

ЭКОЛОГИЯ МОРЯ



10

1982

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О РЕГУЛИРУЮЩЕМ ДЕЙСТВИИ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ НА РОСТ И ФОТОСИНТЕЗ ВОДОРΟΣЛЕЙ В ПРОТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ

Непрерывные проточные культуры широко используются в настоящее время для изучения экологии бактерий, грибов, дрожжей и одноклеточных водорослей. В области альгологии эти исследования были направлены на изучение действия лимитирующих концентраций соединений азота [4, 5, 9, 15], фосфора [10], кремния [6, 11, 14] или витамина В₁₂ [7, 8] на рост, фотосинтез и другие физиологические параметры морских планктонных водорослей. Хемостатные культуры используются также при исследовании химического состава, кинетики роста и морфологических изменений в клетках водорослей, содержащихся в условиях полного голодания, недостатка или избытка питательных солей.

В зависимости от стоящих перед исследователями задач использовались разные схемы хемостатных установок от очень простых, в которых постоянная скорость роста культур поддерживалась длительный период времени при лимитирующих концентрациях биогенных веществ [7, 12, 13], до сложных полупромышленных установок с регулируемой скоростью потока, интенсивностью освещения, температурой и газовым питанием [1, 3], используемых для управляемого биосинтеза одноклеточных популяций.

В наших работах ставилась более узкая задача — изучить действие растворенных органических веществ на рост и фотосинтез ряда видов планктонных водорослей в проточной культуре. Аналогичные эксперименты проведены нами на стационарных культурах тех же видов фитопланктона.

Материал и методика. Опыты проводились на простой хемостатной установке (рис. 1), смонтированной сотрудником Красноярского физического института Р. П. Тренкеншу, в которой скорость разбавления среды регулировалась увеличением или уменьшением объема культуры пяти видов черноморских планктонных водорослей: *Skeletonema costatum*, *Peridinium trochoideum*, *Prorocentrum micans*, *Platymonas viridis* и *Ditylum brightwellii*, относящихся к разным отделам. Перед постановкой эксперимента строилась кривая роста данного вида, для чего в течение семи дней в одно и то же время подсчитывалось число клеток в колбе, экспонируемой на световой решетке в тех же условиях освещения (12—13 тыс. лк) и температуры (20—21°C), в которых содержались реакторы хемостата. Исходная плотность для проточной культуры выбиралась по отрезку кривой роста на стадии лаг-фазы. После тщательного перемешивания культуру выбранной плотности разливали в два параллельно установленных реактора, после чего включался проток среды. Интенсивность потока необходимо отрегулировать в соответствии со скоростью деления клеток данного вида таким образом, чтобы плотность популяции сохранялась на одном уровне в течение периода экспозиции (7—9 дней). В один из реакторов с

культурой добавляли белковый гидролизат водорослей в количестве $0,1-0,3 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$, а другой служил контролем. Свежая среда Гольдберга в первый реактор подавалась с добавкой гидролизата, а во второй — без него. Интенсивность фотосинтеза водорослей измеряли кислородным скляночным методом, для чего склянки объемом 30 мл заполняли культурой из слива от каждого реактора и экспонировали в течение 4 ч в том же инкубаторе, в котором содержались реакторы. Чтобы определить действие РОВ на скорость роста, ежедневно просчитывали клетки в пробах из обоих реакторов под микроскопом МБС-1.

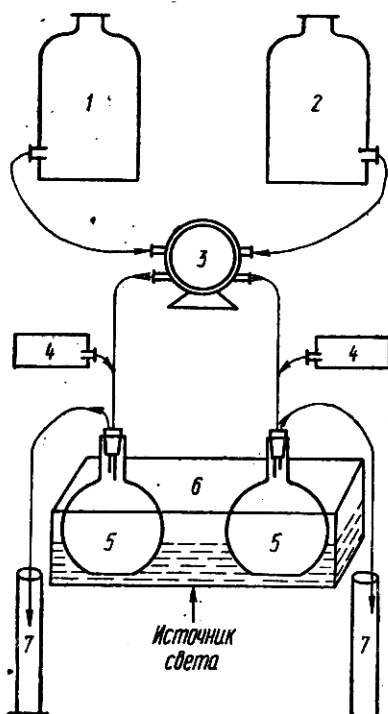


Схема хемостатной установки для культивирования одноклеточных водорослей с протоком среды:

1 — склянка со средой Гольдберга с добавками РОВ, 2 — склянка со средой Гольдберга без добавок РОВ, 3 — насос, 4 — скалярин для продувки воздуха, 5 — реакторы с культурой водорослей, 6 — водяная баня для поддержания постоянной температуры и 7 — слив.

Результаты и их обсуждение. Эксперимент с *Proocentrum micans* был проведен без предварительной адаптации водорослей к потоку, т. е. гидролизат белка добавлялся сразу же после разбавления и перемешивания культуры в один из реакторов хемостата. При непрерывном протоке среды со скоростью $450-500 \text{ мл/сут}$ ($20-21 \text{ мл/ч}$) и продолжительности фотопериода 8 ч/день плотность популяции *Pr. micans* в обоих реакторах, как с гидролизатом, так и в контроле, сохранялась почти постоянной в течение 7-суточной экспозиции. Влияние добавок гидролизата на рост оказалось незначительным. В первые два дня экспозиции скорость деления клеток слабо стимулировалась ($0,34$ деления в сутки с РОВ, против $0,27$ — в контроле). В последующие пять дней водоросли в контрольном реакторе размножались несколько интенсивнее (соответственно $0,62$ и $0,55$). В среднем за весь период наблюдений гидролизат подавлял рост пророцентрума на 8% по сравнению с контролем (табл. 1). Во всех экспериментах по измерению интенсивности фотосинтеза в тех же условиях получен обратный результат. Валовый фотосинтез в реакторе с гидролизатом в среднем достигал $0,093$, а в контроле $0,081 \text{ мг С} \cdot \text{ч}^{-1} \cdot 10^{-6}$ на одну клетку. Чистый фотосинтез в варианте с РОВ повышался от $0,072$ в контроле до $0,077 \text{ мгС} \cdot \text{ч}^{-1} \cdot 10^{-6}$ на клетку, т. е. на $7-15\%$ (табл. 2). Дыхание здесь также в $1,5-2$ раза было интенсивнее, чем в контроле.

Опыт с *Platymonas viridis* был проведен также без предварительной адаптации водорослей к потоку среды. В течение пятидневной экспозиции скорость деления клеток платимонасы в реакторе с гидролизатом, концентрация которого не превышала $0,1 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$, оказалась выше, чем в контроле. Стимуляция роста в среднем за весь период составляла 28% , интенсивность фотосинтеза возрастала на 22% . Валовый фотосинтез с РОВ достигал $0,0094 \text{ мг С} \cdot \text{ч}^{-1} \cdot 10^{-6}$ на одну клетку, а в контроле — $0,077$. Прирост чистого фотосинтеза был несколько ниже (19%) за счет увеличения дыхания водорослей в реакторе с добавкой органического вещества (табл. 1 и 2).

Эксперимент с *Ditylum brightwellii* показал, что эта диатомея плохо переносит постоянное перемешивание и продувку воздуха, показав

телем чего было образование осадка на дне контрольного реактора и уменьшение числа клеток в сливе, т. е. цепочки дитилиум механически разбивались, часть клеток оседала на дно и не вымывалась. В реакторе с добавкой органического вещества водоросли были в лучшем состоянии. В оттоке и реакторе концентрация клеток почти одинакова и осадок не образовывался.

Рассчитанная с учетом количества вымытых клеток средняя скорость их деления в реакторе с гидролизатом была на 30% выше, чем в контроле (соответственно 1,53 и 1,17 делений в сутки). Интенсивность фотосинтеза, наоборот, во всех случаях в контроле оказалась выше, чем с гидролизатом (табл. 1 и 2). В среднем добавка гидролизата белка подавляла фотосинтез дитилиум на 20%. Валовый фотосинтез у этого вида в контроле составлял 0,682, а в реакторе с РОВ — 0,549 $\text{мгС} \cdot \text{ч}^{-1} \cdot 10^{-6}$ на одну клетку.

Проведенные работы следует рассматривать как предварительные, которые требуют дальнейшего развития и разработки методических приемов, обеспечивающих устойчивое состояние культур в течение длительного периода времени без вымывания и оседания клеток на дно реакторов, а также без постороннего роста. Это удалось нам сделать не на всех изучаемых видах водорослей, поэтому в настоящей статье приводятся результаты экспериментов только с тремя видами черноморского фитопланктона.

Поскольку данные о влиянии РОВ на продукционные процессы морских планктонных водорослей в проточных культурах полностью отсутствуют, то полученные результаты представляется возможным сравнить с таковыми аналогичных исследований только на непроточных культурах [2] тех же видов водорослей. Такое сравнение показало, что действие гидролизата на рост и фотосинтез водорослей в разных условиях культивирования не всегда совпадало как по его характеру (знаку), так и по величине регулирующего эффекта. Так, у *Ditylum brightwellii* в одинаковых условиях освещения (12—15 тыс. лк) и концентрации гидролизата (0,1 $\text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$) в хеостатных и стационарных культурах обнаружена стимуляция роста на 30% и подавление фотосинтеза в протоке на 20%, а без протока — на 11%, в то время как у *Pr. micans* регулирующее действие РОВ в разных культурах проявлялось неодинаково. В проточной культуре рост подавлялся гидролизатом на 8%, а в непроточной стимулировался на 21%. Также и фотосинтез в первой увеличивался на 15% по сравнению с контролем без добавки органического вещества, а во второй — уменьшался на 3%.

Установленные различия в регулирующем влиянии растворенного органического вещества, наряду с другими причинами, связаны еще и

Таблица 1. Регулирующее действие гидролизата на рост водорослей в хеостате с протоком среды (1978 г.)

Prorocentrum micans		Platymonas viridis		Ditylum brightwellii	
Дата	Скорость роста	Дата	Скорость роста	Дата	Скорость роста
22.08	0,40 0,44	03.10	1,05 1,31	28.10	— 0,42
23.08	0,15 0,26	04.10	1,35 1,65	29.10	0,50 0,82
24.08	0,75 0,67	05.10	3,24 3,15	30.10	2,24 2,40
25.08	0,52 0,50	07.10	1,72 1,93	31.10	1,23 1,44
26.08	0,71 0,59	08.10	0,53 2,43	01.11	0,86 1,71
27.08	0,45 0,38	09.10	1,65 1,88	02.11	1,11 1,21
28.08	0,69 0,58	—	—	—	—
Среднее	0,62 0,57	—	1,86 2,37	—	1,17 1,53
Изменение роста, % контроля	—8		+28		+30

Примечания: 1. Для каждой водоросли приведены результаты опытов: контроль без РОВ (I строка), с гидролизатом (II строка). 2. Концентрация гидролизата для первой водоросли составляет 0,3, для остальных — 0,1 $\text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$.

с тем, что в протоке (при постоянном разбавлении культур свежей средой, обогащенной питательными солями) в меньшей степени проявляются органотрофные способности водорослей, особенно в условиях довольно интенсивного освещения. И, вероятно, в таких экспериментах лучше использовать вместо среды Гольдберга стерильную морскую

Таблица 2. Регулирующее влияние гидролизата на фотосинтез водорослей в хемостате с протоком среды (1978 г.)

Proorocentrum micans		Platimonas viridis		Ditylum brightwellii	
Дата	Валовый	Дата	Валовый	Дата	Валовый
	Чистый фотосинтез на 1 кл., мгС/ч·10 ⁻⁶		Чистый фотосинтез на 1 кл., мгС/ч·10 ⁻⁶		Чистый фотосинтез на 1 кл., мгС/ч·10 ⁻⁶
23.08	0,100	30.08	0,0083	31.10	0,698
	0,088		0,0067		0,668
	0,103		0,0094		0,550
	0,083		0,0073		0,480
25.08	0,104	05.10	0,0064	02.11	0,786
	0,087		0,0052		0,742
	0,114		0,0068		0,636
	0,094		0,0056		0,613
28.08	0,040	08.10	0,0085	04.11	0,563
	0,041		0,0079		0,525
	0,063		0,0120		0,463
	0,055		0,0109		0,440
Среднее	0,081	—	0,0077	—	0,682
	0,072		0,0066		0,645
	0,093		0,0094		0,549
	0,077		0,0079		0,511
Изменение фотосинтеза, % конт-роля	+15	—	+22	—	-20
	+7		+19		-21

Примечание. Для каждой водоросли приведены результаты опытов: контроль без РОВ (I строка), с гидролизатом (II строка).

воду и освещение меньшей интенсивности. Здесь необходима особо тщательная стерилизация среды, очистка исходной культуры и стерилизация хемостатной установки, чтобы предотвратить посторонний рост.

1. Ковров Б. Г., Мельников Е. С., Белянин В. Н. и др. Культиватор для интенсивного непрерывного выращивания микроводорослей. — В кн.: Непрерывное управляемое культивирование микроорганизмов. М.: Наука, 1967, с. 14—31.
2. Кондратьева Т. М. Регулирующее действие органических веществ на рост и фотосинтез планктонных водорослей в культурах. — Экология моря, 1982, вып. 9, с. 75—84.
3. Терсков И. А., Гительзон И. И. Применение непрерывного плотностного процесса для управляемого культивирования микроорганизмов. — В кн.: Непрерывное управляемое культивирование микроорганизмов. М.: Наука, 1967, с. 3—14.
4. Caperon J. Population growth response of *Isochrysis galbana* to nitrate variation at limiting concentration. — Ecology, 1968, 49, p. 872—886.
5. Caperon J., Meyer J. Nitrogen-limited growth of marine phytoplankton. I. Changes in population characteristics with steady-state growth rate. — Deep-Sea Res., 1972, 19, p. 601—618.
6. Davis C. O., Harrison P. J., Dugdale R. C. Continuous culture of marine diatoms under silicate limitation. I. Synchronized life cycle of *Skeletonema costatum*. — J. Phycol., 1973, 9, p. 175—180.
7. Droop M. R. Vitamin B₁₂ and marine ecology. III. An experiment with a chemostat. — J. Mar. Biol. Assoc. UK., 1966, 46, p. 659—671.

8. Droop M. R. The nutrient status algal cells in continuous culture. — Ibid., 1976, 54, p. 825—855.
9. Eppley R. W., Rogers J. H., McCarthy J. J., Sournia A. Light — dark periodicity in nitrogen assimilation of the marine phytoplankters *Skeletonema costatum* and *Coccolithus huxleyi* in N-limited chemostat culture. — J. Phycol., 1971, 7, p. 150—154.
10. Fuhs G. W. Phosphorus content and rate of growth in the diatoms *Cyclotella nana* and *Thalassiosira fluviatilis*. — J. Phycol., 1969, 5, p. 312—321.
11. Harrison P. J., Conway H. L., Dugdale R. C. Marine diatoms grown in chemostat under silicate or ammonium limitations. 1. Cellular chemical composition and steady-state growth kinetics of *Skeletonema costatum*. — Mar. Biol., 1976, 35, N 2, p. 117—186.
12. Monod J. Le technique de culture continue; théorie et applications. — Ann. Inst. Pasteur, 1950, 79, p. 390—410.
13. Novick A., Szilard L. Experiments with the chemostat on spontaneous mutations of bacteria. — Proc. Nat. Acad. Sci., 1950, 36, p. 708—719.
14. Paasche E. Silicon and the ecology of marine plankton diatoms. II. Silicate uptake kinetics in five diatom species. — Mar. Biol., 1973, 19, p. 262—269.
15. Thomas W. H., Dodson A. N. On nitrogen deficiency in tropical Pacific phytoplankton. 2. Photosynthetic and cellular characteristics of a chemostat-growth diatom. — Limnol. and Oceanogr., 1972, 17, p. 514—522.

Институт биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского АН УССР

Поступила в редколлегию 23.06.80

T. M. KONDRATIEVA
**PRELIMINARY DATA ON REGULATING
ORGANIC MATTER ACTION
ON ALGAE GROWTH
AND PHOTOSYNTHESIS
IN A FLOWAGE CULTURE**

Summary

Experiments with three species of the Black Sea plankton algae conducted without their preliminary adaptation to flowage conditions in the chemostat showed a stimulating action of protein hydrolysate added to the Goldberg medium on the growth of *Platymonas viridis* (28%) and *Ditylum brightwellii* (30%). The rate of *Prorocentrum micans* growth under these conditions, on the contrary, decreased by 8% as compared to the control.

Studies in the organic matter influence on the photosynthesis intensity yielded unlike results. The photosynthesis in *Prorocentrum micans* and *Platymonas viridis* after a 7-9 day exposure grew by 15-22% on the average and that in *Ditylum brightwellii* was inhibited by 20%. The regulating action of dissolved organic matter on growth and photosynthesis of the same phytoplankton species in stationary and flowage cultures is shown not always to be alike in the character (sign) of its action and in the magnitude of regulating effect.

УДК 582.265.1:581.1(262.5)

А. Г. КОРОТКОВ

**ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ ФОТОСИНТЕЗА *ULVA RIGIDA* AG.
ОТ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ МАССЫ ЕЕ ТАЛЛОМОВ
ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ИНТЕНСИВНОСТЯХ СВЕТА
И КОНЦЕНТРАЦИЯХ ПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ**

В процессе онтогенеза макроводорослей биохимические, физиологические и морфологические показатели их жизнедеятельности не остаются постоянными. Дифференциация, рост и последующее старение тканей отражаются на функционировании отдельных клеток и организма в целом. В литературе имеются сведения о снижении скорости роста ряда морских макрофитов с возрастом талломов [5, 11, 12]. Ана-