

БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ КРАСНОЙ ЧЕРНОМОРСКОЙ ВОДОРОСЛИ *GELIDIUM LATIFOLIUM* (GREV.) BORN ET THUR (RHODOPHYTA)



БЕЛЯЕВ Б.Н. – ст. научн. сотрудник, канд. биол. наук, БЕРЕГОВАЯ Н.М. – мл. научн. сотрудник, ДАЛЁКАЯ Л.Б. – ведущий инженер, отдел биотехнологий и фиторесурсов ИнБЮМ НАН Украины (г. Севастополь)

В работе представлен анализ результатов четырех экспериментов 2004 - 2005 гг. по лабораторному культивированию красной черноморской водоросли *Gelidium latifolium* (GREV.) Born. et Thur. (Rhodophyta) при варьировании освещенности, температуры, солености, концентрации биогенов, а также исходной плотности посадки.

Установлено, что содержание агара может достигать 43,4% сухой биомассы, фикоэритрина – до 1,25%, хлорофилла – до 0,16%, а каротиноидов – до 1800 мкг на 1г сухого вещества и что при вариации средней удельной скорости весового роста гелидиума в пределах $0,01 < \mu < 0,07$ уровень содержания хлорофилла прямо, а фикоэритрина и каротиноидов обратно пропорционален “ μ ”. Утверждение о несовместимости функций роста макрофита и накопления в нем агара нашло подтверждение только в 44% случаев.

Ключевые слова: культивирование, красная водоросль, Черное море, скорость роста, биомасса, агар, пигменты.

ВВЕДЕНИЕ

Гелидиум ценится прежде всего в связи с большим содержанием (от 24 до 50%) сухого вещества и высоким качеством агара, стоимость которого в зависимости от чистоты может меняться на два порядка. Не менее ценным продуктом может оказаться β -каротин, составляющий большую часть суммарных каротиноидов и обладающий антиоксидантными свойствами, хлорофилл, очищающий организм от шлаков, токсинов, бактерий, а также фикобилипротеины, использующиеся в иммун-

ной диагностике, микроскопии и цитометрии.

Известно, что содержание этих продуктов зависит от уровней факторов внешней среды, и что не удается совмещать функции роста макрофитов и накопления в них агара и фикоэритрина [1, 2]. Поэтому, с позиции оценки обобщенного параметра оптимизации процесса [3], средняя удельная скорость весового роста при культивировании гелидиума может оказаться не самой решающей величиной.

В связи с этим была поставлена цель: исследовать влияние условий интенсивного культивирования и длительного содержания черноморского гелидиума на накопление в нем агара, суммарных каротиноидов, фикоэритрина и хлорофилла.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДИКА

Объектом исследования служил *Gelidium latifolium* (GREV.) Born. et Thur (Rhodophyta), собранный в 2004 - 2006 гг. с бетонных берегоукрепительных сооружений правого берега бухты Карантинной (Черное море, г. Севастополь).

Исследования по культивированию проводили на лабораторной установке, имеющей 8 рабочих объемов емкостью 1,5 л квадратного сечения $0,1 \times 0,1 \text{ м}^2$ с частично усеченным дном, снабженными барботерами для создания объемных циркуляций питательной среды с талломами водорослей и поддержания в ней кислотно-щелочного баланса. Объемы были расположены в 2 ряда по 4 в каждом из двух термостатов и освещены двумя поперечными светильниками с четырьмя 20-ваттными лампами в каждом. Такая установка позволяет проводить полные факторные эксперименты (ПФЭ) типа 2^3 с одним повтором и ПФЭ типа 2^2 с двумя повторами, либо дробный факторный эксперимент (ДФЭ) типа 2^{3-1} с двумя по-



вторами [3], в которых температура, освещенность, плотность посадки макрофита и концентрация биогенов могут быть заданы на двух уровнях. Температуру задавали в интервале от 15 до 25°C. Освещенность при использовании люминисцентных ламп дневного (ЛД) и белого (ЛБ) света поддерживали на уровне 20 клк в режиме день–ночь в соотношении 16:8. При исследовании влияния спектрального состава света на рост гелидиума использовали лампы красного, желтого, зеленого, синего и дневного света фирмы Philips марки TL-D 18 W [4] по 2 лампы на пару объемов из разных термостатов. Освещенность измеряли люксметром Ю-116 с фотоэлементом Ф55С (ГОСТ). Рабочие объемы пополняли питательной средой на основе прибрежной черноморской воды, соленость которой (17,5 – 18‰) меняли разбавлением дистиллированной водой до 9 ‰, либо добавлением морской соли – до 34 ‰.

Содержание биогенов варьировали от 4,76 мг до 8,54 мг азота и от 0,8 мг до 1,74 мг фосфора на литр. Сырую биомассу один раз в неделю определяли на лабораторных весах с точностью до 10 мг после промакивания таломов фильтровальной бумагой. Среднюю удельную скорость весового роста μ определяли по формуле:

$$\mu = (\ln W_t - \ln W_0) / t, \quad (1)$$

где: W_0 – начальная масса,

W_t – конечная масса

t - время между взвешиваниями в сутках.

Суммарные каротиноиды и хлорофилл–а экстрагировали из одной навески хлороформ-этанольной смесью (2:1) и определяли по методике, разработанной в ИнБИОМ [5], выделение агара осуществляли путем щелочной [6], а фикоэритрина – водной экстракции [7].

Водоросли перед интенсивным культивированием в установке, в промежутках между сериями и после экспериментов, отправляли на “отдых” в 10–секционном 250–литровом аквариуме с фильтрованной прибрежной черноморской водой соленостью 17,5‰ – 18‰ без добавления биогенов, которую меняли 1 раз в месяц. Каждую секцию барботировали сжатым воздухом. Освещенность не превышала 0,3 клк, температуру, которая в зависимости от сезона и погодных условий менялась от 13 до 25°C, не регулировали.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Летом 2004 г. был зафиксирован значительный разброс содержания агара и пигментов в

талломах гелидиума, взятых из разных условий: из моря, аквариума и лабораторной установки. В активно растущих водорослях, собранных в море 30.07.04 г., содержание агара составило 24,9%, а в пробе, выдержанной после сбора в аквариуме с 14.07 по 27.07.04 г. – 26,5% сухого вещества.

В эксперименте № 1 использовали гелидиум, собранный 13.08.04 г. В установке с 16.08 по 15.09.04г. поддерживали температуру на уровне 25 - 26°C, освещенность – на уровне 20 – 22 клк, минеральное питание – до 4,8 мг азота и 0,8 мг фосфора на 1 л питательной среды и задавали 4 уровня солености (9, 18, 26 и 34‰). Усредненные результаты измерений двух серий проб из этого эксперимента приведены в табл. 1, где - S ‰ – соленость питательной среды, A % - содержание агара в % сухого веса, Cl-a % - содержание хлорофилла-а в % сухого веса, Кр мкг/г - содержание общих каротиноидов в мкг на 1 г сухого веса.

Таблица 1.

Эксперимент № 1 (16.08-15.09.04 г.)

S ‰	9	18	26	34
A, %	25	25,15	23,5	19,2
Cl-a, %	0,032	0,029	0,029	0,040
Кр, мкг/г	269	269	163	271
μ_7	0,033	0,037	0,033	0,049

После эксперимента № 2 (с 5.10 по 15.10.04г), проведенного при тех же условиях, было измерено содержание фикоэритрина в процентах сухого веса (Φ_9 %) в двух пробах из объемов № 4 и № 8 с соленостью 34‰. В пробе из объема № 4, где использовали гелидиум, “отдохнувший” после эксперимента № 1, (при $\mu = 0,077$) $\Phi_9 = 0,85\%$, а в пробе из объема № 8, где был гелидиум, собранный 4.10.04 г, (при $\mu = 0,034$) $\Phi_9 = 0,70\%$. В то же время в свежей пробе, собранной 22.10.04 г, содержание фикоэритрина составило 0,5%.

В “спектральном” эксперименте № 3 (с 27.10 по 3.12.04 г.) определяли влияние состава света на рост гелидиума, побывавшего в эксперименте № 2, а также собранного 22. 10. 04 г. и выдержанного в аквариуме 5 суток. Температуру поддерживали на уровне 20 – 21°C, минеральное питание – до 4,8 мг азота и 0,8 мг фосфора на литр среды на основе фильтрованной прибрежной воды соленостью 17,5‰, начальную плотность посадки задавали 2,33 г/литр ($W_0 = 3,5$ г). Так как лампы красного света излучали световой поток 25 лм и обеспечивали



№ объема	свет	Фэ, % сухого веса	Кр, мкг/г	Сl-а, % сухого веса	А % сухого веса	μ ₃₇
1*	синий	0,73±0,02↓	906±12↑	0,095↑	43,4↓	0,032↑
5		0,63±0,09	994±8	0,110	37,0	0,035
2*	зеленый	0,79±0,09↓	1084±38↓	0,12↓	37,9↑	0,034↓
6		0,28±0,04	883±35	0,11	43,1	0,028
3*	желтый	0,53±0,02↓	726±59↓	0,084↓	35,9↑	0,024↓
7		0,21±0,02	703±70	0,076	41,3	0,023
4*	красный	0,90±0,04↓	1344±64↓	0,160↓	28,2↓	0,010**↓
8		0,50±0,03	551±54	0,060	16,3	0,005**
4*	дневной	0,38±0,04↓	902±56↓	0,110↓	40,4↑	0,46***↑
8		0,23±0,03	741±106	0,053	42,5	0,51***

освещенность всего 1,4 клк (в то время как желтого – 660 лм/6,2 клк, синего – 400 лм/8,05 клк, а зеленого – 1300 лм/26,5 клк) и имели низкий КПД (преобразования электроэнергии в ФАР) - всего 0,39%, и тот и другой гелидиум рос только первую неделю (μ = 0,0299 и 0,023 соответственно) [4]. Поэтому по окончании трех недель культивирование продолжили под лампами дневного света (Daylight) при освещенности 16 клк.

Результаты эксперимента № 3 сведены в табл. 2, где звездочками (*) обозначены объемы 1, 2, 3 и 4, в которых культивировали гелидиум после эксперимента № 2, в то время как в объемах 5, 6, 7 и 8 – гелидиум, собранный 22.10.04 г. Значения μ, обозначенные двумя звездочками (**) – средняя удельная скорость весового роста, вычисленная за первые 21 сутки, а тремя (***) – за последние 16 суток.

В эксперименте № 4 (19.08 – 20.09.05 г) при исследовании скорости потребления биогенов поддерживали температуру 20 ± 0,5°C, освещенность 23 – 25 клк, которая была непрерывной первые 106 часов. В объемах 1 – 4 задавали соленость 26‰, а в объемах 5 – 8 - 34‰. (X₁). В объемах 3, 4, 7 и 8 задавали концентрацию биогенов (X₂) на уровне 6,16 мг азота и 1,24 мг фосфора на литр среды, а в объемах 1, 2, 5 и 6 – соответственно 8,54 мг и 1,74 мг. В объемах 1, 3, 5 и 7 начальная плотность посадки гелидиума (X₃) составляла 2 г/л (3г/дм²), а в объемах 2, 4, 6 и 8 – 4 г/л (6 г/дм²). Таким образом, был реализован ПФЭ типа 2³ с одним повтором, матрица планирования которого приведена в табл. 3. В ходе эксперимента были отобраны 2 серии проб (12.09 и 20.09.05г.), результаты измерения которых сведены в табл. 4.

Матрица планирования эксперимента № 4.

Таблица 3.

№ объема	X ₀	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁ X ₂	X ₁ X ₃	X ₂ X ₃	X ₁ X ₂ X ₃
1	+	-	+	-	-	+	-	+
2	+	-	+	+	-	-	+	-
3	+	-	-	-	+	+	+	-
4	+	-	-	+	+	-	-	+
5	+	+	+	-	+	-	-	-
6	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	-	-	-	-	+	+
8	+	+	-	+	-	+	-	-

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Величины содержания агара, зафиксированные летом 2004 г. в пробах из свежего гелидиума (24,9%) и неделю выдержанного в аквариуме (26,5%), лежат вблизи нижней границы диапазона для гелидиума, приводимого в литературе.

Результаты экспери-



мента № 1 (табл. 1) показывают, что при солёности 34‰ содержание агара в 1,3 – 1,4 раза меньше, чем при уровнях солёности 9 – 26‰, а средняя удельная скорость весового роста μ в 1,3 – 1,48 раз выше. Таким образом, влияние солёности на содержание агара может не содержать прямого действия – оно может быть опосредовано через скорость наращивания биомассы. Возможно, в данном случае лишь подтверждается тезис о несовместимости функций роста и накопления агара. Содержание суммарных каротиноидов оказалось практически постоянным при всех уровнях солёности, за исключением “провала” при 26‰, который сложно объяснить [8], а содержание хлорофилла пропорционально « μ ». При этом концентрация обоих пигментов, как и агара, была на довольно низком уровне.

После эксперимента № 2 было произведено только измерение фикоэритрина. В пробе из объема № 4, где гелидиум культивировался повторно после эксперимента № 1, его содержание оказалось в 1,2 раза выше, чем в пробе № 8, где гелидиум культивировали впервые после сбора, и в 1,7 раза выше, чем в гелидиуме из моря, собранном 22.10.04 г.

Аналогичная ситуация повторилась и в эксперименте № 3. В гелидиуме из объемов 1 – 4 (табл. 2) содержание фикоэритрина во всех

случаях в 1,16 – 2,8 раза выше, чем в гелидиуме из объемов 5 – 8, вовлеченном в культивирование впервые, хотя продолжительность эксперимента была более 5 недель. В четырех из пяти случаев (кроме варианта с синим светом) такое соотношение сохраняется и для каротиноидов, и для хлорофилла-а. При этом для фикоэритрина в трех из пяти, а для каротиноидов и хлорофилла в четырех из пяти случаев градиенты изменения концентраций совпадают с градиентами скорости роста. Совпадения градиентов Φ_3 и “ μ ” противоречат данным, полученным в экспериментах с грацилярией [2], в которых была выявлена обратно пропорциональная зависимость содержания фикоэритрина от “ μ ”, и могут служить основанием для гипотезы, что увеличение концентрации красных пигментов может происходить не только как реакция на понижение освещенности и уменьшение скорости роста, но при нормальной освещенности, наряду с хлорофиллом, способствует увеличению темпов роста. В этом эксперименте, основная часть которого при обычных условиях по питанию и температуре пришлось на ноябрь месяц, а объектом исследования был гелидиум после двух экспериментов и гелидиум, собранный в конце октября, были зафиксированы максимальные величины содержания агара – до 42,5 – 43,4% сухого веса.

Таблица 4.

Результаты эксперимента № 4 (19.08-20.09.05 г.)

№ объема	Агар, % 12.09 - 20.09	Фикоэритрин, %		Каротиноиды, мкг/г		Хлорофилл-а, %		μ	
		12.09 - 20.09	12.09 - 20.09	12.09 - 20.09	12.09 - 20.09	12.09 - 20.09	12.09 - 20.09		
1	251 ↑ 30	0,35±0,03 ↑0,36±0,03	1008±40 ↓ 991±56	0,065±0,005 ↑ 0,100±0,005	0,053- 0,053				
2	29 ↑ 37	0,46±0,03 ↑0,048±0,07	1145±150 ↓ 237±64	0,082±0,005 ↑ 0,100±0,003	0,025 ↑ 0,060				
3	26 ↑ 27	0,49±0,03 ↓ 0,40±0,09	1011±50 ↓ 569±40	0,060±0,007- 0,060±0,002	0,050 ↑ 0,073				
4	29- 29	0,71±0,05 ↓ 0,37±0,02	1031±70 ↓ 552±62	0,060±0,003 ↑ 0,073±0,003	0,032 ↑ 0,045				
5	26 ↓ 22	0,92±0,01 ↓ 0,38±0,01	1038±122 ↓ 633±120	0,061±0,005 ↑ 0,085±0,002	0,030 ↑ 0,042				
6	28 ↓ 26	0,94±0,01 ↓ 0,33±0,02	878±29 ↓ 487±67	0,050±0,005 ↑ 0,075±0,005	0,025 ↑ 0,039				
7	33 ↓ 25	1,05±0,15 ↓ 0,40±0,07	1800±140 ↓ 750±48	0,040±0,005 ↑ 0,065±0,003	0,027 ↑ 0,064				
8	27 ↑ 28	1,25±0,19 ↓ 0,38±0,06	1499±44 ↓ 649±3	0,080±0,001- 0,079±0,003	0,015 ↑ 0,025				

В 3 из 5 случаев градиенты содержания агара в параллельных опытах (1* - 5, 2* - 6, 3* - 7) противоположны градиентам μ . Нарушение этого правила наблюдается в варианте с красным светом, где были минимальные скорости роста ($\mu = 0,005 - 0,010$), и в продолжении этого варианта после замены красного света дневным, где были максимальные скорости роста $\mu = 0,046$ и $0,051$. Для последнего варианта характерна обратная картина и для концентрации пигментов. Причиной могло стать контрастное изменение условий освещенности.

В ходе эксперимента № 4 было установлено, что в пределах диапазона заданных условий при средней удельной скорости весового роста $0,063 - 0,073$ сутки⁻¹ средняя удельная скорость потребления азота может колебаться от 37 до 71 мкг · г⁻¹ · ч⁻¹, а фосфора - от 6,4 до 9,6 мкг на 1 г сырой массы в час. По результатам эксперимента (табл. 4) было построено 10 линейных моделей вида

$$y = \epsilon_0 + \epsilon_1 x_1 + \epsilon_2 x_2 + \epsilon_3 x_3 + \epsilon_{12} x_1 \cdot x_2 + \epsilon_{13} x_1 \cdot x_3 + \epsilon_{23} x_2 \cdot x_3 + \epsilon_{123} x_1 \cdot x_2 \cdot x_3, \quad (2)$$

определяющих прямое влияние заданных факторов среды - S‰, C_{NP}, W₀ (коэффициенты $\epsilon_1, \epsilon_2, \epsilon_3$), их двойных и тройного взаимодействия на среднюю удельную скорость весового роста, содержание в гелидиуме агара и пигментов. Условия, предвещающие отборы проб в двух сериях (12 и 20.09.05г.), отличались, как минимум, по освещенности из - за возросшего самозатемнения биомассы гелидиума: в первой серии биомасса достигала 12 - 13,2г (плотность 8 - 8,8 г/л), а во второй - 8,6 - 9,7 г (5,7 - 6,5 г/л). Поэтому и коэффициенты модели заведомо должны были отличаться: коэффициенты ϵ_0 отражают средние величины исследуемых выходных параметров в центре эксперимента - гипотетической точке с координатами $x_i = 0$, находящейся посередине между нижними ($x_i = -1$) и верхними ($x_i = +1$) значениями факторов. Если курсивом обозначить незначимые члены моделей, приняв за уровень значимости коэффициентов ϵ_i 5% от ϵ_0 , что соответствует изменению исследуемой величины на 10% при изменении знака фактора в матрице планирования (табл. 3), получим:

$$A_1 = 27,9 + 0,6S - 0,9C + 0,4W - 1,4SC - 1,4SW + 1,1CW + 0,9SCW \quad (3)$$

$$A_2 = 28 - 2,85S - 0,75C + 2W - 2,5SC - 1,2SW + 0,75CW - 0,5SCW \quad (4)$$

$$\Phi_1 = 0,77 - 0,27S - 0,10C + 0,07W + 0,006SC - 0,014SW - 0,04CW - 0,01SCW \quad (5)$$

$$\Phi_2 = 0,39 - 0,015S - 0,00C - 0,003W - 0,018SC - 0,02SW + 0,003CW - 0,02SCW \quad (6)$$



$$K_1 = 1,17 + 0,12S - 0,25C - 0,04W - 0,18SC - 0,08SW + 0,04CW + 0,01SCW \quad (7)$$

$$K_2 = 0,68 - 0,05S + 0,05C - 0,05W - 0,12SC - 0,00SW - 0,02CW - 0,01SCW \quad (8)$$

$$Cl_1 = 6,29 - 0,39S + 0,16C + 0,64W - 0,51SC + 0,21SW - 0,49CW - 0,91SCW \quad (9)$$

$$Cl_2 = 7,96 - 0,36S + 1,04C + 0,21W - 0,64SC - 0,11SW - 0,46CW - 0,14SCW \quad (10)$$

$$\mu_1 = 3,2 - 0,8S - 0,1C - 0,8W + 0,2SC + 0,4SW - 0,04CW + 0,2SCW \quad (11)$$

$$\mu_2 = 5,0 - 0,76S - 0,16C - 0,8W - 0,04C - 0,26SW + 0,9CW - 0,01SCW \quad (12)$$

Принимая положение, что содержание агара и пигментов зависит от темпов роста, логично сначала рассмотреть влияние заданных факторов на величину " μ ".

В обеих формулах (11 и 12) коэффициенты ϵ_i показывают значимое влияние солености на величину " μ ". При отклонении от центра эксперимента на нижний уровень (S = -1) величина μ_1 увеличивается на 25% или уменьшается на 25%, когда соленость достигает верхнего уровня (S = +1). Соответственно μ_2 меняется на $\pm 16\%$.

Такое же по величине и по знаку влияние оказывал уровень начальной плотности посадки гелидиума (коэффициенты ϵ_3). Согласно теории планирования эксперимента задаваемые уровни факторов должны быть жестко зафиксированы [12], но плотность гелидиума фактически оказалась переменной, так как в начале эксперимента она составляла 2 и 4 г/л, при отборе проб первой серии достигла 6 - 9 г/л, а второй серии - 3 - 6 г/л. Это могло привести к смещению оценок коэффициентов моделей. То, что коэффициенты ϵ_2 в формуле 12 оказались ниже принятого уровня значимости 5% свидетельствует о том, что оптимум концентраций биогенов для " μ ", как, впрочем, и для величины "А" (формулы 3 и 4), лежит вблизи центра эксперимента (7,35 мг N и 1,49 мг P/л), а отрицательные знаки - о том, что оптимум сдвинут от центра в сторону нижнего уровня.

На фоне различий величин " μ " в двух сериях проб средний уровень содержания агара (формулы 3 и 4) оказался одинаковым, хотя по принятой логике эти величины должны быть в обратнопропорциональной зависимости от " μ ". Возможно, на результатах эксперимента ска-



зались слишком высокие концентрации биогенов: их увеличение влияло отрицательно и с одинаковой силой как на величину " μ ", так и на величину "А", и поэтому не могло быть причиной разнонаправленности градиентов " μ " и "А".

Увеличение плотности посадки ($W_0 = +1$) приводит к уменьшению " μ_1 ", и " μ_2 ", очевидно, за счет снижения освещенности, т.к. лимитирования по питанию не было. При этом в обеих сериях увеличивается содержание агара (№ 3 и № 4), что может являться следствием уменьшения " μ_1 " и " μ_2 ". Но эти изменения не пропорциональны: последние уменьшаются на 25 и 16%, а концентрация агара возрастает всего на 1,5 и 7%.

Если ориентироваться только на модель A_2 (поскольку в модели A_1 все коэффициенты, определяющие прямое воздействие факторов - ϵ_1 , ϵ_2 и ϵ_5 , ниже уровня значимости), можно констатировать, что повышение солености с 26 до 34‰ действует на " μ " и "А" однозначно, правда, воздействие на " A_2 " - в 1,5 раза меньше, чем на " μ_2 ". Не исключено, что оптимумы солености для этих величин могут находиться как в промежутке от центра до нижнего уровня, так и ниже нижнего уровня. В связи с этим было бы интересно дополнительно исследовать промежуток между 18 и 26‰. Тем не менее, фактор солености также не может быть причиной разнонаправленности величин μ_2 и A_2 .

Таким образом, из трех заданных факторов только плотность культуры воздействовала на рост гелидиума и накопление агара в противофазе. Единственный механизм воздействия - это понижение освещенности. Здесь возможны два варианта. Первый - это влияние через величину " μ ": понижение освещенности приводит к снижению скорости роста, что способствует увеличению накопления агара. Второй - понижение освещенности непосредственно стимулирует накопление агара.

В любом случае, функции роста гелидиума и накопления в нем агара действительно не могут быть сопряжены, если увеличение темпов роста достигается исключительно только повышением освещенности. А в данном конкретном случае мы видим, что различное по величине и по знаку влияние взаимодействий факторов (коэффициенты ϵ_{12} - ϵ_{123}) привели к тому, что уровень содержания агара, как минимум, не уменьшился при увеличении " μ ".

Данные по накоплению фикоэритрина в этом эксперименте вполне соответствуют данным опытов с грацилярией [11]. Достаточно

сравнить коэффициенты ϵ_0 моделей 5, 6 и моделей 11, 12. Здесь явно не сопрягаются процессы увеличения темпов роста биомассы и накопления фикоэритрина. При этом, оптимальные уровни солености для величины "Ф" находятся между центром эксперимента и нижними уровнями, либо ниже их. Значимый коэффициент ϵ_3 со знаком "+" в модели 5 говорит о том, что понижение освещенности способствует накоплению фикоэритрина, что также совпадает с данными по грацилярии [11].

Исследование содержания суммарных каротиноидов в гелидиуме было начато нами впервые в эксперименте № 1 (16.08 - 15.08.04г.) и продолжено в эксперименте № 3 (27.10 - 3.12.04г.). По сравнению с результатами этих экспериментов в четвертом были получены максимальные значения содержания каротиноидов. Их среднее содержание в сериях проб обратно пропорционально величине " μ " при значительных различиях обеих величин: $K_1/K_2 = 1,72$, а $\mu_2/\mu_1 = 1,56$. Такая картина сохраняется в 7 из 8 случаев (табл. 4), но в эксперименте № 3 из 5 вариантов в 4 случаях наблюдается противоположная картина. Область оптимальных значений солености для накопления каротиноидов, вероятнее всего, находится в центре эксперимента (~30‰), а оптимальные концентрации биогенов и начальной плотности посадки смещены к нижним уровням.

Среднее содержание хлорофилла в сериях (формулы 9 - 10) прямо пропорционально увеличению удельных скоростей роста, при этом $Cl_2/Cl_1 = 1,27$. В пяти из восьми вариантов градиенты изменения содержания хлорофилла однонаправлены с градиентами изменения " μ " (табл. 4). На содержание хлорофилла, так же, как и на величину " μ ", отрицательно действовало повышение солености с 26 до 34‰. А повышение концентрации биогенов и самозатемнения гелидиума каждого фактора в отдельности приводили к увеличению содержания хлорофилла, хотя их взаимодействие (коэффициенты ϵ_{23}) приводило к его снижению.

По сумме результатов всех четырех экспериментов средняя удельная скорость весового роста гелидиума в 62% случаев прямо пропорциональна концентрации хлорофилла, но обратно пропорциональна уровню содержания фикоэритрина (в 64% случаев), содержанию каротиноидов (в 50% случаев) и только в 44% случаев " μ " обратно пропорционально содержанию агара, при этом в 36% случаев - прямо пропорционально, а в 18% - один из показателей (либо " μ ", либо "А") не меняется.

ВЫВОДЫ

1. Содержание хлорофилла-а в талломах гелидиума в зависимости от условий культивирования и содержания может меняться в пределах от 0,03 до 0,16% сухого веса и уровень его в 62% случаев прямо пропорционален величине средней скорости весового роста (μ).

2. Содержание фикоэритрина колеблется от 0,21 до 1,25% сухого веса, суммарных каротиноидов - от 550 до 1800 мкг на 1 г сухого вещества и уровень их в 64% и 50% случаев соответственно обратно пропорционален " μ ".

3. Содержание агара в гелидиуме колеблется от 16,3 до 43,4% сухого веса. Его максимальные величины были зафиксированы в образцах, собранных в октябре и культивированных в ноябре - декабре при температуре 21°C, концентрации азота 4,8 мг/л, фосфора 0,8 мг/л, солености 17‰, освещенности синим светом 8 клк, зеленым - 26 клк или белым - 16 клк. Версия о несовместимости функции его накопления с функцией роста биомассы подтверждается только в 44% случаев.

4. В талломах гелидиума, используемых после "отдыха" для интенсивного культивирования повторно, содержание фикоэритрина, хлорофилла и каротиноидов в большинстве случаев (и только в 40% случаев для агара) превышает таковое в талломах, используемых впервые.

5. Соленость 26‰ по сравнению с соленостью 34‰ более благоприятна для темпов роста гелидиума и накопления в нем фикоэритрина, хлорофилла и агара.

6. Вопрос о непосредственном влиянии освещенности на содержание агара, хлорофилла, фикоэритрина и каротиноидов требует дополнительных исследований.



Литература:

1. Дзидзюров В.Д., Жильцова А.В. Возможности сопряжений функций роста и накопления в них гелеобразующих полисахаридов у двух видов агарофитов - *Ahnfeltia tobuchinsis* и *Gracilaria lichenoides* // III Всесоюз. конф. по морск. биологии: Тез. докл. (Сев-ль, октябрь 1988). - Киев, 1988. - 4.2. - С. 202 - 203.
2. Беляев Б.Н., Нехорошев М.В. Перспективы получения фикоэритрина при культивировании *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenf. (RHODOPHYTA) - Альгология, 2002. - Т. 12. - №4. - С. 481 - 490.
3. Адлер Ю.П., Маркова Е.В., Грановский Ю.В. Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий. М., Наука. 1976. - 280 с.
4. Беляев Б.Н. Влияние спектрального состава света на рост черноморской красной водоросли *Gelidium latifolium* (GREV.) BORN. ET THUR. в интенсивной культуре. // Сб. матер. междунар. конф. «Соврем. Пробл. Экологии Азово-Черном. региона». - Керчь. 2005 г. - С. 4 - 10.
5. Копытов Ю.П. и др. Схема комплексного биохимического анализа гидробиотнов. // Мат. Конф. «Рац. использ. рес. моря - важн. вклад в реализ. прод. прогр.» / Деп. ВИНТИ N556 - 850 - 1485. - С. 227 - 231.
6. Кизиветтер И.В. и др. Производство агара при варке анфельции без добавления (беломорский агар). - Переработка морских и других промысловых водных растений. - М. Пищепром. 1967. - С. 100 - 103.
7. Красновский А.А. и др. Выделение фикоэритрина из красных водорослей, его спектральные и фотохимические свойства // Докл. Акад. Наук СССР. - 1952. - Т. LXXXII, №6. - С. 947 - 950.
8. Беляев Б.Н. и др. Влияние солености на продуктивность красной черноморской водоросли *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. Et Thur. - Рыбное хозяйство Украины, 2005. - N 6 (41). - С. 12 - 17.

B.N. BELYAYEV, N.M. BEREGOVAYA, L.B. DALYOKAYA
BIOCHEMICAL COMPOSITION OF RED BLACK SEA ALGAE GELIDIUM LATIFOLIUM (GREV.) BORN. ET THUR. (RHODOPHYTA).

The results of research of agar, total carotenoids, chlorophyll a and phycoerythrin accumulation during laboratory cultivation under different lighting, temperature, salinity, biogen concentration and initial planting density have been presented in this paper. It has been observed that agar concentration may change up to 43,4%, dry biomass and phycoerythrin concentration - up to 1,25%, chlorophyll - up to 0,16% and carotenoids - up to 1800 mg/g of dry biomass. During variation of *Gelidium* middle weight growth velocity in the 0,01 < μ > 0,07 interval the level of chlorophyll a is in the strait ratio with μ , but the level of total carotenoids and phycoerythrin is in converse dependent.

РАЗМЕРНО-ВОЗРАСТНОЙ КЛЮЧ ЧЕРНОМОРСКОГО ШПРОТА

*МЕЛЬНИКОВА Е.Б. - мл. научн. сотрудник,
Институт биологии южных морей
НАН Украины (г. Севастополь)*

Определение возраста отдельных особей и возрастного состава промысловых скоплений необходимы для определения величины рыбных запасов, исследовании динамики стад, линейного и весового роста, возрастной изменчивости параметров рыб и т.д.

В ОЗРАСТ рыб чаще всего определяют по отолитам, чешуе, ряду костей или плавниковым лучам [1, 2]. Однако эти методы характеризуются достаточно большой трудоемкостью, требующей нескольких подготовительных этапов, и, как следствие этого, характеризуются значительными затратами времени. Так определение возраста по отолитам включает следующие этапы: выделение, просветление, наклеивание отолита на стекло для обра-