

УДК 582/272:574.58 (262.5)

В.А. СИЛКИН¹, И.К. ЕВСТИГНЕЕВА²¹Ин-т физиологии растений РАН,
Россия, 127276 Москва, ул. Ботаническая, 35²Ин-т биологии южных морей НАН Украины,
Украина, 99001 Севастополь, пр. Нахимова, 2

ПРОДУКТИВНОСТЬ ДВУХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ФОРМ *LAURENCIA PAPILLOSA* (FORSK.) GREV. (*RHODOPHYTA*) В УСЛОВИЯХ КУЛЬТУРЫ

Исследованы продукционные свойства черноморской агаросодержащей водоросли *Laurencia papillosa* (Forsk.) Grev. (*Rhodophyta*) в течение 30 суток выращивания в накопительной культуре. Показано, что при температуре 15 °С и интенсивности света 40 Вт/м² ФАР растения имеют более высокую удельную скорость роста. Значения удельной скорости роста и максимальной удельной скорости роста составляли, соответственно, 0,085 и 0,165 сут⁻¹. Изучена реакция двух морфологических форм лауренции на изменение интенсивности света и температуры с целью выявления взаимосвязи морфоструктуры слоевища и его продукционных характеристик в различных условиях культивирования. Показано, что морфоструктура слоевищ, составляющих популяцию, может определять продукционные свойства лауренции в условиях, близких к оптимальным.

Ключевые слова: лауренция, морфоструктура, биомасса, динамика, скорость роста, температура, освещенность.

Введение

Соотношение морфологии водных растений и их функциональных параметров давно привлекает внимание исследователей (Littler, 1980; Littler et al., 1983; Rosenberg, Ramus, 1984; Силкин, Хайлов, 1988). Сформировано научное направление «функциональная морфология морских многоклеточных водорослей» (Хайлов и др., 1992). В основном эти исследования проводились в природных условиях, где трудно установить взаимосвязь между уровнем факторов среды и морфофункциональными характеристиками объектов. Иные возможности предоставляет метод управляемого культивирования многоклеточных водорослей, который позволяет изучать продукционные параметры в точном соответствии с уровнем факторов окружающей среды. Особую ценность такой метод имеет при изучении максимальных продукционных свойств водорослей, поскольку только в контролируемых условиях можно реализовать рост при оптимальном сочетании факторов среды.

В данной статье сделана попытка исследовать продукционные свойства красной черноморской водоросли *Laurencia papillosa* (Forsk.) Grev. (*Rhodophyta*) и установить взаимосвязь морфоструктуры слоевища и продукционных характеристик в различных условиях культивирования. Предстояло изучить динамику роста биомассы лауренции в накопительной культуре при различных сочетаниях интенсивности света и температуры, а также сравнить динамику роста и удельные продукционные свойства морфологически различных форм лауренции и выявить их реакции на факторы среды.

©В.А. Силкин, И.К. Евстигнеева, 2005

Материалы и методы

Laurencia papillosa собирали в марте 1996 г. на глубине 0,5 м в бухте Круглая Черного моря (Севастополь). Талломы очищали от эпифитов, промывали чистой морской водой и разделяли на две морфологические формы (А и Б). Отличались они по длине и степени ветвления слоевищ. У формы А на главном стволе имелись ветви первого порядка, ветви второго порядка отсутствовали или только намечались. Слоевища формы Б обладали более сложной морфоструктурой со сформировавшимися ветвями второго и даже третьего порядков. При таком подходе можно выявить влияние качества посадочного материала (сложности морфоструктуры слоевища) на продукционные характеристики культуры.

В фотореакторы с объемом жидкой фазы 2 л и освещаемой поверхностью 1 дм² помещали по 10 слоевищ каждой формы. Водоросли содержали в питательной среде с концентрацией 4,8 мг/л азота в виде KNO₃ и 0,8 мг/л фосфора в виде K₂HPO₄. В системе создавали непрерывный поток среды для обеспечения роста, нелIMITированного по азоту и фосфору, с продуктивностью 70–180 г сырой массы с квадратного метра в сутки. Так был осуществлен режим, непрерывный по элементам минерального питания и накопительный по биомассе. Для обеспечения углеродным питанием через среду пропускали диоксид углерода таким образом, чтобы рН среды находился в области 7,6–8,5, что позволяло считать рост водоросли нелIMITированным по углероду (Силкин и др., 1992). Интенсивность света на поверхности фотореактора составляла 31 и 40 Вт/м² ФАР. Температуру среды поддерживали на уровне 15 и 20 °С. Опыты планировали по схеме полного факторного эксперимента ПФЭ 2² (Максимов, 1980).

Удельную скорость роста рассчитывали по формуле $\mu = (W_2 - W_1) / (W_1 + W_2) (t_2 - t_1)$, максимальную удельную скорость роста рассчитывали по методике, описанной нами ранее (Силкин, Хайлов, 1988).

Результаты

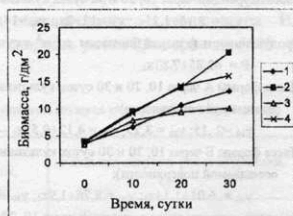
Наиболее существенный рост биомассы наблюдался в опытах 2 и 4, где интенсивность света была на верхнем уровне (рис. 1), в опытах 1 и 3 накопление биомассы происходило менее интенсивно. Позже рост снижался во всех опытах, кроме второго. Через 30 суток наименьший прирост биомассы наблюдался в опытах 1 и 3, в опытах 2 и 4 он был более существенным.

Влияние температуры оказалось неоднозначным, поэтому были рассчитаны уравнения регрессии (табл. 1). Из них следует, что интенсивность света – единственно значимый фактор, влияние которого возрастало во времени, а эффект температуры сравним с ошибкой эксперимента.

Учитывая, что в течение 20 дней накопление биомассы происходило по линейному закону ($W = W_0 + Pt$), можно определить значение параметра P , который представляет продуктивность лауренции. Максимальные значения продуктивности наблюдались в опытах 2 и 4 (49 и 52,4 г сырой биомассы с 1 м² освещаемой поверхности в сутки) при большей освещенности. Эффект температуры здесь тоже неоднозначен, хотя тенденция снижения продуктивности с увеличением температуры наблюдалась. Уравнения регрессии указывают на значимость коэффициента, отражающего влияние интенсивности света (см. табл. 1).

Эффект температуры и взаимного влияния действующих факторов сравним с ошибкой эксперимента.

Рис. 1. Динамика биомассы лауренции в культуре по плану, приведенному в табл. 2.



Удельная скорость роста лауренции за первые 10 суток изменялась от 0,079 до 0,085 сут⁻¹ и в среднем составляла 0,0825 сут⁻¹. Факторы среды не оказывали существенного влияния на этот параметр (см. табл. 1). В следующую декаду удельная скорость роста снижалась в среднем до 0,035 сут⁻¹, изменяясь от 0,019 сут⁻¹ в опыте 3 до 0,045 сут⁻¹ в опыте 1 (табл. 2). На нее положительно влияло взаимодействие температуры и освещенности и отрицательно – только температура (см. табл. 1). В третью декаду средняя удельная скорость роста снижалась до 0,0195 сут⁻¹, при этом более высокие значения ее наблюдали в опытах 1 и 2, где проявилось положительное влияние увеличения интенсивности света.

Поскольку накопление биомассы – результат роста двух морфологических форм (А и Б), важно выяснить вклад каждой из них в общую продукцию. При начальной навеске 1,1 г сырой биомассы на 1 дм² через 10 суток биомасса формы А возрастала почти вдвое, в среднем составляя 2,15 г·м⁻² (рис. 2). Различия между результатами опытов незначительные и существенного влияния какого-либо из факторов не обнаружено (см. табл. 1). Через 20 суток биомасса формы А достигала среднего значения 3,25, при этом влияние исследованных факторов вновь не обнаружено.

На 30-е сутки наибольшего значения биомасса достигала в опыте 2, наименьшего – в опыте 3, при этом повышение температуры оказывало отрицательное влияние (см. табл. 1).

Биомасса формы Б через 10 суток возрастала в среднем до 6,01 г, что означало более чем двукратное увеличение исходной величины. В опытах 2 и 4, где интенсивность света была на верхнем уровне, наблюдалось большее увеличение биомассы, чем в опытах 1 и 3. Через 20 суток среднее значение биомассы достигало 8,76 г, вариации между опытами стали заметными, сохранялось положительное влияние интенсивности света (см. табл. 1). Через 30 суток в опытах 2 и 4 биомасса увеличилась до 15 и 12 г соответственно, в опытах 1 и 3 – до 8,9 и 7,2 г. Интенсивность света играла существенную роль в активизации ростовых процессов формы Б. Эффект температуры был незначим в течение всего эксперимента (см. табл. 1).

Таблица 1. Уравнения регрессии для продукционных параметров культуры лауренции

Масса лауренции через 10, 20 и 30 суток культивирования ($\text{г}\cdot\text{дм}^{-2}$):

$$y_{10} = 8,15 + 1,25x_1; y_{20} = 12 + 2x_1; y_{30} = 14,9 + 3,3x_1$$

Продуктивность (г сырой биомассы с 1 м^2 в сутки):

$$P = 42,85 + 7,87x_1$$

Масса формы А через 10, 20 и 30 суток культивирования (г сырой биомассы на дм^2 освещаемой поверхности):

$$y_{10} = 2,15; y_{20} = 3,25; y_{30} = 4,12 + 0,52x_1 - 0,675x_2$$

Масса формы Б через 10, 20 и 30 суток культивирования (г сырой биомассы на дм^2 освещаемой поверхности):

$$y_{10} = 6,01 + 1,14x_1; y_{20} = 8,76 + 1,9x_1; y_{30} = 10,8 + 2,7x_1$$

Удельная скорость роста лауренции через 10, 20 и 30 суток культивирования (сут^{-1}):

$$\mu_{10} = 0,0825; \mu_{20} = 0,035 - 0,006x_2 + 0,007x_1; \mu_{30} = 10,8 + 2,7x_1$$

Удельная скорость роста лауренции формы А через 10, 20 и 30 суток культивирования (сут^{-1}):

$$\mu_{10}^A = 0,069; \mu_{20}^A = 0,040 + 0,013x_1; \mu_{30}^A = 0,021 + 0,010x_1 - 0,010x_2$$

Удельная скорость роста лауренции формы Б через 10, 20 и 30 суток культивирования (сут^{-1}):

$$\mu_{10}^B = 0,077; \mu_{20}^B = 0,037 + 0,0054x_1; \mu_{30}^B = 0,019 + 0,003x_1 - 0,009x_2$$

Максимальная удельная скорость роста лауренции (сут^{-1}):

$$\mu_{\text{max}} = 0,13 + 0,0225x_2$$

Максимальная удельная скорость роста лауренции формы А (сут^{-1}):

$$\mu_{\text{max}}^A = 0,117 + 0,028x_2$$

Максимальная удельная скорость роста лауренции формы Б (сут^{-1}):

$$\mu_{\text{max}}^B = 0,126 + 0,034x_2$$

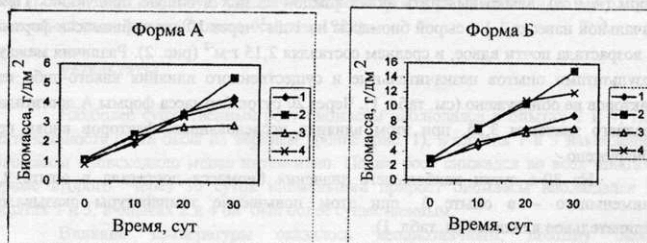


Рис. 2. Динамика накопления биомассы лауренции форм А и Б в опытах, проведенных по плану табл. 2.

Удельная скорость роста формы А в первую декаду изменялась от $0,057 \text{ сут}^{-1}$ в опыте 1 до $0,077 \text{ сут}^{-1}$ в опыте 4, составляя в среднем $0,069 \text{ сут}^{-1}$ (табл. 1, 3). Факторы среды в данном случае существенной роли не играли, их эффект оказался незначительным. Во вторую декаду удельная скорость роста снижалась, составляя в среднем $0,040 \text{ сут}^{-1}$. Наибольшие ее значения получены в опытах 1 и 4. Положительным здесь оказался эффект взаимодействия факторов: удельная скорость увеличивалась при одновременном снижении или повышении

температуры и освещенности. В третью декаду удельная скорость роста уменьшалась во всех опытах, кроме опыта 2, где ее значение составляло $0,044 \text{ сут}^{-1}$ (см. табл. 3). На нее в этот отрезок времени существенное и положительное влияние оказывала интенсивность света и отрицательное – температура. Их изменение повышало или понижало удельную скорость роста примерно на 50% ее среднего значения (см. табл. 1).

Таблица 2. План эксперимента и результаты опытов по культивированию лауренции

Номер опыта	Уровни факторов		Продуктивность за 20 суток, (г/м ²)/сут	Удельная скорость роста лауренции, сут ⁻¹		
	X ₁	X ₂		μ ₁₀	μ ₂₀	μ ₃₀
1	31	15	39	0,085	0,045	0,022
2	40	15	54	0,081	0,037	0,037
3	31	20	33	0,079	0,019	0,007
4	40	20	51	0,085	0,039	0,012

X₁ – интенсивность падающего света, Вт/м² ФАР; X₂ – температура среды, °С; μ₁₀, μ₂₀, μ₃₀ – удельная скорость роста лауренции на 10-, 20- и 30-е сутки культивирования.

Удельные продукционные характеристики лауренции формы Б превышали таковые у формы А: в первую декаду культивирования средняя удельная скорость роста по всем опытам составляла $0,077 \text{ сут}^{-1}$, изменяясь от $0,057 \text{ сут}^{-1}$ в опыте 1 до $0,088 \text{ сут}^{-1}$ в опыте 4 (см. табл. 1 и 3), при этом влияние факторов не обнаружено. Во вторую декаду удельная скорость роста снижалась в среднем вдвое ($0,037 \text{ сут}^{-1}$). Однонаправленное изменение температуры и интенсивности света приводило к незначительному увеличению удельной скорости роста. В третью декаду культивирования удельная скорость роста изменялась в широких пределах, уменьшаясь в среднем до $0,019 \text{ сут}^{-1}$. Наибольшее влияние на изменение анализируемого параметра имела температура, при повышении которой скорость роста снижалась вдвое. Сохранялось положительное влияние интенсивности света, хотя оно было менее значимое.

Таблица 3. Удельная скорость роста лауренции форм А и Б

Номер опыта	Удельная скорость роста, сут ⁻¹					
	Форма А			Форма Б		
	μ ^А ₁₀	μ ^А ₂₀	μ ^А ₃₀	μ ^Б ₁₀	μ ^Б ₂₀	μ ^Б ₃₀
1	0,057	0,059	0,018	0,057	0,041	0,022
2	0,072	0,034	0,044	0,084	0,038	0,034
3	0,069	0,020	0,003	0,079	0,022	0,009
4	0,077	0,048	0,019	0,088	0,041	0,01

Примечание. μ^А₁₀, μ^А₂₀, μ^А₃₀ – удельная скорость роста формы А на 10-, 20- и 30-е сутки культивирования; μ^Б₁₀, μ^Б₂₀, μ^Б₃₀ – то же для формы Б.

Обсуждение

В приведенных экспериментах реализован накопительный по биомассе режим культивирования. Максимальные значения удельной скорости роста, характеризующие производственные свойства данного вида, можно получить в экспоненциальной фазе роста (Силкин, Хайлов, 1988). В данном случае такое значение составляет $0,085 \text{ сут}^{-1}$ при температуре 15°C и интенсивности света 40 Вт/м^2 . Если принять справедливой гипотезу об экспоненциальном росте, то минимальное время удвоения биомассы при этих условиях составит 8 суток.

Однако наибольший интерес должен представлять такой теоретический параметр, как максимальная удельная скорость роста, который можно получить из уравнения логистической кривой. Тем не менее, коэффициенты, входящие в это уравнение, носят формальный характер и для анализа кинетики роста необходимо определить основные механизмы, формирующие производственные свойства водорослей. Для этого прежде всего необходимо выявить факторы, ограничивающие рост культуры. Из полученных результатов следует, что таким фактором для лауренции является световая энергия, действие которой особенно сказывается в первые 20 дней. Лимитирование роста другими факторами маловероятно, их уровни подобраны так, чтобы не было ограничения роста.

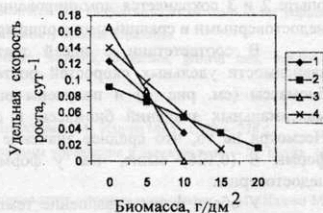
Методология анализа светолимитированных культур водорослей достаточно изучена (Силкин и др., 1992). С ее помощью можно изучать кинетические свойства водорослей и прогнозировать их рост при различном освещении. Она основана на зависимости удельной скорости роста от плотности биомассы на единицу освещаемой поверхности фотореактора $\mu = f(Ws)$. Данная зависимость близка к линейной. Это позволяет оценить максимальную удельную скорость роста $\mu_{\text{макс}}$, которая для данной интенсивности света определяется из условия стремления плотности биомассы на единицу освещаемой поверхности фотореактора к нулю ($Ws = 0$).

Данные, полученные с помощью графического анализа (рис. 3) на основе зависимостей $\mu = f(Ws)$ (табл. 4), показывают, что наибольшие значения максимальной удельной скорости роста наблюдаются в опытах 3 и 4, где температура была максимальной, а ее влияние было значимым (см. табл. 4). В опытах 1 и 2 значения этого параметра существенно ниже. Максимальная удельная скорость роста, равная $0,165 \text{ сут}^{-1}$ (или, соответственно, время удвоения около 4 суток), отражает максимальные производственные свойства лауренции.

Таблица 4. Расчетные параметры культуры лауренции

Номер опыта	Соотношение биомасс			Максимальная скорость роста, сут^{-1}		
	10 сут	20 сут	30 сут	$\mu_{\text{макс}}^A$	$\mu_{\text{макс}}^B$	$\mu_{\text{макс}}^C$
1	1,00	0,83	0,84	0,123	0,098	0,080
2	1,15	1,20	1,10	0,092	0,080	0,105
3	1,1	1,15	1,20	0,165	0,165	0,170
4	1,05	1,05	0,975	0,140	0,125	0,150

Рис. 3. Зависимость удельной скорости роста лауренции от концентрации биомассы на единицу освещаемой поверхности в опытах по культивированию, проведенных по плану табл. 2.



Может ли морфологическая структура слоевища ограничивать на каком-то этапе продукционные свойства культуры? Если «да», то в равных условиях форма Б должна иметь более высокие продукционные свойства, особенно на начальных этапах развития. Здесь возможны три подхода для сравнительного анализа двух форм. Первый основан на анализе удельных скоростей роста обеих форм в процессе культивирования. Второй – на динамике соотношения биомасс обеих форм. Третий – на сравнении таких теоретических параметров, как максимальная удельная скорость роста и плотность биомассы в стационарной фазе роста накопительной культуры.

Сравнивая удельные скорости роста формы А и Б, следует отметить, что только в опыте 2 скорость роста формы Б достоверно превосходит таковую формы А, в остальных опытах эти различия сравнимы с ошибкой эксперимента.

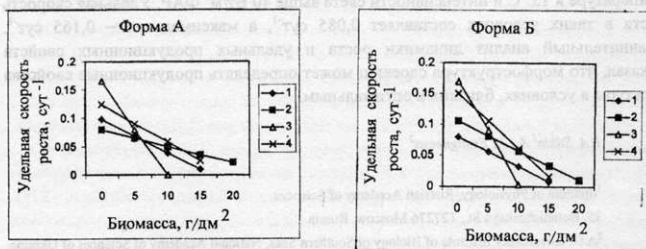


Рис. 4. Зависимость удельной скорости роста лауренции форм А и Б от концентрации биомассы на единицу освещаемой поверхности в опытах по культивированию, проведенных по плану табл. 2.

Интегральная информация может быть получена из соотношения форм в процессе культивирования. Поскольку первоначально исходные биомассы двух форм разные, будет правильным сравнивать динамику в относительных (по отношению к начальным биомассам) единицах. Действительно, биомасса формы А увеличивалась от 2,6 в опыте 3 до 4,7 раза в опыте 2 (см. табл. 4), а у формы Б она возрастала в 3,1 раза в опыте 3 и в 5,2 раза в опыте 2. Как видим, в опытах 1 и 4 имеется тенденция к превалированию со временем морфологической формы А, в

опыте 2 и 3 сохраняется доминирование формы Б, хотя эти различия оказались недостоверными и сравнимыми с ошибкой эксперимента.

В соответствии с идеей третьего подхода были проанализированы зависимости удельных скоростей роста форм А и Б от общей концентрации биомассы (см. рис. 4) и получены оценки максимальных скоростей роста и максимальных значений биомассы в стационарной фазе роста (см. табл. 4). Несмотря на то, что среднее значение максимальной удельной скорости роста формы Б (0,126) выше, чем у формы А (0,117 сут⁻¹), эти различия были недостоверны.

У обеих форм повышение температуры примерно одинаково влияло на максимальную удельную скорость роста. В опыте 2 этот показатель у формы Б (0,105 сут⁻¹) достоверно был выше, чем у формы А (0,08). В остальных опытах эти различия были недостоверны.

Проведенный анализ показывает, что в зависимости от условий культивирования морфологическая структура слоевищ, составляющих популяцию, может влиять на продукционные свойства водоросли. При температуре 15 °С и интенсивности света 40 Вт/м² растения с более развитой морфологической структурой имеют более высокие продукционные свойства. Следовательно, морфологическая структура должна быть адекватной продукционным свойствам водоросли.

Заключение

Экспериментальное исследование роста лауренции многосочковой в накопительной и нелIMITированной элементами минерального питания культуре показало, что оптимальные по критерию продуктивности условия среды близки по температуре к 15 °С и интенсивности света выше 40 Вт/м² ФАР. Удельная скорость роста в таких условиях составляет 0,085 сут⁻¹, а максимальная — 0,165 сут⁻¹. Сравнительный анализ более динамики роста и удельных продукционных свойств показал, что морфоструктура слоевищ может определять продукционные свойства культуры в условиях, близких к оптимальным.

V.A. Silkin¹ & I.K. Evstigneeva²

¹Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences,
35, Botanicheskaya St., 127276 Moscow, Russia

²A.O. Kovalevsky Institute of Biology of Southern Seas, National Academy of Sciences of Ukraine,
2, Nakhimova Pr., 99011 Sevastopol, Ukraine

PRODUCTIVITY OF TWO MORPHOLOGICAL FORMS OF *LAURENCIA PAPILLOSA* (FORSK.) GREV. (*RHODOPHYTA*) IN CULTURE

Productive properties of the Black Sea agar-containing alga *Laurencia papillosa* (Forsk.) Grev. (*Rhodophyta*) have been investigated in enrichment culture during 30 days. It was shown that under temperature 15 °С and light intensity 40 W/m² PAR alga had higher specific growth rate. Values of specific growth rate and maximal specific growth rate made up 0.085 and 0.165 day⁻¹ respectively. Two morphological forms of laurencia were tested as concern their reaction on the changes of light intensity and temperature to find correlation between morphostructure of the thallus and its productive characteristics under different

conditions of cultivation. The experiment has demonstrated that morphostructure of thalli in the population may determine productive properties of laurencia under nearly optimal conditions.

К е у о р д с : *Laurencia papillosa*, morphostructure, biomass, dynamics, growth rate, temperature, illumination.

- Максимов В.Н. Многофакторный эксперимент в биологии. – М.: Изд-во МГУ, 1980. – 278 с.
- Силкин В.А., Хайлов К.М. Биоэкологические механизмы управления в аквакультуре. – Л.: Наука, 1988. – 229 с.
- Силкин В.А., Бурдин К.С., Золотухина Е.Ю. Биотехнология морских макрофитов. – М.: Изд-во МГУ, 1992. – 151 с.
- Хайлов К.М., Празукин А.В., Ковардаков С.А., Рыгалов В.Е. Функциональная морфология морских многоклеточных водорослей. – Киев: Наук. думка, 1992. – 277 с.
- Littler M.M. Morphological form and photosynthetic performances of marine macroalgae: tests of functional / form hypothesis // Bot. Mar. – 1980. – 22. – P. 161-165.
- Littler M.M., Littler D.S., Taylor P.R. Evolutionary strategies in tropical barrier reef system: functional- form groups of marine macroalgae // J. Phycol. – 1983. – 19. – P. 229-237.
- Rosenberg G., Ramus J. Uptake of inorganic nitrogen and seaweed surface area: volume ratios // Aquat. Bot. – 1984. – 19. – P. 65-72.

Получена 14.08.03

Подписала в печать Л.А. Сиренко