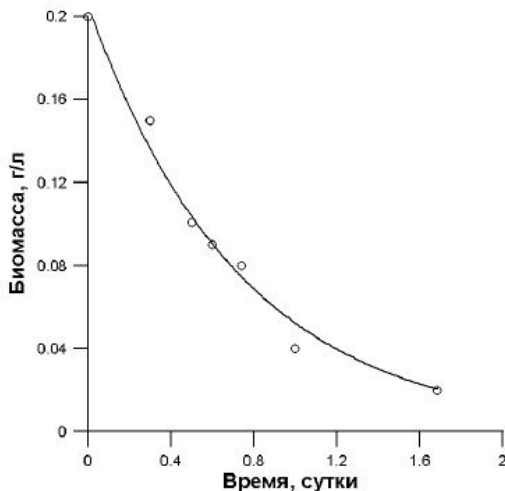


Рис. 13 - Аппроксимация лаг-фазы уравнением

Аппроксимируем лаг-фазу роста данным уравнением, предварительно задавая значения B_0 и t_0 (рис. 13).

Экспоненциальная (логарифмическая) фаза. Величина удельной скорости в этой фазе роста определяется, в основном, световыми условиями, которые для низких плотностей культуры неизменны, т.к. клетки не затеяют друг друга. Этот период характеризуется постоянством удельной скорости роста: $\mu t = const$. Для логарифмической фазы роста применимы следующие уравнения:

$$B = B_{ln} \cdot e^{(\mu_m \cdot (t - t_{ln}))}$$

$$\mu = \mu_m \cdot e^{(\mu_m \cdot (t - t_{ln}))}$$

где μ_m – максимальная удельная скорость роста

B_{ln} – концентрация биомассы в момент времени t_{ln} .

Аппроксимируем экспоненциальную фазу роста данным уравнением, предварительно задавая значения B_{ln} и t_{ln} (рис. 14).

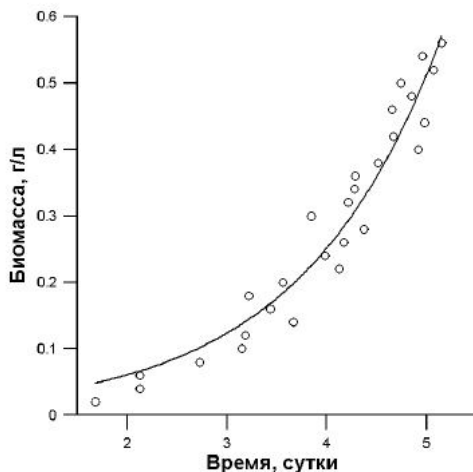


Рис. 14 - Аппроксимация экспоненциальной фазы уравнением

Фаза линейного роста. Практически всегда на кривой роста микроводорослей можно выделить прямолинейный участок. Это указывает на постоянство скорости роста (продуктивности культуры, $P = P_m = const$). Как правило, на линейном участке скорость роста определяется величиной внешнего потока углерода в газообразной форме, который полностью поглощается культурой и ограничивает продуктивность культуры в целом. Для фазы линейного роста зависимость биомассы от времени записывается в следующем виде:

$$B = B_l + P_m \cdot (t - t_l)$$

где B_l – концентрация биомассы в момент начала линейной фазы t_l .

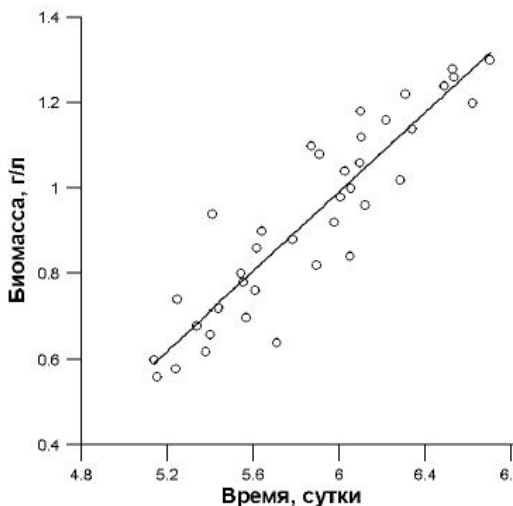


Рис. 15 - Аппроксимация фазы линейного роста уравнением.

Аппроксимируем экспоненциальную фазу роста данным уравнением, предварительно задавая значения B_l и t_l (рис. 15).

Фаза замедления. Фаза замедления роста у микроводорослей характеризуется тем, что скорость роста на этом участке накопительной кривой уменьшается. Это замедление может быть вызвано двумя причинами. В одном случае происходит смена лимитирующего фактора, т.е. концентрация какого либо биогенного элемента в среде уменьшается до уровня, при котором скорость синтеза определяется уже данным элементом, согласно кинетике Михаелиса-Ментен. В конце фазы скорость роста снизится до нуля. В другом случае плотность культуры достигает величины, при которой скорость синтеза, определяемая внешним потоком, становится сравнимой со скоростью дыхания культуры, т.е. в конце фазы культура достигает компенсационного пункта фотосинтеза. Эта фаза характеризуется постоянством удельной скорости дыхания μ_r . Для фазы замедления зависимость биомассы от времени записывается в следующем виде:

$$B = B_m + (B_m - B^l) \cdot e^{-\mu_r \cdot (t - t^l)}$$

где B_m – концентрация биомассы на стационарной фазе; B^l – концентрация биомассы в конце линейной фазы t^l .

Аппроксимируем фазу замедления роста данным уравнением, предварительно задавая значения B_m , B^l и t^l .

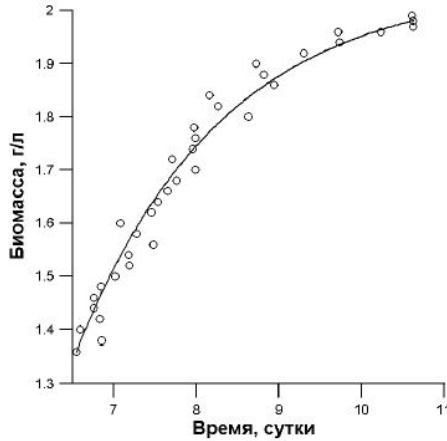


Рис. 16 - Аппроксимация фазы замедления уравнением

Результаты представлены на рисунке 16. Продолжительность фазы замедления принята равной с шестых суток (включительно) по одиннадцатые.

Стационарная фаза. Характеризуется прекращением роста микроводорослей ($\mu = 0$, $P = 0$). Культура достигает максимальной плотности B_m , величина которой зависит от световых условий, первоначальной концентрации субстрата, газовой среды и других физико-химических условий.

При этом стационарность плотности по биомассе может не совпадать со стационарностью по концентрации клеток. Длительность стационарной фазы различна и может достигать нескольких суток.

Для описания динамики биомассы на этой фазе используется выражение:

$$B - B_m$$

где B_m - концентрация биомассы на стационарной фазе.

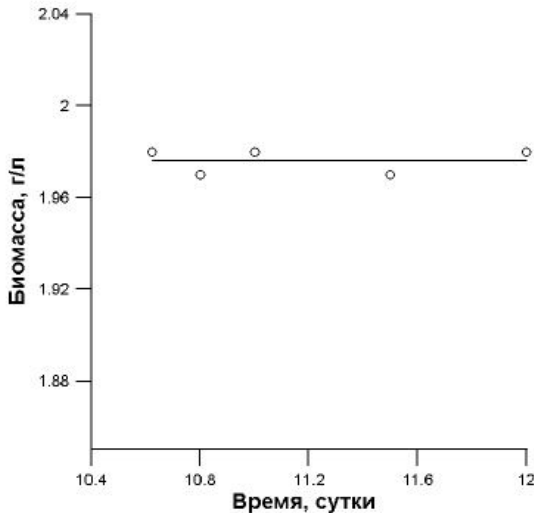


Рис. 17 - Аппроксимация стационарной фазы уравнением

В представленной накопительной кривой продолжительность стационарной фазы роста указана на рисунке 17. Аппроксимируя стационарную фазу данным уравнением, получаем значение B_m .

Фаза отмирания. В фазе отмирания наблюдается превалирование процессов дыхания над процессами синтеза. Скорости роста (отрицательные) будут равны скоростям распада. В фазе отмирания происходят глубокие физиологические изменения клеток микроводорослей, вплоть до их гибели. Происходит распад биомассы, что, как правило, приводит к развитию бактерий. Возникает некий новый альгобактериальный ценоз, т.е. культура микроводорослей прекращает существование. Если культуру микроводорослей из этой фазы использовать в качестве инокулята для новой периодиче-

ской культуры, то часть клеток не сможет возвратиться к нормальной жизнедеятельности. Уравнение динамики плотности культуры в фазе отмирания аналогично уравнению для лаг-фазы:

$$B = B_m \cdot e^{(-\mu_r \cdot (t - t_{st}))}$$

где μ_r – удельная скорость темного дыхания,
 B_m – плотность культуры на стационарной фазе,
 t_{st} – время окончания стационарной фазы.

В нашем случае фаза отмирания отсутствует. Определение характеристик культуры здесь происходит аналогично, используя последнее уравнение.

Таким образом, полученные значения кинетических характеристик роста подставим в уравнения, тем самым мы функционально задаем рост культуры на каждой из фаз. Это позволит вычислить плотность культуры в произвольный момент времени, а также при проведении повторных экспериментов в будущем при аналогичных условиях (рис. 18).

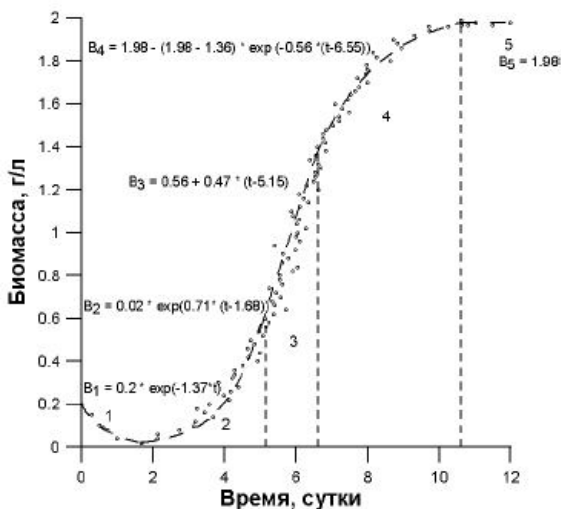


Рис. 18 - Соответствие расчетных кривых и экспериментальных данных

Рассматривая накопительную кривую в целом, заметим, что на границах фаз роста из-за ошибок измерений или определения характеристик культуры будет наблюдаться либо неоднозначность, либо изломы, что никак не вписывается в представление о непрерывности функции роста. Однако, уменьшение измерительной ошибки и промежутка между измерениями устранил указанное несоответствие.

Все ростовые характеристики и уравнения роста культуры на каждой фазе можно свести в таблицу 7.

Таблица 7 – Распределение фаз роста и соответствующие им значения

Фазы роста	Кинетические характеристики	Уравнения роста
Лаг-фаза	$\mu_r = 1.37$	$B = 0.2 \cdot e^{-1.37t}$
Логарифмическая	$\mu_m = 0.71$	$B = 0.02 \cdot e^{0.71 \cdot (t-1.68)}$
Линейная	$P_m = 0.47$	$B = 0.56 + 0.47 \cdot (t - 5.15)$
Замедления	$\mu_r = 0.56$	$B = 1.98 - (1.98 - 1.36) \cdot e^{-0.56 \cdot (t-6.55)}$
Стационарная	$B_m = 1.98$	$B = 1.98$
Отмирания	не анализировалась	

Если в опытах измеряются биохимические показатели, то полученные уравнения можно применить для описания динамики исследуемых компонентов клеток и найти соотношение кинетических характеристик, например, количественно описать динамику содержания данного компонента в биомассе или в клетке. Такая количественная оценка очень важна для прогнозирования роста и состава клеток при изменении условий выращивания.

8. СПЕКТРАЛЬНЫЙ СОСТАВ СВЕТА И ИСТОЧНИКИ ИСКУССТВЕННОГО ОСВЕЩЕНИЯ

Светокультура растений изучает теоретические основы и методы выращивания растений с помощью искусственного облучения. В этом случае растения не создают новых запасов энергии на земле, как в природе, а лишь трансформируют лучистую энергию ламп в химическую энергию растений.

Основные пигменты зеленых микроводорослей - это хлорофиллы а и b с максимумами поглощения света в областях длин волн 430 и 662 нм и каротиноиды (425-493 нм); для синезеленых (цианобактерий) - хлорофилл а, фикоцианин (550-615 нм); для красных одноклеточных водорослей, например, *Porphyridium* - хлорофиллы а, b и фикоэритрин (495-565 нм). Набор пигментов в клетке микроводорослей перекрывает широкий частотный диапазон видимого света. Некоторый провал в спектре поглощения зеленых форм микроводорослей имеется в области 510-590 нм, но при достаточно высокой концентрации биомассы (2-5 г/л) и толщине слоя (2-3 см) суспензия клеток поглощает практически всю энергию падающего света.

При искусственном освещении целесообразно использовать источники света с высокой эффективностью преобразования электрической энергии в световую в видимой области.

Утилизация захваченного кванта света ФАР реакционными центрами фотосистем растений и микроводорослей не зависит от его частоты, и естественно возникает желание использовать длинноволновое освещение (650-670 нм) с энергией кванта, в 1,5-1,7 раза меньшей по сравнению с коротковолновой видимой областью. Однако микроводорослям, так же как и высшим растениям, безразличен спектральный состав падающей световой энергии (качество света).

Растения сформировались в условиях непрерывного солнечного спектра, и кроме первичных реакций фотосинтеза в клетке существует много других светозависимых реакций, активируемых различными пороговыми значениями интенсивностей и энергии света в разных областях спектра. Качество света влияет на метаболизм клеток, на накопление пигментов и основных компонентов биомассы (В.Е.Семененко и

др., 1966; Ю.Н.Филипповский и др., 1966). Тем не менее, для полноценного ведения процесса выращивания микроводорослей и большинства растений достаточно добавки к красному свету небольшого количества (7-10%) синего.

На рис. 19 представлены спектральные характеристики некоторых источников света, полученные с помощью спектро радиометра LI 1800 фирмы LI-Cor (Цоглин и др., 1990). Все лампы имеют линейчатый спектр излучения в видимой области.

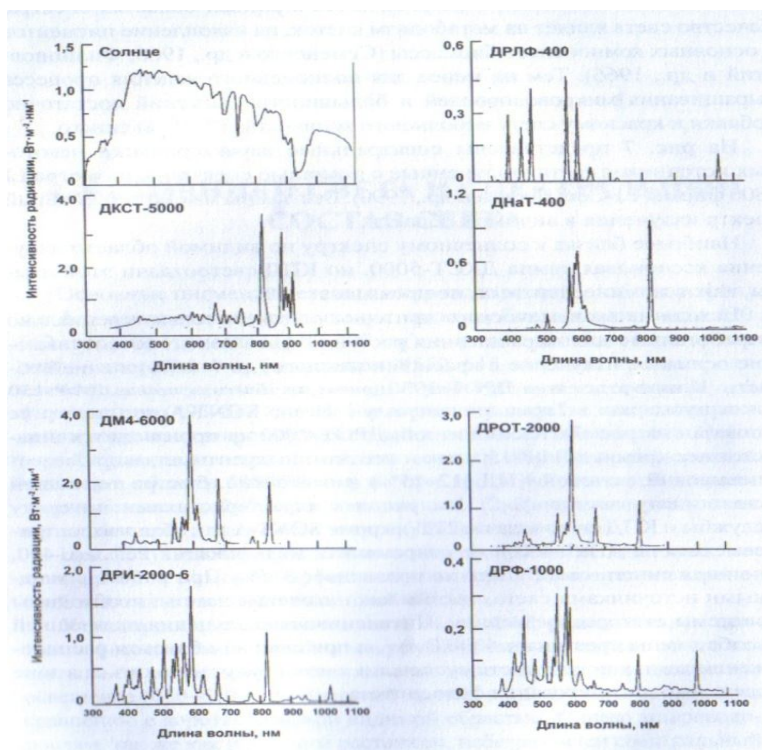


Рис. 19 – Спектральные характеристики различных источников освещения

В настоящее время наиболее широкое применение нашли газоразрядные лампы и в меньшей степени — лампы

накаливания. Источник лучистой энергии и газоразрядных лампах — излучение газов или паров металлов, возникающее при газовом разряде. В лампах накаливания, отличающихся невысокой стоимостью, простотой в обращении и высокой мощностью лучистого потока, источником излучения служит раскаленная вольфрамовая нить.

Наиболее близка к солнечному спектру по видимой области излучения ксеноновая лампа ДКСТ-5000, но КПД светоотдачи этой лампы, как и люминесцентных, не превышает 15%.

Исходя из экономического критерия подходят только специально разработанные для выращивания растений фитолампы, обеспечивающие основное излучение в красной и немного (до 7-10%) в синей области. К ним относятся ДРОТ-2000, люминесцентная лампа ЛФР-150 и выпускаемая в Германии натриевая лампа SONT-Agro. К сожалению, ДРОТ-2000 не производится в настоящее время, а ЛФР-150, как и все люминесцентные лампы, имеет невысокий световой КПД (12-15%) и нестойкий, быстро горящий светоотдачу люминофор. Наилучшими характеристиками по сроку службы и КПД светоотдачи (27%), кроме SONT-Agro, обладают натриевые лампы ДНАТ-400 и ее современная модификации Рефлак-400, но доля синего света у них не превышает 3-5%. При работе с мощными источниками света, такими как натриевые лампы, необходимы системы светораспределения. Интенсивность излучения па внешней колбе лампы превышает 4000 Вт/м^2 , и при слишком близком расположении ламп к поверхности суспензии клетки будут находиться в зоне светового ингибирования фотосинтеза.

При этом установлены следующие соотношения между единицами измерения световых характеристик (табл. 8). Например, для лампы ДКСТ-5000 отношение общей освещенности в люксах (лк) к фотосинтетически активной радиации в $\text{мкмоль}/(\text{м}^2 \text{ с})$ или ФАР(к) равно 74,2, отношение ФАР(к) к суммарной облученности в Вт/м (СР) — 3,16 и отношение ФАР(к) к ФАР, выраженной в Вт/м , или ФАР(э) — 4,46. Таким образом, измерив освещенность в люксах, можно легко рассчитать облученность в Вт/м^2 (ФАР или общую) или поток квантов в области ФАР в $\text{мкмоль}/(\text{м}^2\text{с})$. В таблице 9 при-

ведены сведения о световых характеристиках некоторых типов ламп.

ДРЛФ-400 — дуговые ртутно-люминесцентные фитолампы мощностью 400 Вт. Из-за отсутствия в спектре этих ламп излучения в красной (640–680 нм) области спектра, они непригодны для выращивания растений при полном искусственном освещении. Досвечивание лампами ДНаТ-400 может существенно «улучшить» спектр. Вместе с тем лампы ДРЛФ-400 также используют для досвечивания микроводорослей как источник сине-фиолетовой радиации, которой недостаточно в солнечном спектре в зимнее время.

Таблица 8 - Световые характеристики основных типов ламп

Тип лампы	лк/ ФАР(к)	ФАР(к)/ СР	ФАР(к)/ ФАР(э)	КПД ФАР, %
ДКСТ-5000	74,2	3,16	4,46	12-13
ДРЛФ-400	76,7	3,03	4,54	12
ДНаТ-400	116,0	2,90	3,72	28-30
ДМ4-6000	118,0	2,45	3,00	28-30
ДРИ-2000-6	84,1	2,90	4,11	29-30
ДРОТ-2000	108,0	2,69	3,37	25

ДНаТ-400 — натриевые лампы высокой давления мощностью 400 Вт. Лампы имеют высокий КПД ФАР, но неполноценный по спектру. Для его «исправления» необходимо добавить излучение в синей области и в красном спектральном диапазоне 660–680 нм. Эти лампы эффективны при досвечивании.

Металлогалогенные лампы (МГЛ). Выпускаются с добавками йодидов металлов, более перспективны в сравнении с вышеперечисленными лампами, так как обладают высоким КПД (25–30 %) и относительно полным спектром.

ДМ4-6000 — это трехфазная МГЛ мощностью 6 кВт с наполнением йодидом натрия и скандия, с достаточно длительным сроком службы. Основной недостаток лампы — неполноценность спектра, обусловленная снижением доли излучения в синей и красной областях.

ДРИ-2000-6 — МГЛ мощностью 2 кВт с наполнением йодидом натрия и скандия. По КПД и спектральным характеристикам эта лампа является лучшей среди МГЛ, применяемых для выращивания микроводорослей.

ДРФ-1000 — МГЛ-светильник мощностью 1 кВт с йодидом натрия и скандия в качестве наполнителей, широко применяют для выращивания различных видов растений. Для «улучшения» спектрального состава света необходимо добавить излучение в красной области — 650—680 нм.

Хороший результат по «исправлению» спектрального состава света при выращивании микроводорослей дает комбинирование этих источников с люминесцентными лампами красного света ЛК-65 или сочетание последних с лампами накаливания с отношением мощностей 3—4:1 (Н.Н. Протасова, Дж.М. Уеллис, М. В. Добровольский, Л.Н Цоглин, 1990).

9. МИНЕРАЛЬНОЕ ПИТАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Среди многочисленных проблем, возникающих при интенсивном культивировании микроводорослей, важное место занимает вопрос обеспечения их элементами минерального питания. Ряд водорослей (хлорелла, сценедесмус, спироулина и др.) с белковой направленностью биосинтеза характеризуются высокими потребностями в азоте (В.В. Упитис, 1983).

Азот. Обеспеченность клеток указанным элементом в значительной степени определяют процессы биосинтеза. Исключение азота из питательной среды быстро приводит к замедлению роста водорослей. В дальнейшем, после использования внутриклеточных запасов азота (их хватает для 3-х кратного увеличения биомассы) биосинтез полностью прекращается. При азотном голодании снижается синтез белка, интенсивно образуются углеводы и липиды.

Недостаток азота вызывает образование мелких клеток, которые в дальнейшем не делятся, но масса и диаметр их могут увеличиваться в результате накопления липидов. Глобулы, содержащие липиды, постепенно занимают большую часть клетки.

При добавлении азота к голодающей культуре водорослей, их клетки увеличиваются, приобретают зеленый цвет, глобулы исчезают. Через несколько суток культивирования появляются физиологически полноценные по своей природе клетки, начинается их интенсивное деление. Таким образом, изменения, вызванные азотным голоданием, обратимы.

В качестве источника азота применяются нитрат калия (натрия), сульфат аммония, нитрат аммония, бикарбонат аммония, мочевины. Выбор той, или иной соли зависит от того, для какой цели происходит выращивание водорослей.

В производстве используется натрий или калий азотно-кислый – NaNO_3 или KNO_3 .

Фосфор. Как один из главных элементов, фосфор играет важную роль в обмене веществ. Азотный и углеводный обмен, а также энергетика клеток как у микроводорослей, так и у других фотоавтотрофов тесно связаны с биохимическими реакциями, протекающими при участии фосфора. Фосфаты

принимают участие в образовании в клетках буферных систем, поддерживающих реакцию среды.

Фосфор входит в состав конституционных соединений протоплазмы и ядра (фосфопротеиды, сложные эфиры фосфорной кислоты и углеводов, нуклеопротеиды, фосфатиды и др.). Водоросли используют фосфор преимущественно в форме PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , HPO_4^- . Ряд водорослей, в том числе *Scenedesmus* и *Chlorella*, способны использовать фосфор органических соединений. Эту способность связывают с наличием на внешней поверхности клеток одной или нескольких фосфотаз.

Поглощение фосфора микроводорослями происходит с затратами энергии, поэтому оно зависит от фотосинтеза и дыхания. В голодающих по фосфору клетках фосфаты, вскоре после их поглощения преобразуются в полифосфаты, который можно рассматривать как форму, в которой фосфор запасается в клетке.

Недостаток фосфора у микроводорослей отрицательно сказывается в первую очередь на процессах ассимиляции, тогда как клетки делятся нормально. В итоге замедляются темпы роста и процессы накопления сухого вещества, в том числе и запасные. Идет смещение биохимического состава в сторону накопления углеводов.

Фосфор является неотъемлемым элементом для усиления в общей питательной среде буферной способности.

Поглощение клетками микроводорослей фосфора в значительной степени обусловлено температурным режимом. Так, при температуре, ниже оптимальной на 10°C в клетках *Oscillatoria* фосфора содержится в два раза больше, чем при оптимальной. Аналогичные данные получены и с микроводорослью *Chlorella*.

В производстве используется калий фосфорнокислый – K_2HPO_4 (одно- и двухзамещенный).

Калий. Незаменимый элемент питания для большинства видов микроводорослей. Лишь иногда он может быть заменен на натрий и рубидий. В клетках он содержится в растворимой форме и в большей мере определяет коллоидно-химические свойства цитоплазмы и функциональную активность клеток. Хотя калий не входит в состав таких важней-

ших соединений, как белки углеводы, липиды, но присутствие калия необходимо для синтеза данных соединений. Поглощение калия клетками микроводорослей (*Chlorella*, *Scenedesmus* и др.) – активный метаболический процесс, который напрямую связан с использованием световой энергии в автотрофных условиях или органических соединений (глюкозы) при гетеротрофным питании.

При недостатке калия у микроводорослей ингибируется фотосинтез и усиливается дыхание. Нарушается утилизация углеводов, в результате чего наблюдается их повышение в клетках. По мере увеличения степени недостатка калия проявляется хлороз. Тем не менее, вызванные нарушения обратимы и при добавлении в среду калия его содержание быстро компенсируется, процесс дыхания постепенно останавливается, происходит ремобилизация накопленных углеводов и наступает уравнивание их с белками.

Калий часто вносится в среду в концентрациях больших, чем требуется для микроводорослей, что связано с применением нитрата калия, дозируемого, как правило, по азоту, а также с использованием фосфатов калия для увеличения буферности среды и гидроокиси калия для нейтрализации питательного раствора.

Недостаток калия микроводоросли обычно не испытывают, ввиду его немалых концентраций в общей питательной среде.

Магний. Роль магния в питании фотоавтотрофов очень существенна. Он входит в состав хлорофилла и ряда других органических соединений. Магний, связанный с органическими веществами клетки, участвует во многих ферментативных процессах. Особенно существенна его роль в процессе фотосинтеза и сопряженных с ними реакциях.

При недостатке магния в питательной среде увеличивается количество углеводов, снижается продуктивность биомассы, что происходит за счет снижения биосинтеза белка. Однако быстрого ингибирования фотосинтеза при недостатке магния (в сравнении с калием) не наблюдается. После добавления магния в среду возобновляется синтез белка.

Магний обычно используется в виде сульфата, который одновременно служит с одной стороны источником магния,

а с другой стороны – серы. Кроме того, их соотношении для микроводорослей примерно одинаково по потребности.

В производстве используется магний сернокислый – $MgSO_4$.

Сера. Необходимый элемент для микроводорослей, входит в состав белков, ферментов, пептидов, серосодержащих аминокислот, а также является компонентом многих других органических соединений клетки. Некоторые соединения серы участвуют в окислительно-восстановительных реакциях, биосинтезе и метаболизме различных веществ. Роль серы важна в определении свойств и структурных превращений белковой молекулы.

Большинство водорослей усваивают окисленные соединения серы – сульфаты. Дальнейший их путь в клетке – включение в общий метаболизм, восстановление до сульфгидрильного уровня.

Недостаток серы у микроводорослей (*Chlorella*) проявляется при уменьшении ее поступления до 3,3 г/кг продуцируемой биомассы. Однако скорость биосинтеза снижается не сразу, а постепенно, на вторые сутки культивирования, при третьем-четвертом удвоении биомассы. Наблюдается нарушение клеточного метаболизма. Появляются не встречающиеся в нормальной популяции клетки диаметром выше 7 мкм, некоторые достигают 11 мкм, что свидетельствует о преимущественном поражении механизма клеточного деления при сохранении биосинтеза. Наблюдается агглютинация клеток, сильно уменьшается содержание в них хлорофилла и увеличивается выделение метаболитов в среду.

Если голодающие по сере клетки перенести в среду, содержащую только серу, то они растут и увеличиваются в размерах, происходит синтез ДНК и дальнейшее деление ядра, но не клетки. При введении в среду, наряду с серой азота, отмечается деление клетки с выходом автоспор. При голодании по сере в клетках микроводорослей накапливается значительное количество липидов в противовес углеводам.

В производстве сера используется в виде сульфата, но некоторые виды способны ее использовать из других источников различных соединений. При избытке серы в питательной среде происходит торможение потребления клетками мик-

роводородслей селена, если таковой присутствует в данной питательной среде.

Недостаток серы микроводоросли обычно не испытывают, ввиду его немалых концентраций в общей питательной среде.

Кальций. Потребность микроводорослей в кальции различна. По сравнению с высшими растениями, его нужно намного меньше, и с этой точки зрения, его можно приравнять к микроэлементам.

Недостаток кальция проявляется, как правило, лишь при специальной очистке среды от следов. При удалении этого элемента из питательной среды наблюдается очень слабый рост микроводорослей. Уже при его количестве 0,001 мг/л и выше, отмечается нормальное развитие культуры. Увеличение содержания кальция выше 0,2 мг/л не приводит к усилению роста.

Необходимость кальция для питания микроводорослей связывают его с участием в процессах образования и выхода автоспор из материнских клеток. При созревании автоспор, постепенно возрастает давление на оболочку материнских клеток. Под влиянием кальция этот процесс усиливается. Одновременно происходит ферментативное разрушение оболочек старых клеток, что приводит к освобождению автоспор. Для процессов роста присутствие кальция абсолютно необходимо и его функции специфичны. В образовании дочерних клеток (автоспор), кальций может быть заменен стронцием.

У некоторых диатомовых микроводорослей при недостатке кальция клетки теряют способность к движению. Ионы кальция играют роль в стабилизации мембранных структур, способствуя таким образом поглощению клетками анионов и катионов.

Недостаток кальция микроводоросли обычно не испытывают, ввиду его немалых концентраций в общей питательной среде.

Натрий. Необходимый элемент для микроводорослей. При полном его исключении из среды многие культуры развиваются слабее, снижается концентрация хлорофилла и содержание органического азота в клетках. Голодающие по на-

трию микроводоросли выделяют из клеток в органической форме значительную часть предварительно фиксированного ими углерода.

Устойчивость различных водорослей к натрию неодинакова. В специальных исследованиях установлено, что при избытке натрия в среде увеличивается продолжительность фаз роста и тормозится процесс деления клеток. Угнетается синтез хлорофилла, однако фотосинтез не останавливается. Изменяется соотношение белков и углеводов в клетке в сторону увеличения количества последних.

Натрий в соединении NaCl может использоваться для зеленых микроводорослей для борьбы с бактериальным заражением в дозе 5 г/л.

Недостаток натрия микроводоросли обычно не испытывают, ввиду его немалых концентраций в общей питательной среде.

Железо. Один из первых микроэлементов (его могут также относить и к макроэлементам), необходимость которого была установлена для микроорганизмов. Этот элемент участвует во многих физиологических процессах. Метаболически активными формами железа являются ферменты, содержащие геминное железо (каталаза, пероксидаза, цитохромоксидаза), различные цитохромы и негеминные железопротеиды (ферредоксин и железофлавопротеиды). Железодержащие белки принимают участие в окислительно-восстановительных реакциях фотосинтеза, дыхания, углеводного обмена, в фиксации молекулярного азота. Негеминное железо и молибден входят в состав активного центра нитрогеназы, катализирующей восстановление молекулярного азота в процессе азотфиксации в бактериоидеах корневых клубеньков.

При недостатке железа угнетается рост микроводорослей, ослабевает фотосинтез и появляется хлороз. Нормальная фотосинтетическая активность после добавления железа восстанавливается медленно (в течение нескольких дней). Постепенное восстановление связано с возобновлением процессов роста и образования хлорофилла. Считают, что недостаток железа в первую очередь сказывается на организации пигментных молекул в реакционных центрах фотохимических

систем. Недостаток железа, необходимого для биосинтеза хлорофилла, задерживает оформление тилакоидов и сборку их в гранульную систему хлоропластов. В хлоропластах сосредоточено около половины всего железа, в основном в связанном виде.

Наиболее активное поглощение железа клетками микроводоросли *Chlorella* наблюдается во время светового периода и коррелирует по своей динамике с синтезом хлорофилла и других пигментов.

Высокие дозы железа вызывают подкисление питательной среды до $\text{pH}=3,3-3,8$, поэтому необходима коррекция pH среды во избежание неблагоприятного действия на рост микроводорослей.

Как известно, для прочного соединения железа и лучшей усвояемостью клетками микроводорослей железа, используют хелатирующий агент (комплексообразователь) - Na_2EDTA .

Уровень железа в питательной среде оказывает определенное влияние и на содержание других элементов питания. Максимальные концентрации железа заметно снижают количество фосфора, магния, цинка, меди, марганца в биомассе микроводорослей.

Наиболее приемлемый источник железа для микроводорослей - лимоннокислое железо (цитрат железа $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7$), которое удерживается в растворенном состоянии при длительном хранении раствора и эффективно используется микроводорослями из питательной среды. Сульфат и хлорид железа также эффективны только в присутствии хелатирующего агента (ЭДТА).

В производстве используется железо хлористое и железо сернокислое - FeCl_2 и FeSO_4 .

Марганец. Является одним из необходимых элементов не только для водорослей, но и для грибов, бактерий.

Острый недостаток марганца наряду со снижением роста и скорости фотосинтеза, вызывает характерные морфологические изменения клеток.

Марганец непосредственно участвует в фотохимических реакциях фотосинтеза. У микроводорослей в первую очередь подавляются процессы, обусловленные выделением кислоро-

да, поскольку марганец является необходимым участником звена реакции, связанной с образованием перекисного соединения – предшественника кислорода.

Соединения марганца считают ответственными за активность центра выделения кислорода фотосистемы II у микроводорослей. При любой степени недостатка марганца угнетается только та часть фотосинтеза, которая ответственна за образование кислорода. Нарушение физиологических функций клеток при недостатке марганца сопровождается нарушением структуры хлоропластов: уменьшаются межгранные ламеллы, часть из них превращаются в пузырьки, в стромах появляются пустоты, диски гранов имеют тенденцию к разрушению.

Наряду с необходимостью марганца в образовании кислорода в процессе фотосинтеза, установлена его роль в восстановительных реакциях фотосинтеза, в которых он участвует совместно с железом.

Свойственная дефициту марганца низкая эффективность фотосинтеза клеток микроводорослей восстанавливается вскоре после добавления этого элемента в питательную среду. Лишь при длительном голодании восстановление фотосинтетической активности может быть неполным. Для дефицита марганца характерно также снижение в клетках углеводов.

Отмечено также длительное сохранение жизнеспособности микроводорослей в экстенсивной культуре при высоком содержании марганца.

В производстве используется марганец сернокислый и марганец хлористый – $MnSO_4$ и $MnCl_2$.

Цинк. Входит в состав ферментов, влияющих на фосфорный, углеводный, белковый обмены, фотосинтез и регуляцию окислительно-восстановительного потенциала в клетках. Содержание его в ферментах составляет 0,2-0,3%. Среди известных 40 ферментов, содержащих цинк, широко представлены гидролазы и оксидоредуктазы. Цинк усиливает биосинтез нуклеиновых кислот и влияет на активность ферментов нуклеинового обмена.

Необходимость цинка для микроорганизмов была установлена в 1869г. в исследованиях с *Aspergillus niger* и позднее

подтверждена в опытах с другими грибами - Rhizopus, Penicillium, Coghille, Citromyces; водорослями – хлореллой, эвгленой и др.

Цинк оказывает влияние на синтез информационной РНК, на основе чего делается вывод о специфическом действии цинка на РНК и синтез белка. Недостаток цинка всегда связан со снижением синтеза РНК и белка, но и при этом не оказывает влияния на синтез ДНК.

Исключение цинка из питательной среды задерживало рост микроводорослей (Chlorella) и накопление биомассы, но не вызывало нарушения нормального развития клеток. Повышение доз цинка до 4 мг/л снижает интенсивность роста хлореллы, а увеличение этого элемента до 20 мг/л задерживает рост микроводоросли с первых же дней культивирования.

В присутствии хелатирующего агента Na₂EDTA верхний предел оптимальных концентраций достигает 20 мг/л, не вызывая при этом токсического воздействия на клетки микроводорослей. Нет необходимости применять высокие дозы цинка ввиду его низкой надобности клеткам микроводорослей.

Повышенный фон цинка может использоваться для подавления бактериального заражения в культуре, например хлореллы.

В производстве используется цинк сернокислый - ZnSO₄.

Медь. У микроводорослей играет важную роль в реакциях фотосинтеза. В отличие от марганца, она оказывает большее влияние на фоторедукцию и реакцию Хилла. Участие меди в реакциях фотосинтеза связывают с восхождением ее в состав цитохромоксидазы. Значительная часть меди находится в медьсодержащем низкомолекулярном, с каталитическими свойствами белка – пластоцианине. Впервые он был изолирован из клеток Chlorella elipsoidea. Пластоцианин и цитохром f считают переносчиками электронов между фотосистемами I и II.

Токсичность высоких концентраций меди связывают с угнетением фотосинтеза, особенно в условиях интенсивного освещения. При слабом освещении токсичность проявляется значительно позднее. Из этого следует, что вызванная высо-

кой концентрация депрессия фотосинтеза вызывается накоплением в клетках продуктов ассимиляции, что, в свою очередь, тормозит процессы деления клеток.

Существенное значение в обеспечении нормального роста микроводорослей имеет соотношение меди и железа. При избытке меди требуется увеличение концентрации железа в питательной среде, поскольку данный элемент как антагонист снижает токсичность меди.

Оптимальные пределы меди также зависят и от pH питательной среды. В кислой среде предельные концентрации меди ниже, чем в нейтральной.

При добавлении в питательную среду хелатирующего агента Na_2EDTA часть ионов меди связываются с хелатом, вследствие чего значительно расширяется оптимальный диапазон концентраций меди.

Повышенная концентрация меди (как и других элементов) может использоваться для подавления микроорганизмов в культуре микроводорослей, чувствительных к данному элементу.

В производстве используется медь сернокислая – CuSO_4 .

Молибден. Незаменимый элемент в фиксации молекулярного азота и восстановления нитратов. Молибден, который входит в состав нитратредуктазы, катализирует процесс восстановления нитратов до нитритов. Для синтеза и проявления активности нитратредуктазы в клетках микроводорослей требуются весьма низкие концентрации молибдена в среде (0,048-48 мг/л).

У клеток, выращиваемых в условиях недостатка молибдена, проявляются симптомы резкого голодания по азоту. В культурах, полностью лишенных молибдена, накапливается крахмал, отсутствует деление клеток и снижается усвоение азота.

Для синезеленых микроводорослей, потребляющих примерно в 100 раз больше молибдена, чем для зеленых.

В производстве используется окись молибдена и аммоний молибденовокислый – MoO_3 и $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$.

Бор. Необходимый элемент для высших растений, но нет достаточной определенности в отношении обязательного его присутствия для микроорганизмов. В опытах на минераль-

ных средах показана необходимость бора для морских и пресноводных диатомовых водорослей. Их клетки не делились уже после первого пересева на среду, не содержащего бора. Так, у микроводоросли *Cylindrotheca fusiformis* вследствие дефицита бора в среде, деление клеток прекращается спустя 24 -30 часов. Через 48 часов их объем увеличивается в 2 раза по сравнению с нормальными клетками. Удваивается также и скорость дыхания. Предполагают, что бор не участвует в процессе фотосинтеза. Нуждаемость бора отмечена и у синезеленых микроводорослей, рост которых в присутствии бора заметно увеличивается.

При внесении в среду нитратов обнаружено стимулирующее влияние бора на рост и фиксацию азота некоторых микроводорослей.

Культуры, голодающие по бору, имеют склонность обесцвечиваться, как и при недостатке железа. Пока еще и не определена роль бора для микроводорослей, но установлено, что его присутствие оказывает определенный стимулирующий эффект. Так, в культуре *Chlorella* бор увеличивает число клеток и выход биомассы, оказывая заметное влияние на рост клеток после процесса деления.

В производстве используется борная кислота – H_3BO_3 .

Кобальт. В клетках микроводорослей выполняет ряд специфических и неспецифических функций. Он незаменимый элемент, входящий в состав витамина B_{12} , кобамидных коэнзимов, метилкорриноидов и др. Кобальт неспецифически участвует во многих ферментативных реакциях. Благодаря своей способности образования хелатов с органическими соединениями – комплексов с новыми свойствами, кобальт может активно воздействовать на определенные физиологические реакции в клетках. Он в несколько раз усиливает антибактериальную активность.

Для разных видов микроводорослей кобальт в разной степени влияет на процесс фотосинтеза, впрочем, как и других элементов. Так, для синезеленых микроводорослей кобальт способствует аккумуляции и синтеза витамина B_{12} . Для зеленых микроводорослей он стимулирует рост.

Большие концентрации кобальта снижают продуктивность и состав биомассы микроводорослей. Токсичность ко-

бальта связывают с содержанием в питательной среде и других элементов – магния, железа, хрома, цинка.

В производстве используется кобальт хлористый и кобальт азотнокислый – CoCl_2 и $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$.

Никель. Биологическая роль никеля в организме растений и животных выяснена далеко не достаточно, и его ранее не причисляли к биологически необходимым элементам.

Данные о никеле в культурах микроводорослей очень немногочисленны. Отмечается высокая токсичность элемента для *Chlorella pyrenoidosa* при низкой концентрации 0,004-0,02 мг/л. С повышением плотности суспензии микроводорослей соответственно возрастает устойчивость к этому элементу.

В других исследованиях установлено повышение продуктивности некоторых микроводорослей при очень низком содержании никеля в питательной среде.

В производстве используется никель сернокислый и никель хлористый – NiSO_4 и NiCl_2 .

Хром. Имеется недостаточно сведений об этом элементе. Как правило, в концентрации 1-2 мг/л проявляется ингибирование роста микроводорослей, причем соединения шестивалентного хрома более токсичны по сравнению с трехвалентным. Чувствительность хрома возрастает в следующем ряду: зеленые-эвгленовые-диатомовые.

Стимулирует рост микроводорослей концентрации хрома до 0,1 мг/л, при этом повышается интенсивность деления клеток и фотосинтетическое выделение ими кислорода. Однако при содержании клеток 3 млн./мл и концентрации хрома 0,5 мг/л проявляется явное угнетение роста клеток. При сильно токсических концентрациях – 5 мг/л, нарушается биосинтез белка, клетки теряют хлорофилл и обесцвечиваются. Среди микроводорослей высокая толерантность отмечена у микроводорослей *Spirulina platensis* и *Cyanidium caldarium*, столь существенно различающиеся по физиологическому оптимуму pH среды: 9-11 и 1-3 соответственно. Та и другая микроводоросль сохраняет продуктивность при концентрации хрома в питательной среде до 50 мг/л.

В производстве используется калийхромовые квасцы – $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2$.

Вольфрам. По общим данным вольфрам малоизучен для различных видов микроводорослей. В опытах показано влияние элемента на процесс фотосинтеза. Низкие концентрации оказывают малосущественный эффект повышения продуктивности. Однако, при наличии общего полноценного фона всех элементов питания для микроводорослей, вольфрам в значительной степени увеличивает рост и продуктивность микроводорослей.

В производстве используется натрий вольфраматовый - Na_2WO_4 .

Ванадий. Биологическую роль ванадия у микроводорослей связывают с процессами фотосинтеза. Необходимость и незаменимость роль ванадия для микроводорослей убедительно показана в работах Д. Арнона. В опытах на очищенной от ванадия питательной среде потребность его для микроводорослей не могла быть компенсирована другими элементами питания, в том числе молибденом. Хотя в культурах азотобактера, ванадий мог быть частично заменен молибденом. По мере улучшения обеспеченности ванадием микроводорослей, в частности зеленой *Scenedesmus*, повышалось содержание в клетках хлорофилла и общая активность фотосинтеза. Кроме того, ванадий участвует в окислительно-восстановительных реакциях в качестве катализатора восстановления углекислого газа.

Свойства ванадия принято считать малотоксичными для микроводорослей ввиду широкого диапазона применения концентраций.

В производстве используется аммоний ванадиевый - NH_4VO_3 .

Йод (перспективный). Один из элементов, который малоизучен. Имеются данные о способности йода повышать продуктивность некоторых видов микроводорослей и достаточно сильно улучшать биохимический состав. Концентрации йода устанавливаются (так же как и селена) по общепринятым данным, применяемым к конкретному региону.

В производстве используется калий иодистый - KI .

Селен (перспективный). Важный элемент, как для высших растений, животных, человека, так и для микроводорослей. Концентрация селена в диапазоне 0,4-20 мг/л стимулировало

рост микроводоросли *Spirulina platensis* и улучшал ее биохимический состав. Определена его оптимальная концентрация – 12 мг/л питательной среды.

В производстве используется натрий селенистокислый (селенит натрия) - Na_2SeO_3 , ввиду его меньшей токсичности.

Германий (перспективный). До недавнего времени почти не существовало данных об этом элементе в питании микроводорослей, высших растений и человека. Установлено (В.Ф.Рудик и др., 2008), что германий при добавлении его в питательную среду аккумулируется в клеточной стенке растений путем пассивного транспорта. Он является антиканцерогенным веществом. Пищевые добавки (БАДы), содержащие германий в малом количестве оказались эффективны в лечении рака и других сложных заболеваний. Германий стимулирует выработку организмом интерферона, противовирусных агентов, который укрепляет иммунную систему, повышает активность клеток убийц, которые выступают против чужеродных микроорганизмов.

Добавление германия в питательную среду увеличивает рост микроводорослей и улучшает их биохимический состав.

В производстве используется оксид германия – GeO_2 .

Способность микроводорослей к значительному накоплению ряда элементов представляет особый интерес, так как становится возможным их культивирование с заданным составом. В отрасли АПК может быть использована специфика толерантности отдельных видов микроводорослей, способных аккумулировать и извлекать загрязняющие вещества из растворов (сточные воды, водная вытяжка из навоза, пометной массы и др.).

На основании данных о потребности микроводорослей в элементах питания, разработаны прописи питательных сред для их промышленного культивирования (приложение 1). Любое изменение питательной среды влечет за собой изменение биохимического состава того или иного вида микроводоросли.

10. БИОРЕАКТОРЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

10.1 Основные требования к биореакторам

Биореакторы для культивирования микроводорослей должна удовлетворять следующим требованиям:

1. Биореактор выбирается согласно конкретным условиям региона (климатические условия) и направления производства;

2. конструкция биореактора (размер, форма, перемешивание) выбираются для определенного вида микроводоросли;

3. все составные системы культивирования должны быть стандартного фабричного производства, чтобы в случае выхода из строя какого-нибудь элемента конструкции его замена не представляла бы трудностей;

3. Простота и надежность конструкции.

4. Контроль над основными параметрами процесса и возможность простого управления ими.

5. Минимальная стоимость всей системы культивирования.

Следует отметить, что все факторы, ограничивающие рост культуры микроводорослей, можно разделить на 3 категории: световые условия, газовое обеспечение и минеральные компоненты питательной среды. Общее влияние упомянутых факторов определяет форму накопительной кривой. Верно и обратное утверждение – по форме накопительной кривой можно судить о лимитирующих рост факторах, последовательности их действия (Р.П.Тренкеншу, 2005).

Как отмечено выше, накопительную кривую можно разделить на следующие фазы роста: лаг-фаза, экспоненциальная (логарифмическая), линейная фазы, фаза замедления роста, стационарная фаза и фаза отмирания. Максимальная удельная скорость роста культуры микроводорослей наблюдаются на экспоненциальной фазе: биомасса растёт по экспоненциальному закону, что подразумевает отсутствие лимитирующих факторов. Единственным ограничивающим фактором является только величина внешнего светового по-

тока. При увеличении освещённости (если минерального и газового субстрата достаточно) увеличится и удельная скорость роста культуры.

Удельная освещенность клеток складывается из поверхностной освещенности, которая обусловлена мощностью освещения, освещаемого слоя фотобиореактора (толщина фотобиореактора) и интенсивности перемешивания культуры. Для реализации максимальной скорости роста необходимы мощные лампы, тонкий освещаемый слой при активном перемешивании суспензии.

При подборе материалов установки необходимо учитывать не только их пригодность для исследования ростовых процессов культур микроводорослей, но и ценовой фактор. Так, например, установочную площадку лучше выполнить из пластика, цена которого в розничной торговле в несколько раз ниже ламинированных деревянных поверхностей. При этом пластиковые поверхности надежнее и долговечнее ламинированных в условиях постоянного контакта с водными растворами.

Для обеспечения непрерывного режима культивирования необходимо включить в конструкцию установки дозирующее устройство, емкости для питательной среды и сбора урожая. Наиболее простая, надежная и дешевая реализация дозирующего устройства представляет собой программируемое реле времени и электромагнитный проточный клапан.

10.2 Промышленные биореакторы

Установки для выращивания микроводорослей могут быть изготовлены из различных материалов: кирпича, бетона, стекла и оргстекла, оцинкованного и кровельного железа, дерева и пластических материалов типа полиэтилена, полихлорвинила или пластиката. Водонепроницаемые ёмкости (культиваторы) изготавливают различных размеров и форм. Каждая установка должна иметь устройство для перемешивания суспензии, а суспензия хлореллы – стабильную температуру, хорошее освещение и снабжение углекислотой. Перемешивание осуществляется через перфорированные труб-

ки барботажем (воздухом, обогащённым углекислотой), насосами или мешалками лопастного типа. Освещаются установки солнечным светом, лампами дневного света, лампами накаливания или достаточно мощными прожекторами. Углекислота в установки поступает в смеси с воздухом или в чистом виде. Температурный режим в установках поддерживают с помощью отработанных газов, осветительной системы или специальных обогревательных устройств.

Существует четыре основные системы конструкции установок: закрытая циркулирующая, закрытая глубинная, открытая глубинная и открытая неглубинная (М.Я.Сальникова, 1977; Р.П.Тренкеншу, 2005).

Установки закрытой циркулирующей системы (рис. 20) были разработаны и применяются в США фирмой «Литтл». Они состоят из широких полиэтиленовых труб, замыкающих в кольцо. Трубы можно располагать горизонтально или вертикально. Были попытки размещения подобных установок на крышах зданий. Трубы могут быть цилиндрические, квадратные или плоские.



Рис. 20 – Трубчатые культиваторы закрытой циркулирующей системы

Например, в кембриджской установке использованы плоские трубы из прозрачного пластического полиэтилена, расположенные горизонтально. Длина их 50 м, ширина 1,2 м, высота слоя суспензии 10-15 см. Общий объем биомассы составляет 4м³, а поверхность освещения – 60 м². В этих условиях суспензия микроводорослей и газовая смесь были изолированы от внешней среды, благодаря чему снижалось загрязнение биомассы и уменьшался расход углекислого газа.

Один из вариантов установки закрытой циркулирующей системы был построен в Японии. Установка изготовлена из пластических материалов. Над культиватором находится воздушная камера куполообразной формы из прозрачных виниловых материалов, снабженная клапаном для подачи воздуха.

В производственных условиях установки закрытой циркулирующей системы распространения не получили в связи с тем, что микроводоросли наращиваются на стенках труб и они теряют прозрачность (светопропускаемость). Работа по расчистке установок слишком трудоемка.

Перемешивание суспензии в установках закрытой циркулирующей системы осуществляется насосами. От скорости движения суспензии зависит обрастание труб.

Установки закрытой глубинной системы – это относительно глубокие емкости типа танков и ферментаторов. Глубина слоя суспензии в них от 1 до 1,5 метра. Биомасса освещается снаружи или лампами, погруженными в суспензию, поэтому эффективность использования света повышается. Перемешивают биомассу с помощью мешалок или барботажем.

Один из вариантов установок глубинной системы (США) представляет собой относительно глубокие бетонные танки. Водоросли в них освещаются сверху и через боковую стенку, ориентированную на юг. Толщина слоя суспензии достигает одного метра. Перемешивает биомассу мешалка лопастного типа. Установки этой конструкции также не нашли широкого применения: они дорогие, урожай хлореллы в них небольшой, суспензия трудно перемешивается (рис. 21).



Рис. 21 – Установки глубоинной закрытой системы

Другой вариант установки закрытой глубоинной системы был изучен в Татарии. В качестве культиватора был использован ферментатор для выращивания нативных антибиотиков конструкции Беляева и Калмыкова. Размеры культиватора: высота 1,4 м, внутренний диаметр 90 см, слой суспензии хлореллы 1,2 м. Перемешивание биомассы осуществлялось одновременно двумя способами; с помощью мешалки и барботажем. Интенсивность перемешивания была довольно высокая, что выгодно отличало ферментатор от установки такой же системы, описание которой приведено выше.

У ферментатора были и другие преимущества: герметичность системы и наличие двустенного пространства. Герметичность системы позволяла выращивать биомассу без посторонней микрофлоры, поскольку обогащенный углекислотой воздух подавался в ферментатор через специальные фильтры. Стерилизацию установки и питательной среды

можно было производить паром, пропуская его через межстенное пространство.

Таким образом, опыт показал, что установки-ферментаторы удобны для промышленного выращивания микроводорослей и их можно рекомендовать в производство.

В колхозе Саратовской области для этой цели были переоборудованы танки-охладители молока ТО-2000. На нем установили четыре лампы дневного света мощностью 40 Вт и две лампы типа ДРЛ-400. Углекислота подавалась через перфорированные трубки на дно танка. Перемешивание суспензии и поддержание температуры в танке происходило в танке также как в ферментаторе. Продолжительность выращивания биомассы 3-4 дня. Танки в ферментаторе могут быть размещены непосредственно на ферме на любой свободной площадке.

Третья система установок – глубинная открытого типа. Это установки в виде аквариумов, ванн, бассейны различной геометрии. Микроводоросли в них культивируют при глубине слоя суспензии 25-50 см. Перемешивание осуществляется с помощью мешалок, насосов или барботажа (рис. 19). Один из таких вариантов установок открытой глубинной системы был построен в Польше на опытной станции Балице. Установка состояла из 168 аквариумов, расположенных в три этажа. Длина аквариума 50 см, ширина 30 см и глубина 34 см. Перемешивалась суспензия путем барботажа. Широкого распространения в производственной практике аквариумы не получили, поскольку в них затруднена механизация процессов выращивания водорослей и не решена задача обеспечения достаточно интенсивного и равномерного перемешивания биомассы.

Выход в производство получили установки формы бассейнов и ванн. Так, слой суспензии в таких установках освещается изнутри и снаружи или только снаружи.

Большой опыт по выращиванию микроводорослей, в частности хлореллы в установках открытой глубинной системы накоплен в Японии. Они представляют собой бетонные круглые бассейны диаметром от 3 до 20 метров. В институте микроводорослей общая площадь таких бассейнов около 0,4 га. Суспензия в них перемешивается мешалками лопастного типа.

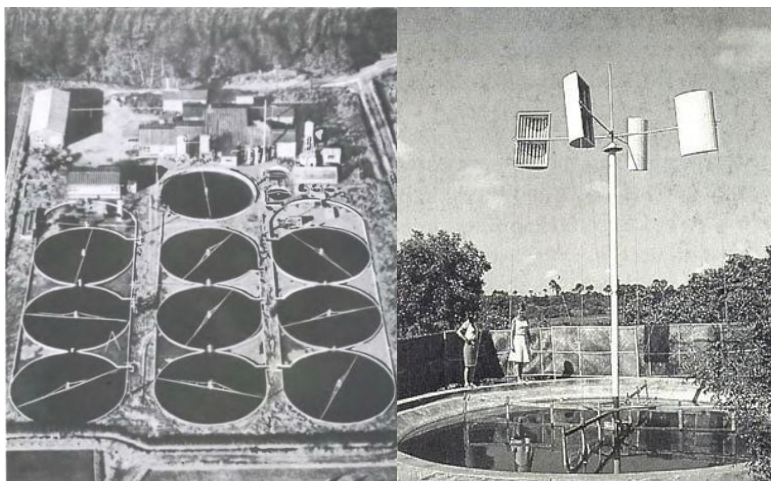


Рис. 22 – Открытые глубинные установки

Такие установки внедрены в Узбекистане, Харькове, Астрахани, Краснодарском крае, Волгограде, и др.

Основные недостатки и преимущества: высокая стоимость установок, низкая продуктивность (до 1г АСВ) и большой выход суспензии, экономное использование площадей.

Следующая система установок – открытая неглубинная. Они имеют форму лотков, каскадов или неглубоких ванн. Глубина слоя суспензии в них 5-25 см. Перемешивание осуществляется насосами и лишь иногда барботажем.

Так, большой опыт накоплен в Ленинградской области в лаборатории ЛГУ. К ним относятся типовые лотковые, «Каскад», «Подвесные», «Зигзаг» и др. Но чаще всего применяют лотковые установки. Она более проста и сравнительно недорогая. Располагают ее непосредственно на поверхности поч-

вы, борта изготавливают из досок шириной 20-25 см. Длина может быть до 20 м и больше. Изнутри установку выстилают полиэтиленовой пленкой или пластиком. Посередине лотка монтируют разделительную доску, концы которых не доходят до торцовых коротких сторон установки на 40 см. В собранном виде она представляет собой два параллельно расположенных лотка, соединенных на концах в кольцо. Суспензия циркулирует с помощью насосов, установленных на одном из торцов лотков. Углекислота подается к насосу из баллонов.



Рис. 23 – Установки неглубинного типа

Лотковую систему установок применяют под открытым небом и в помещениях. Так, в Туркмении выращивают микроводоросли под открытым небом. В Чехословакии работала самая большая установка П-900, имеющая полезную поверхность 900м². Установка была смонтирована из стекла и металла. Решетчатая рама стальных конструкций укреплена над поверхностью земли с помощью бетонных блоков. Угол наклона 30° на юг. Микроводоросли растут в дневные часы при естественной радиации, а ночью ее хранят в специаль-

ной емкости, расположенной у основания установки. Перемешивают биомассу с помощью насосов, лопастных мешалок и других устройств (рис. 23). Таким образом, поток суспензии циркулирует в установке П-900 с помощью насосов в наклонной плоскости. За всеми параметрами работы установки осуществлен автоматический контроль.

На сегодняшний день, в производстве используются закрытые установки глубинного типа и открытые неглубинные лоткового типа.

В г.Сочи запущено производство микроводоросли спирулины (АгроВиктория), где она интенсивно культивируется в установках лоткового типа при естественном освещении. В Харькове и на всей территории Украины также используются данные типы установок ввиду их высокой производительности и низкой себестоимости.

Размещать биореакторы для выращивания микроводорослей можно в сооружениях различных конструкций, но желательно, чтобы крыша и южная сторона здания были светопроницаемы. Размеры помещения зависят от потребности в биомассе, производительности, конструкции установок и экономических составляющих.

11. ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ (НА ПРИМЕРЕ SPIRULINA PLATENSIS)

Для любых микробиологических объектов технологии получения биомассы схожи. Для сугубо специализированных целей микроводоросли выращивают в строго контролируемых условиях (управляемый биосинтез), в специальных культиваторах, с целью получения биомассы с заданным биохимическим составом. Наиболее проста в исполнении технология выращивания спирулины, поскольку, обладая высокой степенью приспособляемости, спирулина не требует дорогостоящего оборудования (специализированных культиваторов), обеспечивающих строго определенные условия для роста клеток. Там, где это возможно по экологическим и климатическим условиям, спирулину выращивают в прудах под открытым небом или в бассейнах в стандартных сельскохозяйственных теплицах. Важным преимуществом такого производства является использование естественного освещения (энергетический ресурс), что в значительной степени снижает себестоимость конечного продукта.

Основные этапы производства биомассы спирулины в обычной сельскохозяйственной теплице, которая легко поддается необходимому переоборудованию.

I. Подготовка. Строительство и установка бассейнов в теплице, при необходимости подготовка емкостей для воды, подготовка необходимого инструментария для сбора и промывки урожая, подготовка блока сушки биомассы. Чем больше общая площадь бассейнов, тем больший можно получить урожай, следовательно, от этого зависит и размеры блока сушки биомассы, расход воды, количество обслуживающего персонала и т. д.

II. Запуск производства. На этом этапе небольшой объем биомассы спирулины помещают в бассейн со специально приготовленной питательной средой. По мере нарастания биомассы сбор урожая не проводят, а заполняют другие бассейны. Таким образом, поступают до тех пор, пока не заполнятся все бассейны.

III. Сбор урожая. Поскольку скорость роста микроводорослей

достаточно высока, сбор урожая проводят ежедневно. При достижении некоторой плотности в бассейнах часть биомассы спирулины всплывает на поверхность, что позволяет проводить сбор урожая непосредственно с поверхности.

IV. Подкормка. По мере роста спирулины и сбора урожая, среда в которой растут микроводоросли приходит к истощению. Чтобы пополнить недостаток элементов питания в среде периодически добавляют минеральные соли — источник азота, фосфора, железа, магния и пр.

V. Промывка биомассы. Поскольку спирулина растет в воде с высоким содержанием различных неорганических солей (питательная среда), собранную биомассу обязательно подвергают промывке. Для этого биомассу помещают на сито и промывают обычной пресной водой (на один объем спирулины используется два-три объема воды, т.е. на 1л спирулины 2-3 л водопроводной воды).

VI. Сушка биомассы. Отмытую биомассу спирулины сушат теплым воздухом при температуре не выше 60°C. Для этого биомассу наносят тонким слоем на полиэтилен и высушивают в течении 3-4 ч, не допуская попадание прямых солнечных лучей, поскольку интенсивный солнечный свет приводит к разрушению пигментов, что заметно снижает качество биомассы спирулины.

VII. Хранение биомассы. Уже высушенную биомассу спирулины собирают в герметичную тару для хранения, например, полиэтиленовые мешки. Герметичность желательна, поскольку высушенная биомасса микроводорослей довольно гигроскопична. Хранят спирулину в темном месте при комнатной температуре. Крайне нежелательно попадании влаги на высушенную биомассу спирулины. В таких ситуациях биомасса не подлежит повторной сушке, поскольку высокое содержание белка и влага — наиболее благоприятная среда для развития бактерий. Порой достаточно нескольких минут бурной деятельности бактерий, чтобы биомасса спирулины приобрела характерный вид и запах испорченной продукции (Р.П.Тренкеншу, 2005).

12. ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВА АЛЬГОЛИЗАЦИИ ПОЧВ МИКРОВОДОРОСЛЯМИ

Некоторые авторы отмечают нецелесообразным использование микроводорослей в растениеводстве ввиду высокой себестоимости данной продукции.

Особую роль отводят биореакторам для выращивания микроводорослей. От правильно конструктивно построенной системы культивирования зависит 30-50% всей продуктивности той или иной микроводоросли. В таблице 9 приведен расчет стоимости биомассы микроводорослей на стандартной минеральной среде и органическими отходами.

Таблица 9 – Себестоимость биомассы при различных способах культивирования микроводорослей в расчете получения сырой биомассы с 1000л питательной среды, руб.

Варианты	Реак-ак-тивы	Элек-тро-энергия	Вода	CO ₂	Ито-го:
Стандартная питательная среда					
<i>Spirulina platensis</i>	1630	3587	40	-	5257
<i>Oscillatoria deflexa</i>	1630	3587	40	-	5257
<i>Chlorella vulgaris</i>	1983	3587	40	350	5960
<i>Scenedesmus bijugatus</i>	1983	3587	40	350	5960
Отходы АПК					
<i>Spirulina platensis</i>	-	3587	-	-	3587
<i>Oscillatoria deflexa</i>	-	3587	-	-	3587
<i>Chlorella vulgaris</i>	-	3587	-	350	3937
<i>Scenedesmus bijugatus</i>	-	3587	-	350	3937

Однако, хочется подчеркнуть, что себестоимость продукции получается низкой, если использовать:

- 1) естественное освещение - вместо искусственного, либо их сочетать;
- 2) органические питательные среды (вытяжки из куриного помета, сточные воды) взамен дорогостоящим минераль-

ным питательным средам;

3) высокопродуктивные штаммы;

4) биореакторы с высоким КПД для культивирования микроводорослей.

Результаты проведенных исследований показали также возможность использования микроводорослей *Spirulina platensis* и *Chlorella vulgaris* для очистки и утилизации сточных вод (на примере птицефабрики). Отмечено, что скорость роста микроводорослей и продуктивность в 4 раза выше на органической питательной среде (А.И.Стифеев, В.А.Лукьянов и др. 2013).

Сняв накопительные кривые роста микроводорослей, мы рассчитали кинетические характеристики всех вариантов эксперимента и провели их сравнительную оценку. Все рассчитанные значения сведены в таблицу 10.

Таблица 10 - Кинетические характеристики роста культуры *Spirulina platensis* и *Chlorella vulgaris*, 2013г.

№ варианта	μ_m , сут ⁻¹	P_m , г АСВ/сут	B_0 , г/л	B_m , г/л
1. <i>Spirulina platensis</i> (сточные воды)	0,60	0,44	0,14	2,72
2. <i>Spirulina platensis</i> (стандартная питательная среда)	0,30	0,29	0,1	1,55
3. <i>Chlorella vulgaris</i> (сточные воды)	0,63	2,54	0,41	12,00
4. <i>Chlorella vulgaris</i> (стандартная питательная среда)	0,33	0,58	0,41	4,2

обозначения: μ_m – удельная скорость роста; B_0 – начальная плотность культуры; B_m – максимальная плотность культуры (урожай).

В зависимости от времени года и климатических условий, искусственное освещение возможно заменить на естественное, что в конечном счете дополнительно снизит себестоимость биомассы микроводорослей.

Сравнивая вышеперечисленные варианты, можно сделать вывод о преимуществе их культивирования на сточных во-

дах, при котором получено максимальное количество биомассы микроводорослей – почти в 2 раза для микроводоросли *Spirulina platensis* и в 3 раза *Chlorella vulgaris*. Необходимо отметить, что удельная скорость роста в 2 раза превышала рост на стандартной питательной среде.

Для оценки эффективности использования микроводорослей при возделывании сельскохозяйственных культур (на примере ячменя) мы провели сводный экономический расчет (таблица 11).

Таблица 11 – Экономическая эффективность возделывания ячменя по вариантам опыта в зависимости от питательной среды (расчет на 1га), 2012г.

Варианты	Варианты опыта			
	1	2	3	4
Стандартная питательная среда				
Урожайность зерна ячменя, т/га	2,28	2,71	3,30	4,56
Стоимость продукции, руб.	10260	12195	14850	20520
Производственные затраты, руб.	9280	9580	15240	15540
Чистый доход, руб.	980	2615	-390	4980
Себестоимость 1т зерна, руб.	4070	3535	4618	3408
Уровень рентабельности, %	10,6	27,2	-	32,0
Отходы АПК				
Урожайность зерна ячменя, т/га	2,28	2,71	3,30	4,56
Стоимость продукции, руб.	10260	12195	14850	20520
Производственные затраты, руб.	9280	9430	10592	10742
Чистый доход, руб.	980	2765	4258	9778
Себестоимость 1т зерна, руб.	407,0	348,0	321,0	235,6
Уровень рентабельности, %	10,6	29,3	40,2	91,0

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биотехнология микроводорослей, возникнувшая немногим более 40 лет назад, за короткий срок утвердилась как реально существующая область промышленного производства, приобретающая всё больший вес в экономике многих стран мира (Г.С. Минюк, И.В.Дробецкая, 2008).

Микроводоросли являются богатейшим источником простейших белков (около 50 %), макро- и микроэлементов, витаминов, аминокислот, антиоксидантов и онкопротекторов, что объясняет их широкое применение в различных сферах человеческой деятельности. Вовлечение микроводорослей в сельскохозяйственное производство позволит улучшить экологическое состояние почв, повысить плодородие почв, урожайность сельскохозяйственных культур и качество получаемой продукции. Являясь постоянной и характерной составной частью живого микромира почв, микроводоросли развиваются в непрерывном и разнообразном взаимодействии с почвенными микроорганизмами и высшими растениями.

Перспективными микроводорослями можно считать представителей рода *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Nostoc*, *Anabaena* и др. Немаловажное значение имеет тот факт, что некоторые микроводоросли (например, *Anabaena variabilis*) в процессе их промышленного производства не требуют подачи углекислого газа и форм азота. Это позволит снизить себестоимость получаемой биомассы при их культивировании.

Учитывая высокие производственные возможности микроводорослей, можно с уверенностью говорить, что интенсификация исследований в этой области уже в ближайшие годы выявит более широкий круг коммерчески перспективных видов для не только для агропромышленного комплекса.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

Среда Аллена-Арнона	
Вид микроводоросли	Anabaena shpaerica Anabaena variabilis
Реактив	Масса, г/л
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,12
CaCl ₂	0,055
NaCl	0,234
K ₂ HPO ₄ ×3H ₂ O	0,318
Na ₂ EDTA	0,027
FeCl ₃	0,012
раствор микроэлементов Заррука №1	1,0 мл
раствор микроэлементов Заррука №2	1,0 мл
Раствор микроэлементов №1	
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ ×4H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ ×7H ₂ O	0,22
CuSO ₄ ×5H ₂ O	0,08
MoO ₃	0,015
Раствор микроэлементов №2	
NH ₄ VO ₃	0,023
K ₂ Cr ₂ (SO ₄) ₄ ×24H ₂ O	0,096
NiSO ₄ ×7H ₂ O	0,048
Na ₂ WO ₄ ×2H ₂ O	0,018
Ti ₂ (SO ₄) ₃	0,040
Co(NO ₃) ₂ ×6H ₂ O	0,044

Приложение 2

Среда Заррука	
Вид микроводоросли	<i>Spirulina platensis</i> <i>Oscillatoria deflexa</i>
Реактив	Масса, г/л
NaHCO ₃	16,8
K ₂ HPO ₄ ×3H ₂ O	1,0
NaNO ₃	2,5
K ₂ SO ₄	1,0
NaCl	1,0
MgSO ₄ ×7H ₂ O	0,2
CaCl ₂ ×6H ₂ O	0,04
Fe+EDTA ₅	1,0 мл
раствор микроэлементов Заррука №1	1,0 мл
раствор микроэлементов Заррука №2	1,0 мл
агар-агар	12,0
Раствор микроэлементов №1	
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ ×4H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ ×7H ₂ O	0,22
CuSO ₄ ×5H ₂ O	0,08
MoO ₃	0,015
Раствор микроэлементов №2	
NH ₄ VO ₃	0,023
K ₂ Cr ₂ (SO ₄) ₄ ×24H ₂ O	0,096
NiSO ₄ ×7H ₂ O	0,048
Na ₂ WO ₄ ×2H ₂ O	0,018
Ti ₂ (SO ₄) ₃	0,040
Co(NO ₃) ₂ ×6H ₂ O	0,044

Приложение 3

43. 2. Среда Тамия	
Вид микроводоросли	<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Scenedesmus bijugatus</i>
Реактив	1000л, кг
KNO_3	5
$MgSO_4 \times 7H_2O$	2,5
$K_2HPO_4 \times 3H_2O$	1,25
$FeSO_4 \times 7H_2O$	0,009
EDTA	0,037
раствор микроэлементов №1	1 л
раствор микроэлементов №2	1 л
Раствор микроэлементов №1	
H_3BO_3	2,86
$MnCl_2 \times 4H_2O$	1,81
$ZnSO_4 \times 7H_2O$	0,222
MoO_3	0,015
NH_4VO_3	0,023

КЛЮЧ
для определения основных групп почвенных
микроводорослей

1. Клетки с кремнеземной двустворчатой оболочкой - панцирем, который сохраняется после прокалывания на огне. Створки двусторонние-симметричные, со сложной структурой (по внешности штриховатые, точечные и т.п.). Формы одноклеточные или колониальные. Хлоропласты желтого или светло-бурого цвета.

Отдел Диатомовые водоросли Bacillariophyta

- Клетки без панциря. Окраска различная – 2.

2. Клетки лишены оформленных хлоропластов и ядер, равномерно окрашенные. Окраска сине-зеленая, иногда оливково-зеленая до светло черной. Формы микроскопические, но их слизистые колонии могут быть крупными - до нескольких сантиметров.

Отдел Синезеленые водоросли Cyanophyta

- Клетки с хлоропластами и четко оформленными ядрами – 3.

3. Окраска желтовато-зеленая. Обычно неподвижные одноклеточные, колониальные или многоклеточные формы. Известны сифональные формы. Зооспоры с двумя неравными жгутиками. Крахмал отсутствует. Продукты ассимиляции - капли масла, иногда лейкозин, волютин.

Отдел Желтовеленые водоросли Xanthophyta

- Окраска чисто зеленая.

4. Организмы обычно одноклеточные, подвижные благодаря наличию жгутиков или метаболическому сокращению тела. Клеточная оболочка отсутствует, клетки окружены наружным слоем протоплазмы - пелликулой. Продукт ассимиляции - парамилон (не темнеющий от йода).

Отдел Эвгленовые водоросли Euglenophyta

- Совокупность признаков иная. Одноклеточные, колониальные и многоклеточные водоросли. Клеточная оболочка целлюлозно-пектиновая. Основной продукт ассимиляции - крахмал, откладывается в хлоропластах, окрашивается от йода в синий цвет.

Отдел Зеленые водоросли Chlorophyta

КЛЮЧ
для определения основных родов почвенных
микроводорослей

Отдел синезеленые водоросли Cyanophyta

I. Водоросли одноклеточные и колониальные, расположение клеток в колониях беспорядочное или более или менее правильное, настоящих нитей не образуется. В клетках не наблюдаются различия в строении концов

Класс Chroococcophyceae

Клетки одиночные или соединенные в свободные, большей частью слизистые колонии

Порядок Chroococcales

A. Водоросли одноклеточные или клетки понемногу вместе в свободных колониях

1) клетки шаровидные, одиночные

Под Synechocystis

2) клетки удлинённые (эллипсоидные до цилиндрических), обычно одиночные, редко по 2-4

Под Synechococcus

B. Водоросли преимущественно колониальные, реже одноклеточные

2) колонии разнообразной формы, состоящие из гомогенной слизи, в которой клетки расположены без порядка. Клетки шаровидные

Под Microcystis

2) колонии более или менее шаровидные, состоящие в типе из последовательно включенных друг в друга слизистых пузырей, из которых самые внутренние и наименьшие окружают непосредственно клетки. Клетки исключительно или преобладающе шаровидные, реже - несколько эллипсоидные, делящиеся в трех плоскостях

Под Gloeocapsa

II. Водоросли образуют нити. Клетки в нитях обычно тесно соединены друг с другом, образуя трихом; трихомы часто окружены влагалищем; характерно размножение с помощью гормогониев

Класс Hormogoniophyceae

А. Нити с настоящим, иногда также ложным ветвлением. Трихомы однорядные, двух- или многорядные

Порядок Stigonematales

Боковые ветви на всем их протяжении или только местами двух- или многорядные, реже однорядные. Ветвление только настояще

Под Stigonema

Б. Нити неразветвленные или с ложным ветвлением. Настоящее ветвление не наблюдается, трихомы однорядные

1) все клетки в нитях относительно одинаковые, не дифференцированные по форме и функции; трихомы обычно симметричные; гетероцист и спор нет

Порядок Oseillatoriales

- Трихомы по одному в каждом влагалище или вовсе без влагалища

- трихомы не образуют ложных ветвлений.

- трихомы обычно без влагалищ, прямые или разнообразно и неправильно изогнуты

Под Oscillatoria

- Трихомы окружены влагалищами.

- влагалища мягкие, слизистые, нередко - расплывающиеся

Под Phontiidium

— влагалища крепкие

а) дерновинки обычно в форме более или менее приподнимающихся пучков

Под Symploca

б) нити соединены в разнообразные, но не пучковидные дерновинки, или свободные

Под Lyngbya

- Трихомы с ложными явлениями, иногда редкими, всюду одинаковой толщины

Под Plectonema

- Трихомы по несколько или помногу в одном влагалище, обычно образующем более или менее обильные ложные ветвления

Влагалища крепкие, содержат довольно много или несколько трихомов, реже 1-2 трихома. Нити обычно более или менее сильно ветвящиеся

Под Schizothrix

Влагалища мягкие, иногда расплывающиеся, содержат очень много тесно сближенных трихомов

Под Microcoleus

2. Клетки в нитях дифференцированы по форме и функциям, трихомы симметричные или ассиметричные; есть гетероцисты, а иногда и споры

Порядок Nostocales

Нити в типе симметричные (с одинаковыми концами), реже - несколько ассиметричны

1) Трихомы простые (не ветвящиеся), одинаковой ширины на всем протяжении, реже суживающиеся к концам

а) трихомы соединены в макроскопические или микроскопические колонии разного облика (в виде шаровидных тел, пластинок и т.п.). Трихомы разнообразно искривленные и переплетенные

Под Nostoc

б) трихомы одиночные, влагалища мягкие. Вегетативные клетки и гетероцисты от почти шаровидных до цилиндрических

- Гетероцисты интеркалярные

Под Anabaena

- Гетероцисты терминальные. Споры развиваются рядом с тероцистада

Под Cylandrospermum

2) Нити с ложным ветвлением, обычно образующие макроскопические соединения. Влагалища плотные, обычно заключающие один трихом

а) ветвление преимущественно двойное, возникающее между двумя гетероцистами

Под Scytonema

б) ветвление одиночное, возникающее непосредственно у гетероцисты

Под Toiybothrix

3) Нити ассиметричные (с неодинаковыми концами) Нити одиночные или образуют пленки, корочки, пластинки

Под Calothrix

Отдел Диатомовые водоросли Bacillariophyta

Класс *Pennatophyceae*

I. Шов щелевидный.

Порядок *Naviculales*

Шов хорошо развит на обеих створках. Клетки одиночные, подвижные. Панцирь изопольный. Створки линейные до овальных. Панцирь продольно и поперечно симметричный. Обычно шов находится на середине створки

1) Створки с поперечными ребрами и альвеолами, наружные стенки которых кажутся гладкими

Pod Pinnularia

2) Створки без ребер и альвеол, с поперечными штрихами, пунктирными или линейно олированными. Центральный узелок небольшой, округлый. Центральное поле разной формы

Pod Navicula

- Центральный узелок расширенный до краев створки. Центральное поле в виде поперечной полосы, достигающей* краев створки

Pod Stauroneis

Б. Шов развит только на одной створке. Створки изопольные. Верхняя створка не имеет шва. Створки согнуты по продольной оси. Шов прямой

Pod Achnanthes

В. Шов недоразвит и находится на концах одной или обеих створок. Панцирь асимметричный по отношению к продольной и поперечной плоскости

Pod Eunotia

II. Шов каналовидный

Клетки одиночные, реже образуют колонии. Панцирь большей частью палочковидный, реже веретеновидный или s-образно изогнутый, иногда дорзивентральный с выпуклой спинкой изогнутой брюшной сторонами. Каждая створка имеет киль, расположенный по ее продольной оси или смещенный к ее краю

1) Панцирь дорзивентральный. Кили на обеих створках расположены по брюшному краю

Pod Hantzschia

2) Панцирь не дорзивентральный. Кили на створках одной клетки расположены на противоположных краях створок, по диагонали друг к другу

Под Nitzschia

Отдел Желтозеленые водоросли Xanthophyta

I. Одноклеточные, ценобиальные или колониальные формы

Класс Xanthococcophyceae

Организмы преимущественно одноклеточные, реже колониальные. Клетки разнообразной формы, округлые или удлиненные, реже угловатые, с плотной оболочкой. Хлоропласты от одного до многих в клетке, разнообразной формы.

Порядок Heterococcales

A. Клетки не прикреплены к субстрату

- Оболочка клеток гладкая

1) Клетки шаровидные или только слегка удлиненные.

а) клетки с ограниченным ростом, небольшие, более или менее равновеликие. Хлоропластов от одного до нескольких

- Зооспоры имеются

Под Pleurochloris

- Зооспоры отсутствуют

Под Chloridella

б) клетки способны сильно разрастаться, поэтому резко неравновеликие, шаровидные

Под Botrydiopsis

2) Клетки явственно удлиненные, эллипсоидные или яйцевидные, а также цилиндрические или веретеновидные, без выростов на концах

а) клетки эллипсоидные до яйцевидных

- Оба конца у клеток более или менее одинаковые

Под Ellipsoidion

- Оба конца у клеток явственно различные, один конец обычно заострен

Под Monodus

б) клетки цилиндрические, с закругленными или притупленными концами

Pod Monallanthus

в) клетки веретеновидные до червеобразных.

Pod Chlorocloster

г) клетки почковидные, бобовидные или полулунные

Pod Nephrodiella

3) Клетки колбасовидные или валиковидные, со значительным ростом в длину, поэтому часто неравновеликие. Концы клеток гладкие или с утолщением оболочки в виде бородавки или колпачка

Pod Bumilleriopsis

- Оболочка клеток с ячеистой или сетчатой скульптурой

1) Клетки шаровидные

Pod Vischeria

2) Клетки полиэдрические

Pod Polyedriella

Б. Организмы одноклеточные, прикреплены к субстрату. Клетки в очертаниях удлинённые или почти округлые, прикрепляются своим основанием или посредством диска или ножки с диском

Pod Characlopsis

II. Организмы многоклеточные, нитчатой, разноритчатой или пластинчатой структуры

Класс Xanthotrichophyceae

1) Нити не ветвящиеся

Порядок Tribonematales

а) оболочка клеток в вегетативном состоянии кажется цельной и только при размножении распадается на половники и H-образные куски. Фрагменты распавшихся нитей заканчиваются целыми клетками

- Нити однородные, из одинаковых клеток, не разделённые на участки

Pod Heterothrix

- Нити состоят из участков по 2-4 клетки, разделённых H-образными кусками оболочки прежних материнских клеток

Pod Bumllleria

б) оболочка клеток всегда состоит только из Н-образных кусков. Фрагменты распавшихся клеток заканчиваются двумя "остриями"

Под Tribonema

2) Нити ветвящиеся, иногда срастающиеся и образующие паренхиматозные слоевища

Порядок Heterocloniales

а) ползучие нити обособленные

Под Heterococcus

б) ползучие нити соединенные, образующие паренхиматозные слоевища, с отдельными ползучими ветвями по краям

Под Heteropedia

III. Организмы неклеточного строения с сифональной структурой тела

Класс Xanthosiphonophyceae

А. Организмы разной формы, но не нитчатые.

Порядок Botrydiales

1) Таллом расчлененный, состоящий из надземной части, содержащей хлоропласты, и бесцветных ризоидов, погруженных в субстрат. Надземная часть пузыревидная или мешковидная, до 3 мм в поперечнике

Под Botrydium

Б. Организмы нитевидной формы, многоядерные.

Порядок Vaucheriales

2) Нити прикрепленные к субстрату с помощью ризоидов, ветвящиеся, без поперечных перегородок

Под Vaucheria

КЛЮЧ

для определения порядков (по В.М.Андреевой)

Отдел Зеленые водоросли Chlorophyta

I. Водоросли одноклеточные, ценобиальные или колониальные - 2

1) Водоросли нитчатые или пластинчатые

Порядок Ulotrichales

II. Водоросли подвижные в вегетативном состоянии

Порядок Chlamydomonadales

1) Водоросли неподвижные в вегетативном состоянии - 3.

III. Вегетативные клетки неподвижные, но часто со жгутиками или псевдоцилиями (ложными жгутиками)

Порядок Tetrasporales

1) Вегетативные клетки неподвижные, без жгутиков и псевдоцилий - 4

IV. Клетки одиночные или собраны в плотные, более или менее кубические пакеты или комплексы, состоящие из тетрад

Порядок Chlorosarcinales

1) Клетки не образуют плотных кубических пакетов и комплексов, состоящих из тетрад - 5

V. Бесполое размножение подвижными и неподвижными дочерними клетками

Порядок Chlorococcales

1) Бесполое размножение только неподвижными дочерними клетками

Порядок Chlorellales

Порядок Chlamydomonadales

1. Пиреноид имеется - 2

- Пиреноид отсутствует

Род Chloromonas

2. Клетки двужгутиковые

Род Chlamydomonas (более 400 видов)

- Клетки четырехжгутиковые

Род Carteria

Порядок Tetrasporales (no Metting)

В ключ для определения водорослей, существующих в пальмеллевидном состоянии, включен и род *Chlamydomonas*, многие представители которого в почве теряют подвижность и существуют в виде слизистых комплексов.

I. Вегетативные клетки обычно подвижны. Матрикс гомогенный

Под Chlamydomonas

Подвижные стадии неизвестны - 2

II. Клетки в слизистых трубках. Хлоропласта постенные. Зооспоры с 2 жгутиками

Под Hormotila

Клетки в аморфной массе - 3

III. Клетки с звездчатым хлоропластом

Под Asterococcus

Клетки с постенным хлоропластом - 4

IV. В клетках нет сократительных вакуолей. Зооспоры имеют оболочку. Клетки шаровидные

Под Palmella (Korschpalmella)

1) Клетки эллипсоидные

Под Coccomyxa

В клетках есть сократительные вакуоли - 5

V. Зооспоры имеют оболочку

Под Palmellopsis

1) Зооспоры голые

Под Chloranomala

Порядок Chlorosarcinales (no B. M. Андреевой)

I. Пиреноиды имеются, один или несколько

1) Хлоропласт стенкоположный

A. Клетки собраны в пакеты

а) зооспоры без оболочки, при остановке округляются

б) зооспоры с 2 жгутиками

- жгутики верхушечные (апикальные), колонии состоят из пакетов клеток

Под Chlorosarcinopsis

- жгутики боковые (латеральные), колонии слизистые, клетки по 2-4, полушаровидные

Под Chlorokybus

в) зооспоры с 4 жгутиками

Под Planophila

г) зооспоры с оболочкой, при остановке не округляются

Под Fascicuchloris

Б. Клетки собраны в диады, тетрады или более сложные скопления, обычно состоящие из тетрад

а) зооспоры без оболочки, при остановке округляются

Под Pseudotetracystis

б) зооспоры с оболочкой, при остановке не округляются

- зооспоры с двумя жгутиками равной длины

Под Tetracystis

- зооспоры с двумя жгутиками неравной длины.

Под Heterotetracystis

2) Хлоропласт сетчатый, со стенкоположными и пронизывающими полость клетки тяжами

Под Chlorosphaeropsis

3) Хлоропласт губчатый, заполняющий полость клетки, с несколькими лакунами

Под Spongiococum

4). Хлоропласт центральный

А. Хлоропласт несимметричный

Под Axilosphaera

Б. Хлоропласт симметричный (звездчатый)

Под Borodinella

II. Пиреноиды отсутствуют

1) Клетки собраны в пакеты

Под Chlorosarcina

2) Клетки Собраны в тетрады или более сложные комплексы, состоящие из тетрад

Под Friedmannia

Порядок *Chlorococcales* (по В.М.Андреевой)

1) Клетки с пиреноидами - 2

Клетки без пиреноидов - 9

2) Клетки с многими хлоропластами

Под Planktosphaeria

- Клетки с одним хлоропластом - 3

3) Клетки со стенкоположным хлоропластом различной формы - 4.

- Клетки с хлоропластом иной формы - 5

4) Зооспоры с оболочками, не округляются после прекращения движения

Под Chlorococcum

- Зооспоры голые, округляются сразу же после прекращения движения

Под Neochloris

5) Хлоропласт губчатый

Под Neosporogocccum

- Хлоропласт другой формы - 6

6) Хлоропласт сетчатый

Под Spongiochloris

Хлоропласт другой формы - 7

7) Хлоропласт центральный звездчатый, симметричный

Под Radiosphaera

- Хлоропласт центральный несимметричный - 8

8) Зооспоры без оболочек, округляются сразу же после прекращения движения

Род *Trebouxia*

- Зооспоры с оболочками, не округляются после прекращения движения

Под Nautococcus

9) Хлоропласт один - 10

- Много отдельных хлоропластов - 11

10) Хлоропласт сетчатый

Под Dictyochloris

- Хлоропласт стенкоположный, рассеченный на две или несколько лопастей

Под Myrmecia

11) Края хлоропластов не загнуты

Pod Bracteacoccus

- Края хлоропластов загнуты по направлению к центру
клетки

Pod Dictyococcus

Порядок *Chlorellales*
(no Metting)

I. Клетки сферические

а) хлоропласта стенкоположные, плотно прилегающие к оболочке, с пиреноидом или без него

Pod Chlorella

б) хлоропласта с возрастом становятся массивными, с пиреноидом

Pod Pseudochlorococcum

в) хлоропласта дисковидные, один или более
- пиреноидов много

Pod Eremosphaera

- один пиреноид

Pod Muriellopsis

- нет пиреноидов

Pod Muriella

II. Клетки лимоновидные

а) хлоропласта базальные с пиреноидом

Pod Pseudochlorella

б) хлоропласта дисковидные, с пиреноидом
- клетки с полярными узелками

Pod Oocystis

- стенки клеток с ребрами

Pod Scotiellopsis

III. Клетки эллипсоидные или каплевидные, хлоропласты без пиреноидов

а) клетки в скоплениях, окруженные слизью

Pod Coccomyxa

б) клетки одиночные, на суженном конце без капель слизи, длина клеток более чем в 2,5 раза превышает ширину

Pod Choricystis

в) клетки одиночные, на суженном конце могут иметь маленькую капельку слизи, длина клеток более чем в 2,5 раза превышает ширину

Под Pseudococcomyxa

Порядок *Ulotrichales*
(по Н.А.Мошковой и М.М.Голлербаху)

I. Нити всегда многоклеточные, не распадающиеся на отдельные клетки

А. Нити прикрепленные; верхушечная и базальная клетки нитей по форме отличаются от остальных клеток, а

а) нити прикрепляются непосредственно базальной клеткой; верхушечная клетка преимущественно округленная

Под Ulothrix

б) нити прикрепляются дермоидом; верхушечная клетка к вершине суженная

Род *Uronema*

Б. Нити свободноживущие, реже прикрепленные; все клетки нитей по форме одинаковые

а) нити без слизистого влагалища

Хлоропласт с пиреноидом

- хлоропласт пластинчатый, дисковидный, нити иногда коленчато изогнуты

Под Chlorhormidium

- хлоропласт поясковидный или кольцевидный; нити без коленчатых изгибов

Под Ulothrix

Хлоропласт без пиреноида. Клетки преимущественно длинные, с тонкими оболочками

Под Gloeotila

Б. Нити со слизистым влагалищем. Хлоропласт с пиреноидом

- хлоропласт пластинчатый, дисковидный

Под Chlorhormidium

- хлоропласт поясковидный, или кольцевидный

Под Ulothrix

II. Нити всегда мелкоклеточные, легко распадающиеся на фрагменты или отдельные клетки, реже отдельные клетки преобладают

А. Клетки цилиндрические, без кольцевых утолщений на обоих концах

а) клетки прямые

- хлоропласт с пиреноидом

Род *Chlorhormidium*

- хлоропласт без пиреноидов

Pod Stichococcus

б) клетки изогнутые

Pod Stichococcus

Б. Клетки эллипсоидные или шаровидные.

Pod Stichococcus

В. Клетки веретеновидные, иглоковидные, прямые или изогнутые, щетинковидно заостренные на одном или обоих концах.

Pod Kolieiia

Кроме перечисленных родов зеленых водорослей в почве встречаются представители других родов, относящихся к подпорядкам Chaetophorinae, Prasiolinae, трудно определяемые, например *Desmococcus*, *Leptosira*, *Gongrosira*, *Microthamnion*.

Во влажных почвах встречаются одноклеточные неподвижные водоросли из класса *Conjugatophyceae*, характерные половым размножением в форме конъюгации. Относительно крупные клетки цилиндрической, эллипсоидной или полукруглой формы, состоящие из симметричных половинок; хлоропласт пластинчатый или звездообразный с пиреноидами (роды *Mesotaenium*, *Cylindrocystis*, *Closterium*).

ПАСПОРТ

**на штамм культуры микроводорослей, передаваемый
для лабораторных и производственных испытаний**

1. *Учреждение, где выделен штамм:* Коллекция водных фототрофов Института биологии южных морей, г. Севастополь, Украина
2. *Автор оригинатор:* получено из коллекции Института биологии южных морей, НАН Украины
3. *Шифр штамма:* Spirulina (Arthrospira) platensis North. Geitl.
4. *Происхождение штамма:*
 - а) гиперсолёные и щелочные водоёмы Африки и Америки
 - б) получен из отдельной колонии
5. *Морфологическая характеристика штамма:*
 - а) употребляемая среда: Заррук, модифицированная Заррук
 - б) размеры клеток: 120-240 мкр
 - в) форма: спиралевидная, палочковидная
 - г) окраска: интенсивно сине-зеленая
 - д) планктонность: оседает быстро, взмучивается легко
6. *Температурный режим:*
 - а) оптимальная температура для роста 30-35°C
 - б) температурные границы, в которых происходит развитие штамма: 20-35°C
7. *Физиологическая характеристика штамма:* развивается на минеральной питательной среде с продувкой воздухом
8. *Световая характеристика:*

- а) освещенность: оптимальная интенсивность света при высоких плотностях культуры (3,5-4,0 г АСВ) 40-60 Вт/м² или 10-15 тыс.люкс
- б) типа ламп: люминисцентные, металлогалогеновые и др.

9. Водородный показатель (рН среды): 9,0-11,0 ед.

10. Биохимическая характеристика культуры, %:

Белки – 55-70

Углеводы – 20-30

Жиры – 5

Нуклеиновые кислоты – 6,5

11. Условия хранения: поддерживают на разбавленной питательной среде при слабом освещении (1-2 тыс. люкс) при температуре 8-100С

СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

Автотрофные организмы - организмы, использующие для построения своего тела углекислый газ в качестве единственного или главного источника углерода и обладающие как системой ферментов для ассимиляции углекислого газа, так и способностью синтезировать все компоненты клетки.

Агар - гелеобразная фракция клеточных стенок некоторых красных водорослей, состоящая из комплекса полисахаридов. Используется для приготовления гелеобразных питательных сред для выращивания водорослей и бактерий.

Аксеничная культура - культура одного вида водорослей, свободная от всех загрязнителей, включая вирусы.

Альгологически чистая культура - культура, содержащая только одну систематическую форму водорослей, но не очищенная от бактерий и грибов. Образец культуры - совокупность индивидов, выращиваемых в одной склянке.

Антибиотики - специфические химические вещества, образуемые микроорганизмами и способные в малых количествах оказывать избирательное токсическое действие на другие микроорганизмы и на клетки злокачественных опухолей.

Аэрофильные водоросли - «воздушные» водоросли, получающие все необходимые вещества из атмосферы. Обычно обитают на коре деревьев, скалах, камнях.

Бактерии - микроорганизмы с прокариотным типом строения клетки. Традиционно под собственно бактериями подразумевают одноклеточные или объединенные в организованные колонии палочки и кокки, неподвижные или со жгутиками, противопоставляя их морфологически более сложным прокариотам - актиномицетам, цианобактериям, спиروهетам, миксобактериям, почкующимся бактериям, риккетсиям.

Бентос - совокупность организмов, обитающих на грунте и в грунте морских и континентальных водоемов. Бентос делится на растительный (фитобентос) и животный (зообентос).

Бурые водоросли (Phaeophyta) - отдел водорослей. Мно-

гоклеточные, преимущественно макроскопические водоросли длиной до 60м. Слоевища желтовато-бурые из-за большого количества фукоксантина и других ксантофилловых пигментов, содержат хлорофиллы а и с. В клеточных стенках - альгиновая кислота и фукоидин. Цитоплазма включает фитоиды - пузырьки с дубильными веществами. Запасные вещества - ламинарии и маннитол, реже масло. Для бурых водорослей характерны: многоклеточные волоски с базальной зоной роста; многогнездные вместилища, функционирующие как гаметангии или спорангии; зооспоры и гаметы с двумя жгутиками, прикрепленными сбоку. Половой процесс - изо-, анизо- или оогамия. Цикл развития изоморфный (более древний) или гетероморфный. Растут во всех морях, в холодных водах образуют густые заросли.

Виды - это группы скрещивающихся естественных популяций, репродуктивно изолированных от других групп.

Вирус - облигатный паразит неклеточной природы, состоящий из протеиновой оболочки и имеющий размер от 20 до 400нм.

Гамета - гаплоидная стадия размножения.

Гаметофит - половое поколение в жизненном цикле растений, развивающихся с чередованием поколений. Гаметофит образуется из споры, имеет гаплоидный набор хромосом.

Гаплоид - клетка с одним набором хромосом: одна копия основных генетических признаков видов.

Гетеротрофные организмы - организмы, использующие в качестве источника углерода готовые органические вещества. К ним относятся все животные, грибы, большинство бактерий, а также бесхлорофилльные наземные растения и водоросли.

Гетероциста - клетка синезеленых водорослей, отличающаяся от нормальных вегетативных клеток благодаря утолщенным клеточным стенкам и желтоватой окраске, участвует в азотфиксации.

Грибы - низшие эукариоты, одно из царств живых организмов. Своеобразие грибов определяется сочетанием признаков как растений (неподвижность, неограниченный вертикальный рост, способность к синтезу витаминов, наличие

клеточных стенок), так и животных (гетеротрофный тип питания, наличие хитина в клеточных стенках, запасных углеводов в форме гликогена, образование мочевины, структура цитохрома), а также особым циклом развития (смена ядерных фаз, наличие дикарионов, гетерокариоза, парасексуального процесса).

Дезинфекция - процесс или процедура, уничтожающая или уменьшающая число патогенных микроорганизмов.

Диатомовые водоросли, диатомеи (Bacillariophyta) - кремнистые водоросли, отдел водорослей. Одноклеточные, микроскопические (от 4 до 2000 мкм), одиночные или колониальные организмы. Характерная особенность - наличие твердой двустворчатой кремнеземной оболочки - панциря. Хлоропласты содержат хлорофиллы а и в и фукоксантин, придающий диатомеям бурый цвет. Запасные вещества - масло, волютин и хризоламинарин. Размножаются делением и половым путем (изогамия безжгутиковых гамет, конъюгация, автогамия или оогамия). Широко распространены в континентальных водоемах, морях, почве. Диатомовые водоросли - важнейшие продуценты органического вещества, они создают около 25% мировой первичной продукции, создаваемой растениями.

Динофитовые водоросли (Dinophyta) - отдел водорослей. Объединяет представителей нескольких морфологических типов, из которых доминирует монадный - одноклеточные двужгутиковые организмы (часто называемые динофлагеллятами). Расположенный вдоль продольной оси клетки жгутик сообщает ей поступательное движение, второй, перпендикулярный первому, - вращательное движение. Хлоропласты бурые, содержат хлорофиллы а и с, а также ксантофилл. Некоторые представители динофитовых водорослей могут питаться гетеротрофно. Есть бесцветные формы; некоторые паразитируют на водных организмах.

Динофлагелляты - монадные формы динофитовых водорослей.

Диплоид - клетка с двумя наборами хромосом: две копии основных генетических признаков видов.

Дрожжи - сборная группа грибов, не имеющих типичного мицелия и существующая в виде отдельных почкующихся

или делящихся клеток и их колоний.

Желатин - студнеобразующее вещество, продукт денатурации коллагена. Получают вывариванием костей, хрящей, сухожилий.

Желтозеленые водоросли (Xanthophyta) - отдел водорослей. Морфологически разнообразная группа - одно- и многоклеточные, прикрепленные и свободноплавающие, монадные, амeboидные, коккоидные, нитчатые, пластинчатые, сифональные организмы. Комбинация содержащихся в желтозеленых водорослях пигментов (хлорофиллы а и с, а- и В-каротины, ксантофиллы) определяют их окраску - светло- или темно-желтую, реже зеленую и голубую. Вегетативное размножение - делением, бесполое - зоо- и апланоспорами (у некоторых половой процесс - изогамия). Желтозеленые водоросли - представители планктона, реже в морях, поселяются также на влажной почве.

Зеленые водоросли (Chlorophyta) - отдел водорослей, объединяющий одноклеточные, колониальные, многоклеточные (нитевидные и пластинчатые) и неклеточного строения (сифоновые водоросли). Подвижные формы с 2-4 жгутиками и светочувствительным глазком. Клетки большей частью с целлюлозной оболочкой. Сходны с высшими растениями: содержат те же пигменты (хлорофиллы а и б, каротины, ксантофиллы), запасное питательное вещество - крахмал, тот же состав ферментов, участвующих в фотосинтезе. Как и для высших растений, для зеленых водорослей характерно правильное чередование поколений - бесполого (размножение зоо- и апланоспорами, акинетами) и полового (изо-, анизо-, оогамии, конъюгация). В настоящее время обнаружено много признаков, доказывающих филогенетическое происхождение наземных растений от зеленых водорослей (по результатам электронно-микроскопических и молекулярногенетических исследований). Распространены преимущественно в пресных водах, обитают и в морях. Некоторые представители обитают в почве, на скалах, коре деревьев, являются симбионтами лишайников и животных.

Зигота - клетка, образованная в результате слияния двух гамет или половых клеток.

Изогамия - морфологическое состояние, при котором женские и мужские гаметы имеют одинаковую морфологию.

Изогамный - способ размножения, при котором организм производит морфологически идентичные гаметы.

Изолят - совокупность особей одного вида, выделенных из одной или нескольких клеток.

Изоляция - процесс отбора одной или более клеток и выделение их в культуру, в идеале культура должна быть выделена из одной клетки без загрязнителей.

Инокулят - группа живых клеток или организмов, используемых для начала новой культуры водорослей после посева в свежую питательную среду или для инициации новой популяции в природе.

Клональная культура - штамм культуры, выделенный из одиночной клетки, которая может размножаться с помощью гомоталломного полового процесса (гетерозиготные аллели изменяются в ходе мейоза, которые после этого перестают быть истинными клонами). Необходимо отметить, что не всегда возможно однозначно установить, размножается ли штамм половым путем. Поэтому предположение о половом размножении новых изолятов следует делать с большой осторожностью.

Кокки - бактерии шаровидной формы. Таксономического значения термин не имеет, так как описывает только форму микроорганизма.

Контаминант - организм, вызывающий загрязнение.

Красные водоросли, багрянки (Rhodophyta) - отдел водорослей. Слоевидные многоклеточные, реже одноклеточные (у бангиевых), сложного морфологического и анатомического строения. Хлоропласты содержат хлорофиллы а и b, каротиноиды и специфические пигменты - фикобилины, различное сочетание которых определяет окраску красных водорослей

Культура - совокупность всех водорослей, выделенных из одного источника и выращиваемых в одной или разных склянках.

Литические вирусы - вирусы, вызывающие разрушение клеток хозяина.

Лишайники (Lichens) - организмы, образованные сим-

биозом гриба (микобионт) и водоросли (фикобионт); традиционно относятся к низшим растениям.

Макроэлементы - химические элементы, содержащиеся в организме в высоких концентрациях. К ним относят углерод, азот, кислород, фосфор, кальций и калий.

Мейоз - деление клетки, в результате которого образуются дочерние клетки, каждая из которых содержит половину материнского набора хромосом.

Микроорганизмы - микробы, мельчайшие организмы, различимые только под микроскопом. Открыты в XVII веке А.Левенгуком. Среди микроорганизмов - представители разных царств органического мира, относящиеся к прокариотам (бактерии, к которым причисляют и синезеленые водоросли, архебактерии) и эукариотам (микроскопические грибы, водоросли, простейшие).

Микроэлементы - химические элементы, содержащиеся в организмах в низких концентрациях (обычно тысячные доли процента и ниже) и необходимые для их нормальной жизнедеятельности. Насчитывается свыше 30 микроэлементов - металлов (алюминий, железо, медь, марганец, цинк, молибден, кобальт, никель и другие) и неметаллов (йод, селен, бром, фтор, мышьяк, бор).

Миксобактерии - порядок граммотрицательных бактерий, обладающих скользящим движением и образующие плодовые тела и миксоспоры.

Миксотрофные микроорганизмы - организмы, способные сочетать одновременно различные типы питания (обмена веществ). Например, многие пурпурные бактерии используют углекислый газ по автотрофному типу и ассимилируют органические соединения; некоторые хемолито- трофные бактерии могут одновременно окислять органические и неорганические вещества.

Обогащенные культуры - природные образцы или вновь выделенные культуры с добавленными питательными веществами, обычно содержат несколько видов водорослей и загрязнителей.

Одновидовая культура - культура, которая содержит один вид водорослей, но может содержать различные фенотипы водорослей и загрязнителей (например, бактерий);

обычно эта культура не содержит грибы.

Пастеризация - нагревание жидкости до температуры от 66 до 80°C, в течение по 30 минут с последующим быстрым охлаждением до температуры менее 10°C

Пептон - продукт гидролиза белков.

Пикопланктон - фракция планктона диаметром менее 2-3мкм. Первоначально этот термин использовался для обозначения планктона размером 0,2-2мкм; для обозначения более мелких вирусов используется понятие «фемтопланктон». Термин «ультрапланктон» обычно используется для обозначения планктона 0,2-5мкм.

Покой - период времени между образованием и прорастанием цисты.

Популяция - совокупность особей одного вида, обладающих общим генофондом и занимающих общую территорию.

Почвенные водоросли - совокупность нескольких экологических группировок водорослей, жизнь которых связана с почвой как средой обитания. Почвенные водоросли включают наземные водоросли, которые лишь при благоприятных условиях в массовых количествах разрастаются на поверхности почвы; водно-наземные, разрастающиеся на поверхности постоянно влажной почвы; собственно почвенные водоросли, населяющие толщу почвенного слоя.

Прокариоты - организмы, клетки которых не имеют ограниченного мембраной ядра - все бактерии, включая археобактерии и цианобактерии. Аналог ядра - структура, состоящая из ДНК, белков и РНК. Генетическая система прокариот (генофор) закреплена на клеточной мембране и соответствует примитивной мембране. При удвоении генофора две его копии расходятся, увлекаемые растущей клеточной мембраной. Митоз у прокариот отсутствует. Они лишены хлоропластов, митохондрий, аппарата Гольджи, центриолей, имеющих у эукариот. Рибосомы прокариот отличаются по числу белков и коэффициенту седиментации от цитоплазматических рибосом эукариот. Основным структурным компонентом клеточной стенки у многих прокариот - гликопротеид муреин. Прокариоты способны осуществлять ряд специфических физиологических процессов, например, не-

которые прокариоты способны фиксировать атмосферный азот. По строению клетки прокариоты противопоставляют эукариотам, к которым относят все остальные организмы. Различия между прокариотами и эукариотами так существенны, что в системе организмов их выделяют в надцарства.

Растущая циста - первоначально неподвижная гипноциста с устойчивой внешней оболочкой.

Симбиоз - различные формы совместного существования разноименных организмов, составляющих симбионтную систему.

Синезеленые водоросли (Cyanophyta, или Cyanomycota) - цианеи, отдел водорослей. По строению клеток, включая организацию ядерного аппарата, их составу и генетическим свойствам относятся к прокариотам. На этом основании их относят к бактериям и называют цианобактериями. Полагают также, что царство (надцарство) прокариот имеет две ветви *Vas-teria* и *Cyanophyta*. Основанием служит наличие у *Cyanophyta* типичных водорослевых пигментов и более сложна по сравнению с бактериями структура. Одновременно *Cyanophyta* включаются в ботаническую классификацию, которая является филогенетической. Фотосинтезирующие организмы, содержат хлорофилл *a*, каротиноиды и особые пигменты фикобилипротеиды, которые обнаружены еще только у красных водорослей и криптоноад. Окраска синезеленая или розоватая. Одноклеточные и многоклеточные (нитчатые), микроскопические, но часто образуют крупные скопления в виде корок и кустиков высотой до 20см (в тропических морях). Размножаются делением (одноклеточные), спорами, акинетами и фрагментами нитей (гомогониями). Растут в самых разнообразных условиях в воде и на суше. У многих видов обнаружена способность к азотфиксации. Синезеленые водоросли являются пионерами жизни в крайних условиях существования (в горах, в Арктике и Антарктиде). Часто вступают в симбиотические отношения с другими микроорганизмами.

Спорофит - бесполое поколение растений, жизненный цикл которых проходит с ритмическим чередованием половой и бесполой фаз (поколений); продуцирует споры. Спо-

рофит образуется после оплодотворения - слияния мужской и женской гаплоидных гамет в диплоидную зиготу, из которой развивается многоклеточный зародыш, дающий начало взрослому растению.

Стерилизация - процесс или процедура установления асептических условий, направленная на уменьшение числа или уничтожения всех микроорганизмов. Существует 4 основных вида стерилизации: нагревание, стерилизация электромагнитным излучением, фильтрация и химическая стерилизация.

Таксономия - раздел систематики, теория и практика классификации организмов. Термин предложен в 1813 году О.Декандром. Иногда его употребляют как синоним систематики и классификации, однако обычно систематику понимают как науку о разнообразии организмов и взаимоотношении между ними, а таксономию - как раздел этой науки, посвященный принципам, методам и правилам классификации.

Фототаксис - движение организмов по направлению к источнику света.

Хелат - прочный комплекс между органическим лигандом и металлом.

Хелатирование - реакция металла с органическим лигандом с образованием хелата.

Хелатор - органический лиганд, который образует устойчивый комплекс с ионами металла.

Циста - стадия размножения водорослей, покрытая оболочкой, устойчивой к условиям окружающей среды.

Штамм - это генетически однородная культура в пределах данного вида водорослей, обладающая специфическими отличительными признаками, однако не достигающими уровня таксономических различий.

Эвгленовые водоросли (Euglenophyta) - отдел водорослей. Оноклеточные микроскопические (длиной от 4 до 500мкм) подвижные организмы, реже прикрепленные и колониальные. Не имеют настоящей оболочки; защитную роль выполняет наружный слой экзоплазмы - перипласт. Некоторые виды заключены в плотный «домик», пропитанный солями железа и марганца. На переднем конце клетки углуб-

ление (глотка), из которого выходят 1-2 жгутика. Имеются глазок и пульсирующие вакуоли. Хлоропласты содержат хлорофиллы а и б. Способны к миксотрофному питанию. Существуют бесцветные виды, питающиеся осмо- и фаготрофно. Запасное вещество - парамилон. Размножение делением. Некоторые представители при неблагоприятных условиях образуют цисты. Половой процесс достоверно неизвестен. Обитают в основном в небольших пресных, преимущественно эвтрофных водоемах, многие участвуют в самоочищении водоемов.

ЭДТА - этилендиаминтетрауксусная кислота, хелатор, используемый в буферных системах, содержащих ионы металлов.

Эукариоты - организмы, клетки которых содержат оформленные ядра. К эукариотам относятся все высшие животные и растения, а также одноклеточные и многоклеточные водоросли, грибы и простейшие. Ядерная ДНК у эукариот заключена в хромосомах, обычно не кольцевидная, соединена с гистонами и, как правило, образует серию клубочков вокруг октомеров гистонов - нуклеосом. Эукариоты обладают ограниченными мембранной клеточными органоидами (иногда с собственной ДНК) - хлоропластами, митохондриями и др. В систематике эукариоты выделяют в надцарство Eucaryota и противопоставляют прокариотам.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ:

1. Большев Н.Н. Водоросли и их роль в образовании почв. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1968.-83с.
2. Боровков А.Б. Зелёная микроводоросль *Dunaliella salina* Teod. (обзор) // Экология моря. – 2005. – Т. 67 – С. 5-17.
3. Вавилов Н.И. Линнеевский сад как система // Тр. по прик. Ботанике, генетике и селекции, 1931.- вып. 26.
4. Вассер С.П., Кондратьева Н.В. и др. Водоросли. Справочник / С.П.Вассер, Н.В.Кондратьева, Н.П.Масюк, Г.М.Паламарь-Мордвинцева, З.И.Ветрова, Е.Л.Кордюм и др. - Киев: Наук. думка, 1989.-608с.
5. Веретенников А.В. Водоросли – пионеры лесных га-рей // Природа, 1963.- №2.-С.105.
6. Воронихин Н.Н. Опыт классификации внутривидо-вых вариантов *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Vreb. в водо-емах Валдайского и Демянского районов Ленинградской об-ласти // Ботан. журнал, 1946. - №5.-С.13-23.
7. Воронихин Н.Н. Принципы флористических иссле-дований в области альгологии водоемов континента // Про-блемы ботаники, 1950.-Вып. 1.- С.184-208.
8. Воронихин Н.Н. О некоторых водорослях Боровского заповедника в связи с вопросом о виде водорослей континен-тальных водоемов // Тр.Всесоюзн. биол. О-ва, 1951.- Вып. 3. – С.217-220.
9. Гайсина Л.А., Фазлутдинова А.И., Кабиров Р.Р. Со-временные методы выделения и культивирования водорос-лей: учебное пособие / Л.А. Гайсина, А.И. Фазлутдинова, Р.Р. Кабиров. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2008. – 152с.
10. Голлербах М.М., Штина Э.А. Почвенные водоросли.- Л.: Наука, 1969.-228с.
11. Грибовская И.В., Калачева Г.С. и др. Использование урины в питании *Chlorella vulgaris* / И.В.Грибовская, Г.С.Калачева, Л.С.Тирранен, А.А.Колмакова, Ю.И.Баянова. Красноярск: Journal of Siberian Federal University. Biology 3, 2011.-С. 243-256.
12. Гуревич Ю. Л. Устойчивость и регуляция размноже-ния в микробных популяциях / Ю. Л. Гуревич. – Новоси-бирск, 1984. – 161 с.

13. Гусев М.В., Минеева Л.А. Микробиология. М., 1985.
14. Джуманиязов И.Д., Аллаберганов Ш. и др. Влияние протококковых водорослей на содержание гидролизуемых форм гумусав орошаемых почвах / Материалы республиканского совещания «Культивирование и применение микроводорослей в народном хозяйстве».-Ташкент, 1977.-136с.
15. Джеффри Ч. Биологическая номенклатура. – М.: Мир, 1980. – 176с.
16. Еленкин А.А. Синезеленые водоросли СССР. – М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1936-1938-1949. – Вып. 1-2.
17. Ермаков И.П. Физиология растений: Учебник для студ.вузов / И.П.Ермаков.-М.: Издательский центр «Академия», 2005.-640с.
18. Ефимов А.А. Обоснование технологии получения фикоцианина из сине-зелёных водорослей как пищевой добавки // Научный журнал «Фундаментальные исследования». – 2007. – № 11. – С. 80.
19. Жузе А.П. Палеогеография водоемов на основе диатомового анализа // Тр. Верхневолж. экспедиции, 1939. – Вып. 4. – С.35-42.
20. Зарипов Э.З. Физиологические особенности и культивирование сине зелёной водоросли *Spirulina platensis* Geitl. в связи с возможностью её практического использования а Узбекистане: Автореф. дис. канд-та биол. наук: 03.00.07/Ленинский государственный университет им. Жданова. – Л., 1982. – 16 с.
21. Зенова Г.М., Штина Э.А. Почвенные водоросли: Учебное пособие / Г.М.Зенова, Э.А.Штина.-М.: Изд-во МГУ, 1990.-80с.
22. Кокова В. Е. Непропорционально-проточная культура простейших /В. Е. Кокова, Г. М. Лисовский. – Новосибирск: Наука, 1976. – 76 с.
23. Лелеков А. С. Простейшие модели роста микроводорослей. 4. Экспоненциальная и линейная фазы роста / А. С. Лелеков, Р. П. Тренкеншу // Экология моря. – 2007. – № 74. – С. 47 – 49.
24. Лукьянов В.А., Стифеев А.И., Горбунова С.Ю. Сточные воды птицефабрик как объект интенсивного культивирования микроводорослей / СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ

ЭКОЛОГИИ: тезисы докладов IX Междунар. науч.-технич. конференции под общ. ред. В.М. Панарина. - Тула: Изд-во «Инновационные технологии», 2013. -С.29-31.

25. Лукьянов В.А. Экологически безопасная продукция на основе микроводоросли хлореллы / Агропромышленный комплекс: контуры будущего (материалы Международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых).-Курск Изд-во Курская ГСХА, 2012.-ч.1.-С.162-164.

26. Лукьянов В.А., Стифеев А.И. Роль микроводорослей в растениеводстве. Экологическая безопасность региона (материалы V Международной научно-практической конференции).-Брянск: Изд-во «РИО БГУ», 2012.-С.219-222.

27. Лукьянов В.А., Стифеев А.И. Горбунова С.Ю. Научно обоснованное культивирование микроводорослей / Теоретический и научно-практический журнал «Вестник».-Курск: Изд-во Курская ГСХА.-№9, 2013.-С.55-57.

28. Мезенцева Г.В. Возможные пути трансформации органического вещества азотфиксирующих цианобактерий в почве / Автореферат дис. канд. биол. наук. – Л., 1987. -17с.

29. Минюк Г.С., Дробецкая И.В. Одноклеточные водоросли как возобновляемый ресурс: обзор / Г.С.Минюк, И.В.Дробецкая.-Морской экологический журнал.-Севастополь, 2008.-№2.-Т.VII.-19с.

30. Музафаров А.М., Таубаев Т.Т., Джуманиязов И.Д. Альголизация орошаемых земель протококковыми водорослями и ее влияние повышение плодородия почв и урожайность хлопчатника / Материалы республиканского совещания «Культивирование и применение микроводорослей в народном хозяйстве».-Ташкент, 1977.-136с.

31. Нгуен Тхи Куй Морфологические и физиологические особенности сине-зеленой водоросли *Nanalonion fontinalis* и возможности ее использования в повышении урожайности некоторых с ельскохозяйственных культур / Автореферат дис. канд. биол. наук. -Киев, 1987.-22с.

32. Новичкова-Иванова Л.Н. О роли почвенных водорослей в биогеоценозах // Развитие и значение водорослей в почвах Нечерноземной зоны: Материалы межвуз. конф. . - Пермь, 1977. - С.62-65.

33. Отдел микробиологии Узбекской ССР. Культивирование и применение микроводорослей в народном хозяйстве (материалы республиканского совещания, Ташкент 5-7 октября 1977г.) / Отдел микробиологии.-Ташкент: Изд-во «Фан», 1977.-135с.

34. Панкратова Е.М. Участие азотфиксирующих водорослей в накоплении азота в почве // Изв. АН СССР Сер.биол., 1979.-№2.-С.188-197.

35. Панкратова Е.М. Роль азотфиксирующих синезеленых водорослей в накоплении азота и повышении плодородия почвы / Автореферат дис. доктора биол. наук.-М., 1981.-39с.

36. Панкратова Е.М. Участие синезеленых водорослей в азотном балансе почв // Минеральный и биологический азот в земледелии СССР.-М.: Наука, 1985.-С.221-228.

37. Перт С. Д. Основы культивирования микроорганизмов / С. Д. Перт. – М.:Мир, 1978. – 331с.

38. Прянишников Д.Н. Азот в жизни растений и в земледелии СССР / Д.Н.Прянишников. – М.: Изд-во АН СССР, 1945.-197с.

39. Рахимов А.В., Якубов Х.Ф. О некоторых биохимических свойствах штаммов хлореллы и сценедесмуса, выращенных в различных условиях питания. -Ташкент.: ФАН, 1971. – С. 47-51.

40. Рудик В.Ф., Бульмага В.П., Максакова С.В. Оптимизация состава питательной среды для культивирования *Spirulina platensis* Geitl. (Cyanophita) методом математического планирования эксперимента / Прикладная альгология, 2008.-Т.18.-№3.-С.337-346.

41. Сальникова М.Я. Хлорелла – новый вид корма /М.Я.Сальникова. – М.: Колос, 1977.-99с.

42. Семененко В.Е., Владимирова М.Г., Цоглин Л.Н., Попова М.А., Таутс М.И., Филипповский Ю.Н., Ключко-Гуревич Г.Л., Кузнецов Е.Д., Кованова Е.С., Райков Н.И. Непрерывное управляемое проточное культивирование водорослей и физико-биологическая характеристика продуктивности и эффективности утилизации лучистой энергии хлореллой при длительном интенсивном ее выращивании / Материалы книги «Управляемый биосинтез».- М.: Наука, 1966.-с.75-86.

43. Стифеев А.И., Лукьянов В.А. Почвам – вторую жизнь / Теоретический и научно-практический журнал «Вестник».- Курск: Изд-во Курская ГСХА.-№5, 2013.-С.66-68.

44. Стифеев А.И., Лукьянов В.А., Бессонова Е.А., Косинова Н.В., Ежицкая Ю.А. Агроэкологическая оценка применения микроводоросли хлореллы в АПК / Актуальные проблемы агропромышленного производства (Материалы Международной научно-практической, 23-25 января 2013 г., Курск). -Курск: Изд-во Курск. гос. с.-х. ак., 2013.-С.51-55.

45. Тренкеншу Р. П. Простейшие модели роста микроводорослей. 3.Потребность микроводорослей в элементах минерального питания / Р. П. Тренкеншу, А. С. Лелеков // Экология моря. – 2005. – № 70. – С. 53 – 61.

46. Тренкеншу Р. П., Боровков А. Б., Лелеков А. С. Унифицированная лабораторная установка для исследования низших фототрофов – Севастополь: ОЦ НАНУ, 2009. – 40 с.

47. Тренкеншу Р. П. Простейшие модели роста микроводорослей. 1.Периодическая культура / Р. П. Тренкеншу, А. С. Лелеков // Экология моря. – 2005. – № 67. – С. 89-97.

48. Тоом Я.В. Сапробність ґрунтових водорослей // Укр.ботан.журнал, 1968. Т.26, №2.-С.82.

49. Упитис В.В. Макро- и микроэлементы в оптимизации минерального питания микроводорослей / В.В.Упитис.-Рига: Изд-во «Зинатне», 1983.-240с.

50. Филипповский Ю.Н., Семененко В.Е., Ничипорович А.А. К вопросу о распределении лучистой энергии в суспензии хлореллы / Фотосинтезирующие системы высокой продуктивности.- М.: Наука, 1966.-с.193-203.

51. Хазиев Ф.Х., Кабиров Р.Р. Количественные методы почвенно-альголистических исследований.- Уфа: БФАН СССР, 1986. 172 с.

52. Цоглин Л.Н., Протасова Н.Н., Уэльс М., Добровольский М.А. Спектральные характеристики источников света и особенности роста растений в условиях искусственного освещения // Физиология растений, 1990.- 37 [2].-с.386-396.

53. Шацких Е.В., Гафаров Ш.С., Бояринцева Г.Г., Сафронов С.Л. Использование кормовых добавок в животноводстве // Учебное пособие – Екатеринбург: Изд-во УрГСХА, 2006. – 102 с.

54. Штина Э.А. Почвенные водоросли как компонент биогеоценоза // Почвенные организмы как компоненты биогеоценоза. М., 1984.-96с.
55. Штина Э.А., Голлербах М.М. Экология почвенных водорослей. М., 1976.-144с.
56. Штина Э.А. Сообщества водорослей основных почв СССР и их диагностическое значение // Ботан.журнал, 1959.-№8.-С.1062-1074.
57. Штина Э.А. Почвенные водоросли / Жизнь растений, Т.3.-М.: Просвещение, 1977.-С.62-66.
58. Штина Э.А., Байрамова Л.А., Перминова Г.Н., Третьякова А.Н. Взаимодействие между почвенными водорослями и высшими растениями // Физика, химия, биология и минералогия почв СССР.-М.: Наука, 1964.-С.284-292.
59. Штоль А.А., Мельников Е.С., Ковров Б.Г. Расчет и конструирование культиваторов для одноклеточных водорослей / А.А.Штоль, Е.С.Мельников, Б.Г.Ковров. - Красноярск: Красноярское книжное издательство, 1976.-96с.
60. Шушуева М.Г. Водоросли на отвалах угольных разработок в Кузбассе и их роль в почвообразовании // Развитие и значение водорослей в почвах Нечерноземной зоны: Материалы межвуз.конф.-Пермь, 1977.-С.52-54.
61. Allien E.J. On the culture of the plankton diatom *Thalassiosira gravid Cleve*, in artificial sea-water // J.Mar.Biol.Assoc.U.K., 1914. Vol.51.-P.199-202.
62. Bold H. C. Notes on the culture of some common algae // J. Tenn. Acad.Sci. 1936. Vol. 11. P. 205-212.
63. Bold H. C. The cultivation of algae // Bot. Rev. 1942. Vol. 8.-P. 69-138.
64. Bold H. C. Twenty-five years of phycology (1947-1972) // Ann. Missouri Bot. Card. 1974. Vol. 61. P. 14-44.
65. Brock T.D. Evolutionary and ecological aspects of the Cyanopfytes // The biology of blue-green algae / Ed. Carr N.C., Whiton B.A. Oxford, 1973.
66. Brunei J., Prescott G. W., Tiffany L. N. The Culturing of Algae. Charles F.
67. Burlew J. S. Algal culture: from laboratory to pilot plant. Carnegie Institution of Washington, Washington, D. C, 1953. Vol. 600. P. 1-357.

68. Bigeard E. Les Pediastrum d'Europe. Etude biologique et systematique // Trav. Lab. bot. Univ. Cathol. Anger, 1933.-5.-P.232-238.
69. Carr N.C. Metabolism control and metotrophic physiology // The biology of blue-green algae / Ed Carr N.C., Whiton B.A. Oxford, 1973.
70. Chick H. A study of a unicellular green alga, occurring in polluted water, with especial reference to its nitrogenous metabolism // Proc. Roy. Soc. 1903. Vol. 71. P. 458-476.
71. Chodat R. Les clones chez les algues inferieures. Zeitschr. Indukt. Abst.-Vererb. Suppl. / Verhandl V. Internat. Kongr. Vererbungswiss., Berlin, 1927.
72. Verlag Borntraeger, Leipzig, Germany. 1928. Vol. 1. P. 522-530.
73. Chu S. P. The influence of the mineral composition of the medium on the growth of planktonic algae. Part I. Methods and culture media // J. Ecol. 1942. Vol. 30. P. 284-325.
74. Comtois P. Pierre Miquel: the first professional aerobiologist // Aerobiologia.1997. Vol. 13.P. 75-82.
75. Drew K. M. Conchocelis-phase in the life-history of *Porphyra umbilicalis* (L.) Kütz. // Nature. 1949. Vol. 164.No. 4174. P. 748-749.
76. Droop M. R., Doyle J. Ubiquinone as a protozoan growth factor // Nature. 1966. Vol. 212. No. 5069. P. 1474-1475.
77. Fabregas J. Reneval rate of semicontinuous culture of the microalga *Porphyridium cruentum* modifies phycoerythrin, exopolysaccharoide and fatty acid productivity / J. Fabregas, D. Garcia, E. Morales // J. Ferment. Bioengin. -1998. - Vol. 86, №. 5. - P. 463 - 467.
78. Føyn B. Lebenszyklus, Cytologic und Sexualität der Chlorophyce *Cladophora suhriana* Kützing // Arch. Protistenk. 1934.Vol. 83. P. 1-56.
79. Garbary D. J., Wynne M. J. Promineitt Phycologists of the 20th Century. Lancelot Press, Hantsport, Nova Scotia, 1996. 360 p.
80. Gärtner G. ASIB: The Culture Collection of Algae at the Botanical Institute, Innsbruck // Nova Hedwigia. 2004. Vol. 79. P. 71-76.

81. Gessner F., Kolbe R. Ein Beitrag zur Kenntnis Algenflora des unteren Amazonas // Ber. Deutsch. bot. Ges, 1934.-№2.-S.48-56.

82. Harder R. Ernährungsphysiologische Untersuchungen an Cyanophyceen, hauptsächlich dem endophytischen *Nostoc punctiforme* // Zeitschr. Bot. 1917. Vol. 9. P. 145-242.

83. Hartmann M. Untersuchungen über die Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Phytomonaden (Volvocales) IV / Arch. Protistenk. 1924. Vol. 49. P. 375-395.

84. Hutner S. H., Provasoli L., Schatz A., Haskins C. P. Some approaches to the study of the role of metals in the metabolism of microorganisms // Proc. Amer. Phil. Soc. 1950. Vol. 94. P. 152-170.

85. Jacobsen H. C. Kulturversuche mit einigen niederen Volvocaceen // Zeitschr. Bot. 1910. Vol. 2. P. 145-188.

86. Kettering Foundation, Antioch Press, Yellow Springs, Ohio, 1950. 114 p.

87. Krüger W. Beiträge zur Kenntnis der Organismen des Saftflusses (sog. Schleimflusses) der Laubbäume. I. Über einen neuen Pilztypus, repräsentiert durch die Gattung *Prototheca*; II. Über zwei aus Saftflüssen rein gezüchtete Algen / Zopf W. Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen. Arthur Felix, Leipzig, Germany. 1894. Vol. 4. P. 69-116.

88. Küster E. Anleitung zur Kultur der Mikroorganismen (1. Auflage). Leipzig: Verlag B. G. Teubner, 1907. 201 p.

89. Lefevre M. Monographie des especes d'eau douce du genre *Peridinium* // Arch. Bot., H. Memoire, 1928.

90. Lund I.W.C. Soil algae // Physiology and biochemistry of algae / Ed. Levin R.A. N.Y., London, 1962.-p.757.

91. Lwoff A. La nutrition de *Polytoma uvella* Ehrenberg (Flagellé Chlamydomonadinae) et le pouvoir de synthèse des protistes hétérotrophes. Les protistes mésotrophes // C. R. Acad. Sci. Paris. 1929. Vol. 188. P. 114-116.

92. Lwoff A. Recherches biochimiques sur la nutrition des protozoaires. Le pouvoir de synthèse. Monographies de l'Institut Pasteur. Masson, Paris, 1932.158 p.

93. Lwoff A. Sur la nutrition des Infusoires // C. R. Acad. Sci. Paris. 1923. Vol. 176. P. 928-930.

94. Miquel P. De la culture artificielle des Diatomées // *Le Diatomiste*. 1890/92. Vol. 173-5, 93-9, 121-8, 149-56, 165-172.
95. Moore G. T. Methods for growing pure cultures of algae // *J. Appl. Microsc. Labor. Meth.* 1903. Vol. 6. P. 2309-2314.
96. Nelson D.M., Brand L.E. Cell division periodicity in 13 species of marine phytoplankton on a light : dark cycle // *J. Phycol.* 1979. Vol. 15. P. 67-75.
97. Novick A. Description of the chemostat / A. Novick, L. Szilard // *Scien.* - 1950. - Vol. 112. - P. 715 - 718.
98. Parker B.C. Facultative heterotrophy in certain soil algae from ecological viewpoint // *Ecology*, 1961. Vol.42, N2.-p.381.
99. Preisig H.R., Andersen R.A. Historical review of algal culturing techniques / Andersen R.A. *Algal culturing techniques*. Elsevier Academic Press, 2005. P. 1-12.
100. Pringsheim E. G. Kulturversuche mit chlorophyllführenden Mikroorganismen. Mitt. I / *Die Kultur von Algen in Agar*. *Beitr. Biol. Pfl.* 1912. Vol. 11. P. 305-334.
101. Provasoli L. Effect of plant hormones on *Ulva* // *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab. Woods Hole*. 1958a. Vol. 114. P. 375-384.
102. Provasoli L. Nutrition and ecology of protozoa and algae // *Ann. Rev. Microbiol.* 1958b. Vol. 12. P. 279-308.
103. Provasoli L., Hutner S. H., Schatz A. Streptomycin-induced chlorophyllless races of *Euglena* // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1948. Vol. 69. P. 279-282.
104. Provasoli L., McLaughlin J. J. A., Droop M. R. The development of artificial media for marine algae // *Arch. Mikrobiol.* 1957. Vol. 25. P. 392-428.
105. Provasoli L., McLaughlin J. J. A., Pintner I. J. Relative and limiting concentrations of major mineral constituents for the growth of algal flagellates. *Trans. New York Acad. Set. Ser. II*. 1954. Vol. 16. P. 412-417.
106. Provasoli L., Pintner I. J. Artificial media for freshwater algae: Problems and suggestions / Tryon C. A., Jr., Hartman R. T. *The Ecology of Algae*. Special Publication 2. Pymatuning Laboratory of Field Biology, University of Pittsburgh, Pittsburgh, 1960. P. 84-96.
107. Richter O. Die Reinkultur und die durch sie erzielten Fortschritte vornehmlich auf botanischem Gebiete // *Progressus rei Botanicae*. 1913. Vol. 4. P. 303-360.

108.Sauvageau C. Sur la sexualité hétérogamique d'une Laminaria (*Saccorhiza bulbosd*) // C. R. Acad. Sci., Paris, 1915. Vol. 161. P. 796-799.

109.Schreiber E. Die Reinkultur von marinem Phytoplankton und deren Bedeutung für die Erforschung der Produktionsfähigkeit des Meereswassers. Wiss. Meeresuntersuch // Abt. Helgoland N. F. 1927. Vol. 16. No.10. P. 1-34.

110.Skinner C. E. Isolation in pure culture of green algae from soil by a simple technique // Plant Physiol. 1932. Vol. 7. P. 533-537.

111.Smith A.J. Synthesis of metabolic intermediates // The biology of blue-green algae / Ed. Carr N.C., Whiton B.A. Oxford, 1973.

112.Soeder C. J. An historical outline of applied algology / Richmond A. CRC Handbook of Microalgal Mass Culture. Florida: CRC Press, Boca Raton, 1986. P. 25-41.

113.Starr R. C., Zeikus J. A. UTEX: the culture collection of algae at the University of Texas at Austin. 1993 List of cultures // J. Phycol. 1993. Vol. 29. N. 2. P. 1-106.

114.Tamiya H. Synchronous cultures of algae // Annual Rev. Plant Physiol. 1966. Vol. 17. P. 1-26.

115.Ukeles R. Cultivation of plants / R. Ukeles // Marine Ecology. - 1976. - Vol. 3. -P. 367 - 420.

116.Uspenski E. E., Uspenskaja W.J. Reinkultur und ungeschlechtliche Fortpflanzung des *Volvox minor* und *Volvox globator* in einer synthetischen Nährlösung // Zeitschr. Bot. 1925. Vol. 17. P. 273-308.

117.Vischer W. Die Kultur der Heterokonten / Rabenhorsts Kryptogamenflora von Deutschland, Osterreich und der Schweiz. Vol. 11 (ed. 2). Heterokonten. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig, Germany, 1937. P. 190-201.

118.Vischer W. Études d'algologie expérimentale. Formation des stades unicellulaires, cénobiaux et pluricellulaires chez les genres *Chlamydomonas*, *Scenedesmus*, *Coelastrum*, *Stichococcus* et *Pseudendoclonium* // Bull. Soc. Bot. Geneve Ser. 2, 1926. Vol. 18. P. 184-245.

119.Vischer W. Reproduktion und systematische Stellung einiger Rinden- und Bodenalgae // Schweiz. Zeitschr. Hydrol. 1960. Vol. 22. P. 330- 349.

120. Vonshak A. Laboratory techniques for the cultivation of microalgae / A. Vonshak. - Handbook of micro-algal mass culture, 1986. - P. 117 - 145.

Научное издание

Вячеслав Анатольевич Лукьянов
Анатолий Иванович Стифеев

Прикладные аспекты применения
микроводорослей в агроценозе

Монография

Корректор

Компьютерный набор и верстка В.А.Лукьянова

Сдано в набор 21.05.2014 Подписано в печать 03.06.2014

Издательство Курской государственной
сельскохозяйственной академии, 305021, г.Курск,
ул.К.Маркса, д.70

Издание отпечатано в типографии

ИП Иванов А.В. 305047 г.Курск, ул.Дейнеки, 37

Формат 84x108/32. Гарнитура Book Antiqua.

Бумага офсетная. Усл.печ.л. 9,87. Заказ №16. Тираж 500 экз.