

II МЕЖДУНАРОДНАЯ  
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

# БИОРАЗНООБРАЗИЕ И УСТОЙЧИВОЕ РАЗВИТИЕ

12-16 сентября 2012 года, г. Симферополь, Украина



## ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

Симферополь, 2012

8. М. М. Басова, Н.А. Темурьянц, С.А. Максимов, А.А. Антипенко “Спосіб мікрокількісного визначення ліпідів в тканинах гідробіонтів”. Заявка № 200904150, пріоритет 27.04.09, рішення о видаче патента от 24 сентября 2009 г.

УДК 639: 528.237

ПАРАМЕТРЫ БИОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА КАК ИНДИКАТОРЫ СОСТОЯНИЯ  
ЧЕРНОМОРСКОЙ ВОДОРОСЛИ *Gelidium latifolium* (Grev.) Born. et Thur. (Rhodophyta)

**Беляев Б. Н., Береговая Н. М., Далекая Л. Б.**

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины, г. Севастополь, Украина

Красная черноморская водоросль гелидиум в биотехнологии ценится в связи с большим содержанием и высоким качеством агара. Не менее ценными продуктами, которые можно получить из водоросли, являются  $\beta$ -каротин, составляющий большую часть суммарных каротиноидов и обладающий антиоксидантными свойствами, хлорофилл, очищающий организм от шлаков, токсинов, бактерий, а также R-фикоэритрин, применяемый в иммунной диагностике, микроскопии и цитометрии (7). В то же время указанные биохимические параметры могут являться индикаторами состояния самой водоросли. Нами исследовалось влияние абиотических факторов (температура, соленость), а также концентрации биогенов (фосфора и азота) на содержание пигментов и агара в условиях культивирования. Динамика концентрации агара (А), суммарных каротиноидов (Кр), хлорофилла-а (Cl-a) и R-фикоэритрина ( $\Phi_3$ ) сопоставлялась с изменениями параметра удельная скорость весового роста  $\mu$ .

Объектом исследования служила красная черноморская водоросль *Gelidium latifolium* (GREV.) Born. et Thur. (*Rhodophyta*), собранная с бетонных берегоукрепительных сооружений правого берега бухты Карантинной (Черное море, г. Севастополь).

Исследования по культивированию проводили на лабораторной установке (2). 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 повторами (1), в которых температура, освещенность, плотность посадки макрофита и концентрация биогенов могут быть заданы на двух уровнях. Температуру варьировали от 15 до 25 °С. Освещенность при использовании люминесцентных ламп дневного (ЛД) и белого (ЛБ) света поддерживали на уровне 20 кЛк в режиме день – ночь в соотношении 16:8. Использовали питательную среду 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 (340  $\mu$ M) азота и 0,8 мг (26  $\mu$ M) фосфора до 8,54 мг (610  $\mu$ M) азота и 1,74 мг (56  $\mu$ M) фосфора на литр. Сырую

биомассу (обычно раз в неделю) определяли на аптекарских весах с точностью до 10 мг. Среднюю удельную скорость весового роста  $\mu$  определяли по формуле (3). Суммарные каротиноиды и хлорофилл-а экстрагировали из одной навески хлороформ-этанольной смесью (2:1) и определяли по методике, разработанной в ИнБИОМ (6), выделение агара осуществляли путем щелочной (5), а фикоэритрина – водной экстракции (4).

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. Каждая секция барбатировалась сжатым воздухом. Освещенность не превышала 0,3 кЛк; температуру, которая в зависимости от сезона и погодных условий менялась от 13 °С до 25 °С, не регулировали.

Усредненные результаты двух серий измерений проб из эксперимента № 1, в котором температура поддерживалась на уровне 25-26 °С, освещенность – на уровне 20-22 кЛк, минеральное питание – до 4,8 мг азота и 0,8 мг фосфора на 1 л питательной среды и задавалось 4 уровня солености (9, 18, 26 и 34 ‰), показали, что при солености 35 ‰ содержание агара в 1,3-1,4 раза меньше, чем при уровнях солености 9-26 ‰, а средняя удельная скорость весового роста  $\mu$  в 1,3-1,48 раз выше. Таким образом, влияние солености на содержание агара не содержит прямого действия – оно, вероятно, опосредовано через скорость наращивания биомассы. Содержание суммарных каротиноидов оказалось практически постоянным при всех уровнях солености, а содержание хлорофилла – пропорционально  $\mu$ .

В эксперименте № 2 при исследовании скорости потребления биогенов поддерживали температуру  $20 \pm 0,5$  °С, освещенность 23-25 кЛк, которая была непрерывной первые 106 часов. В объемах 1 – 4 задавали соленость 26 ‰, а в объемах 5 – 8-34 ‰. В объемах 3, 4, 7 и 8 задавали концентрацию биогенов на уровне 6,16 мг (440  $\mu$ M) азота (N) и 1,24 мг (40  $\mu$ M) фосфора (P) на литр среды, а в объемах 1, 2, 5 и 6 – соответственно 8,54 мг (610  $\mu$ M) и 1,74 (56  $\mu$ M).

В объемах 1, 3, 5 и 7 начальная плотность посадки гелидиума ( $W_0$ ) составляла 2 г/л ( $3\text{г/дм}^2$ ), а в объемах 2, 4, 6 и 8-4 г/л ( $6\text{ г/дм}^2$ ). Были отобраны 2 серии проб (12.09 и 20.09.05), результаты измерения которых сведены в таблицу.

Таблица. Влияние температуры, солености, плотности посадки и концентрации азота и фосфора на биохимические показатели гелидиума

| №<br>Объема | Агар, % |       | Фикоэритрин, % |             | Каротиноиды, мкг/г |           | Хлорофилл-а, % |               | $\mu$  |       |
|-------------|---------|-------|----------------|-------------|--------------------|-----------|----------------|---------------|--------|-------|
|             | 12.09   | 20.09 | 12.09          | 20.09       | 12.09              | 20.09     | 12.09          | 20.09         | 12.09  | 20.09 |
| 1           | 25↑     | 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↑   | 0,48 ± 0,07 | 1145 ± 150↓        | 837 ± 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 ходе эксперимента № 2 было установлено, что в пределах диапазона заданных условий при средней удельной скорости весового роста  $0,063-0,073\text{ сутки}^{-1}$  средняя удельная скорость потребления азота может колебаться от 37 до 71 мкг/г час, а фосфора - от 6,4 до 9,6 мкг/г·час. По результатам эксперимента были построены две серии линейных моделей вида  $y = v_0 + v_1x_1 + v_2x_2 + v_3x_3 + v_{12}x_1 \cdot x_2 + v_{13}x_1 \cdot x_3 + v_{23}x_2 \cdot x_3 + v_{123}x_1 \cdot x_2 \cdot x_3$ , определяющих прямое влияние заданных факторов среды – S ‰,  $C_{NP}$ ,  $W_0$  (коэффициенты  $v_1, v_2, v_3$ ), их двойных и тройного взаимодействия на среднюю удельную скорость весового роста, содержание в гелидиуме агара и пигментов. Условия, предваряющие отборы проб в двух сериях (12 и 20.09.05) 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 – 8,6-9,7г (5,7-6,5 г/л). Поэтому и коэффициенты моделей в двух сериях должны были отличаться.

Анализ моделей не подтвердил жесткой обратной зависимости концентрации агара от величины  $\mu$ . Обратил на себя внимание тот факт, что увеличение концентрации биогенов влияло отрицательно и с одинаковой силой на обе величины и поэтому не могло быть причиной разнонаправленности градиентов изменения  $\mu$  и А. Увеличение биомассы (значение W в матрице планирования = +1) приводило к уменьшению  $\mu_1$  и  $\mu_2$ , очевидно, исключительно за счет понижения освещенности, т.к. лимитирования по питанию не было. При этом содержание агара возрастало и в первой, и во второй серии. Можно было констатировать, что и соленость действует

на  $\mu$  и содержание агара однозначно. Правда, воздействие на  $A_2$  было в 1,5 раза меньше, чем на  $\mu_2$ . Тем не менее, фактор солености также не мог быть причиной разнонаправленности градиентов величин  $\mu_2$  и  $A_2$ .

Было выявлено, что 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 опосредованное влияние через величину  $\mu$ : понижение освещенности приводит к снижению скорости роста, что способствует увеличению накопления агара. Второй – понижение освещенности непосредственно стимулирует накопление агара.

Данные по накоплению фикоэритрина вполне соответствовали данным опытов с грацилярией (4). Наблюдалось явное несопряжение процессов увеличения темпов роста биомассы и накопления фикоэритрина. При этом нижние уровни солености и концентрации биогенов были явно более благоприятны для величины  $\Phi_3$ , как, впрочем, и для величины  $\mu$ . Понижение освещенности способствовало накоплению фикоэритрина. При исследовании содержания суммарных каротиноидов было отмечено, что их содержание обратно пропорционально величинам  $\mu$  при значительных различиях и тех, и других:  $K_1/K_2 = 1,72$ , а  $\mu_2/\mu_1 = 1,56$ .

Среднее содержание хлорофилла в сериях было прямо пропорционально увеличению удельных скоростей роста. При этом  $Cl_2/Cl_1 = 1,27$ . В шести из восьми вариантов градиенты изменения содержания хлорофилла были

противоположны градиентам изменения содержания каротиноидов, а последние в 6 из 8 вариантов однонаправлены с градиентами содержания фикоэритрина (таблица). На содержание хлорофилла, так же, как и на величину, отрицательно действовало повышение солености, а повышение концентрации биогенов и самозатемнение гелидиума приводило к росту его содержания.

Таким образом, результаты исследований позволяют сделать следующие выводы:

- концентрация хлорофилла-*a* в талломах гелидиума в зависимости от условий культивирования может меняться в пределах от 0,03 до 0,16 % сухого веса и уровень ее прямо пропорционален величине средней удельной скорости весового роста ( $\mu$ );

- содержание фикоэритрина колеблется от 0,21 до 1,25 % сухого веса, а общих каротиноидов – от 550 до 1800 мкг на 1 г сухого вещества и уровень их обратно пропорционален  $\mu$ ;

- увеличение солености питательной среды, основанной на фильтрованной черноморской

воде, до 26 % не только повышает эффективность наращивания биомассы гелидиума за счет снижения прессы эпифитов, но и может быть рекомендовано в качестве элемента биотехнологии, повышающего содержание в ней фикоэритрина и каротиноидов;

- содержание агара, как правило, обратно пропорционально  $\mu$  и колеблется от 16,3 до 43,4 % сухого веса. Максимальные его величины были зафиксированы в талломах гелидиума, собранного в октябре и культивированного в ноябре-декабре месяце при температуре 23-25 °С, концентрации азота 4,8 мг/л, фосфора 0,8 мг/л;

- как правило, в талломах гелидиума, используемых после «отдыха» повторно для интенсивного культивирования, содержание фикоэритрина, хлорофилла и каротиноидов превышает таковое в талломах, используемых впервые;

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

#### Список источников

1. Адлер Ю. П. Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий / Ю. П. Адлер, Е. В. Маркова, Ю. В. Грановский. - М.: Наука. 1976. - 280с.
2. Беляев Б.Н. Техническое обеспечение культивирования макроводорослей / Б. Н. Беляев // Рыбное хозяйство Украины. - 2001. - №5. - С.21-24.
3. Беляев Б. Н. Влияние солености на продуктивность красной черноморской водоросли *Gelidium latifolium* (Grev.) Born et Thur / Б. Н. Беляев, Н. М. Береговая, Л. Б. Далекая // Рыбное хозяйство. - 2005. - № 6 (41). – С. 12-17.
4. Беляев Б.Н. Перспективы получения фикоэритрина при культивировании *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Rarenf. (*RHODOPHYTA*) / Б. Н. Беляев, М. В. Нехорошев // Альгология. - 2002. Т.12, № 4. - С.481-490.
5. Кизиветтер И. В. Производство агара при варке анфельции без добавления (беломорский агар) / И. В. Кизиветтер, В. С. Грюнер, В. А. Евтушенко- // Переработка морских и других промысловых водных растений. - М., 1967. - С. 100-103.
6. Копытов Ю. П. Схема комплексного биохимического анализа гидробиотнов / Ю. П. Копытов, И. А. Дивавин, И. М. Цымбал // Рациональное использование ресурсов моря - важный вклад в реализацию производственной программы: материалы конф. / АН УССР. Ин - т биологии южных морей им. А. О. Ковалевского. - Севастополь, 1985. - Ч. 2 - С. 227-231. - Деп. в ВИНТИ 16.04.85, № 2556 - 85.
7. Стадничук И. Н. Фикобиллипротеины / И. Н. Стадничук // Итоги науки и техники / ВИНТИ АН СССР. Сер. Биол. химия. - М., 1990. - С. 87-98.

УДК 712.25 (58006)

### СТАРИННЫЕ ПАРКИ МОЛДОВЫ – СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

**Букацел В. А.**

Ботанический сад (Институт) АН Молдовы, г. Кишинев, Республика Молдова

Молдова – край живописной и своеобразной природы, где сохранилось немало памятников архитектуры, в том числе уникальных памятников садово-паркового искусства, которые отражают материальную жизнь и эстетические взгляды прошлых веков, обогащают нас знаниями о природе, национальной культуре народа.

Садово-парковое искусство Молдовы имеет

многовековую историю – от утилитарных садов и виноградников в феодальной Молдове, монастырских садов XVI-XVII вв., до общественных городских садов и помещичьих усадебных парков XIX-XX вв. Общее количество зафиксированных на территории Молдовы объектов садово-паркового искусства составляет около 50 единиц [2, 3], из них третья часть включена в перечень памятников взятых под государственную охрану.