

УДК (581.524.13:582.232):621.321

Н. И. Кирпенко

### ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОВЛИЯНИЯ ВОДОРОСЛЕЙ В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ОСВЕЩЕННОСТИ

При разных уровнях освещенности происходит изменение интенсивности не только ростовых процессов водорослей, но также степени и характера их взаимодействия. При освещенности 5 клк (в изученном диапазоне 0,5—25 клк) при совместном выращивании двух видов водорослей наблюдался наиболее выраженный и стабильный отрицательный аллелопатический эффект. Увеличение и снижение уровня освещенности сопровождалось усилением либо ослаблением негативного влияния одних водорослей на другие.

**Ключевые слова:** водоросли, освещенность, аллелопатическое взаимодействие.

Как известно, свет является одним из наиболее значимых факторов для функционирования водорослей, от его интенсивности зависят ключевые процессы жизнедеятельности автотрофных клеток. Однако было замечено, что в монокультурах водоросли более устойчивы к изменению уровней абiotических факторов (и освещенности в том числе), чем в двухвидовых сообществах [11]. В результате различной чувствительности видов к воздействию фактору, в данном случае освещенности, будет различаться также их метаболическая активность в процессе роста. Это, в свою очередь, очевидно, может привести к изменениям характера и степени аллелопатического взаимодействия представителей альгофлоры. В связи с этим целью настоящей работы было изучение особенностей взаимодействия водорослей в условиях различной интенсивности освещения.

**Материал и методика исследований.** Исследования проводили на культурах некоторых зеленых и синезеленых водорослей из коллекции Института гидробиологии НАН Украины. Водоросли *Microcystis aeruginosa* Kütz. emend Elenk. HPDP-6, *Chlorella vulgaris* Beijer. HPDP-119, *Desmodesmus armatus* (Chodat) E. Hegew. HPDP-110, *Selenastrum gracile* Reinsch HPDP-115 выращивали в экстенсивной культуре на среде Фитцджеральда в модификации Цендера и Горэма при температуре 24—28°C и освещении лампами ДС в течение 16 ч в сутки [8].

© Кирпенко Н. И., 2009

Культивирование проводили при разных режимах освещенности: 0,5, 5 и 25 клк. Первый, наиболее низкий уровень — это слабый рассеянный свет, очевидно недостаточный для нормального протекания процесса фотосинтеза водорослей. Второй — 5 клк — освещенность, близкая к той, при которой обычно растут культуры в нашей коллекции. Третий — 25 клк — высокий уровень, равный примерно 25% от полной солнечной освещенности.

Водоросли выращивали в монокультурах и попарно, при этом монокультуры каждого из видов служили контролем. Смешанные культуры готовили путем посева на свежую питательную среду монокультур водорослей примерно в равном соотношении по количеству клеток. Поскольку при изучении влияния освещенности большое значение имеет плотность суспензии водорослей, плотность смешанных культур была близка к таковой монови-довых популяций. В опытах использовали водоросли на логарифмической стадии роста.

Учет интенсивности роста водорослей проводили методом прямого счета клеток в камере Горяева при помощи микроскопа «Люмам». Для сравнения интенсивности размножения водорослей рассчитывали их удельную скорость роста, которая характеризует количество делений клеток в единицу времени [14]:

$$\eta = \frac{N_i - N_0}{N_0 \cdot \Delta t},$$

где  $N_0$  и  $N_i$  — количество клеток в начальный и конечный период времени в тыс/см<sup>3</sup>,  $t$  — длительность выращивания в сутках. Рассчитывали также коэффициент прироста численности, равный отношению конечного и исходного количества клеток  $k = (N_i/N_0)$  [2]. Интенсивность угнетения роста водорослей в смешанной культуре вычисляли по формуле [15]:

$$y = \left( 100 - \frac{N_{\text{оп}}}{N_{\text{к}}} \cdot 100 \right) \%,$$

где  $N_{\text{к}}$  и  $N_{\text{оп}}$  — количество клеток в контрольной и опытной культуре в определенный момент времени. Интенсивность фотосинтеза определяли кислородным методом в скляночной модификации [5, 8].

### Результаты исследований и их обсуждение

Считается, что в лабораторных условиях хлорелла может нормально развиваться при освещенности в пределах 0,7—8 клк [13], а лимитирование светом наблюдается, очевидно, при очень высокой плотности культуры (около 1000 млн. кл/см<sup>3</sup>) [6]. Как свидетельствуют полученные в наших опытах результаты, для монокультур зеленых водорослей *Chlorella vulgaris* и *Desmodesmus armatus* освещенность 0,5 клк оказалась недостаточной для нормального протекания ростовых процессов. *Ch. vulgaris* в монокультуре практически не росла, *D. armatus* оказался менее чувствительным к недостатку света, однако и его численность за 2 недели выращивания увеличилась лишь в 2,7 раза (табл. 1).

**1. Коэффициенты прироста численности ( $k$ ) *Chlorella vulgaris* и *Desmodesmus armatus* при раздельном и смешанном культивировании в условиях различной освещенности за 15 сут выращивания**

Режимы освещенности, клк	<i>Chlorella vulgaris</i>		<i>Desmodesmus armatus</i>	
	в монокультуре	в смешанной культуре	в монокультуре	в смешанной культуре
0,5	0,98	0,67	2,7	0,68
5	6,96	2,68	6,89	4,18
25	3,76	11,0	10,07	21,39

При увеличении освещенности до 5 клк рост водорослей значительно усилился, численность обоих видов в монокультуре за 15 суток возросла примерно в 7 раз. Их удельные скорости роста, рассчитанные за весь период наблюдений, были одинаковы (0,39—0,40 сут<sup>-1</sup>), хотя фаза экспоненциального роста у *Ch. vulgaris* началась позже, чем у *D. armatus*.

Дальнейшее повышение освещенности до 25 клк сопровождалось усилением роста только монокультуры *D. armatus*, ее численность увеличилась более чем в 10 раз, средняя величина удельной скорости роста возросла до 0,6 сут<sup>-1</sup>. Удельная скорость роста *Ch. vulgaris* снизилась по сравнению с таковой при 5 клк и составила 0,18 сут<sup>-1</sup> (при 5 клк — 0,40). В начальные сроки экспозиции отмечено торможение роста обоих видов водорослей, что свидетельствует об избыточности такой освещенности, особенно в начальный период, при невысокой плотности культур.

Различия в реакции водорослей на высокий уровень освещенности могут быть обусловлены их видовыми особенностями. Так, для *Synechocystis salina* Wisl. оптимальной является освещенность 3—5 клк [3], для *Spirulina platensis* (Gom.) Geitl. — 10—12 клк [3], *Dunaliella salina* Teod. — 14 клк [17], для диатомовых водорослей — 12—15 клк [10, 12], а для ряда представителей морской альгофлоры — 10—20 клк [12]. Уровень оптимальной освещенности для разных водорослей может различаться в 2—3 раза и больше [1]. Различия могут наблюдаться даже для разных штаммов одного вида. Так, если для *Ch. vulgaris* штамм ЛАРГ-3 оптимальная освещенность составляет 8—10 клк, то для штамма Gromov 1962/30 CALU 157 оптимальными были уровни 18÷30 клк, а максимальный прирост биомассы отмечался при 24 клк [4].

Ранее нами было показано, что между *Ch. vulgaris* и *D. armatus* существует аллелопатическое взаимодействие, которое проявляется в изменении интенсивности роста и функционирования каждой из водорослей в условиях совместного выращивания [5]. Подобное явление отмечено и в данном опыте. Однако характер изменения ростовых характеристик водорослей различался при разных уровнях освещенности.

При освещенности 0,5 клк угнетение роста в смешанной культуре отмечено для обоих видов водорослей. Но в то время как *Ch. vulgaris* при таком режиме освещенности и в монокультуре росла очень слабо, для *D. armatus*

снижение показателей роста наблюдалось только в смешанной культуре, причем более сильное, чем для *Ch. vulgaris* (угнетение его роста составило 75% по сравнению с 32% для хлореллы).

При повышении освещенности до 5 клк, несмотря на то, что интенсивность роста водорослей увеличилась, в смешанной культуре отмечено значительное угнетение ростовых процессов обоих видов по сравнению с их монокультурами. Удельная скорость роста *Ch. vulgaris* составила  $0,11 \text{ сут}^{-1}$  (в монокультуре  $0,40$ ), *D. armatus* —  $0,21 \text{ сут}^{-1}$  (в монокультуре  $0,39$ ). Угнетение роста *Ch. vulgaris* превысило 60%, рост *D. armatus* в смешанной культуре замедлился почти на 40% по сравнению с монокультурой.

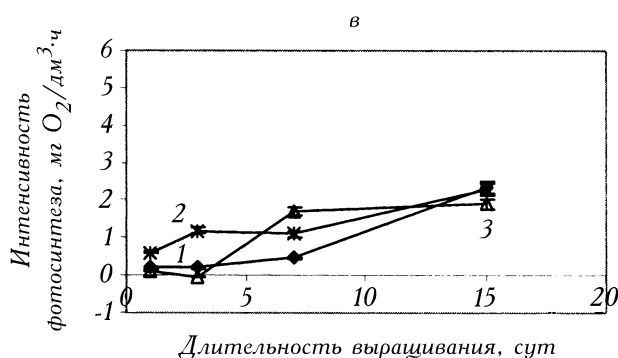
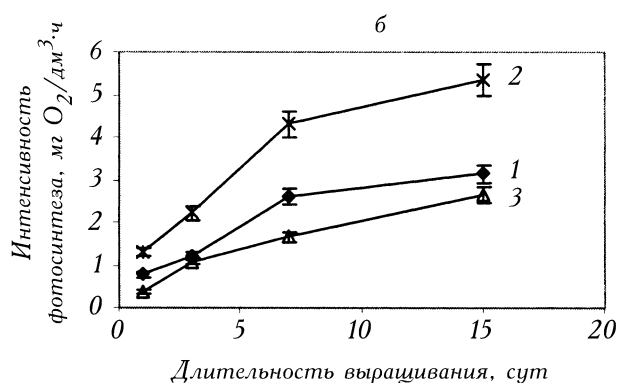
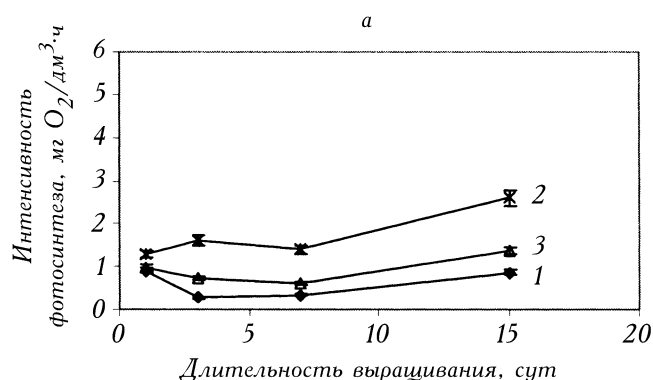
Дальнейшее повышение интенсивности освещения до 25 клк сопровождалось усилением интенсивности роста обеих водорослей в смешанной культуре, причем в значительно большей степени, чем в монокультурах. Численность *Ch. vulgaris* уже с третьих суток несколько превышала таковую в ее монокультуре. Удельная скорость роста *Ch. vulgaris* в смешанной культуре в среднем за 15 суток возросла до  $0,67$  по сравнению с  $0,18 \text{ сут}^{-1}$  в монокультуре. Для *D. armatus* этот показатель в среднем за период наблюдений составил  $1,36 \text{ сут}^{-1}$  (в монокультуре  $0,6 \text{ сут}^{-1}$ ), что свидетельствует о значительной стимуляции роста водорослей в этих условиях. Таким образом, при высокой интенсивности света аллелопатическое взаимовлияние водорослей проявилось не в угнетении, а в стимуляции их роста.

Анализ изменений интенсивности фотосинтеза показывает, что при низком уровне освещенности все культуры характеризовались слабой фотосинтетической активностью, при этом минимальные её величины зарегистрированы для *Ch. vulgaris*, более высокие — для *D. armatus*, а показатели фотосинтеза смешанной культуры занимали промежуточное положение (рис. 1, а).

Повышение интенсивности освещения до 5 клк сопровождалось значительным усилением фотосинтеза монокультур, особенно *D. armatus*. В то же время интенсивность фотосинтеза смешанной культуры в таком режиме освещенности характеризовалась наиболее низкими значениями в течение всего периода наблюдений, что свидетельствует об угнетении этого процесса вследствие аллелопатического взаимодействия водорослей (см. рис. 1, б).

При 25 клк интенсивность фотосинтеза исследованных культур была сравнительно ниже, чем при других уровнях освещенности, особенно в начальные сроки выращивания, очевидно, в результате светового ингибирования. Как было ранее установлено, при избытке освещенности может происходить угнетение жизнедеятельности водорослей. Однако для разных водорослей максимум этого показателя может колебаться в широких пределах. Например, фотоингибирование спирулины наблюдается при 60 клк [16], а в некоторых условиях (при интенсивном культивировании) и при 100—400 клк не происходит угнетение водорослей [7].

Следует отметить, что, несмотря на то, что в наших опытах при 25 клк суммарная численность смешанной культуры уже с третьих суток превыша-



1. Интенсивность фотосинтеза моновидовых и смешанных культур *Chlorella vulgaris* и *Desmodesmus armatus* при различных уровнях освещенности: а — 0,5 клк; б — 5 клк; в — 25 клк: 1 — монокультура *Ch. vulgaris*; 2 — монокультура *D. armatus*; 3 — смешанная культура.

ла численность водорослей в остальных вариантах, фотосинтез смешанной культуры вначале был минимальным среди всех культур, и лишь через неделю выращивания его показатели несколько превысили таковые монокультур. Для морских водорослей ингибирование фотосинтеза вследствие их аллелопатического взаимодействия рассматривается как один из механизмов конкуренции за свет, биогенные вещества и, в конечном счете, за доминирование [9]. Наблюдаемое торможение фотосинтеза на фоне интенсивного роста водорослей дает основание предположить, что вначале аллелопатические взаимоотношения водорослей развивались по антагонистическому типу, однако высокая интенсивность света инициировала выделение большого количества веществ, стимулирующих процессы роста, что и проявилось, в конечном счете, в существенном усилении размножения водорослей.

Полученные результаты, казалось бы, позволяют сделать вывод об ослаблении негативного аллелопатического эффекта при увеличении освещенности. Однако для двух других водорослей — синезеленой *M. aeruginosa* и зеленой *S. gracile*, при максимальной освещенности 25 клк в смешанной культуре не наблюдалась стимуляция роста

**2. Коэффициенты прироста численности (*k*) *Microcystis aeruginosa* и *Selenastrum gracile* при раздельном и смешанном культивировании в течение 15 суток выращивания в условиях различной освещенности**

Режимы освещенности, клк	<i>Microcystis aeruginosa</i>		<i>Selenastrum gracile</i>	
	в монокультуре	в смешанной культуре	в монокультуре	в смешанной культуре
0,5	0,86	0,66	0,75	0,84
5	4,48	1,44	2,32	1,51
25	0,91	0,89	10,57	6,13

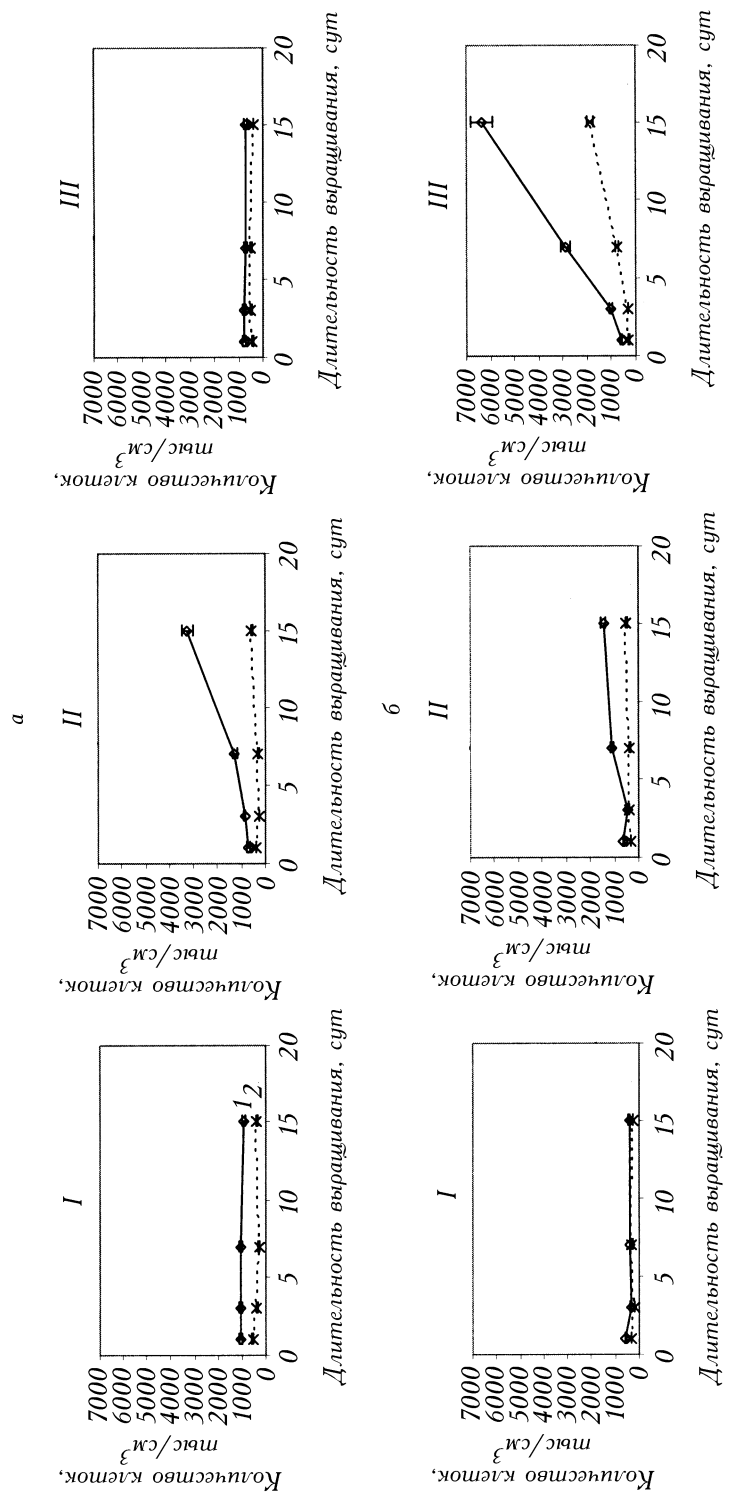
ни одного вида. Отмечено лишь значительное ослабление отрицательного влияния *S. gracile* на *M. aeruginosa* (табл. 2).

Если при 0,5 клк угнетение роста *M. aeruginosa* составляло 23%, при 5 клк 68%, то при 25 клк — всего 3%. С другой стороны, для *M. aeruginosa* и в монокультуре освещенность как 0,5, так и 25 клк оказалась неоптимальной. В то же время для *S. gracile* при освещенности 25 клк интенсивность роста в монокультуре была максимальной, однако в смешанной культуре степень ингибирования его роста клетками *M. aeruginosa* (несмотря на низкую функциональную активность последнего) усилилась до 42% (при 5 клк — 35%). Напротив, при минимальной освещенности в смешанной культуре с *M. aeruginosa* отмечена стимуляция роста *S. gracile* по сравнению с его монокультурой. Следовательно, для *S. gracile* повышение уровня освещенности сопровождалось увеличением степени угнетения под влиянием вида-партнера, в отличие от предыдущих двух водорослей.

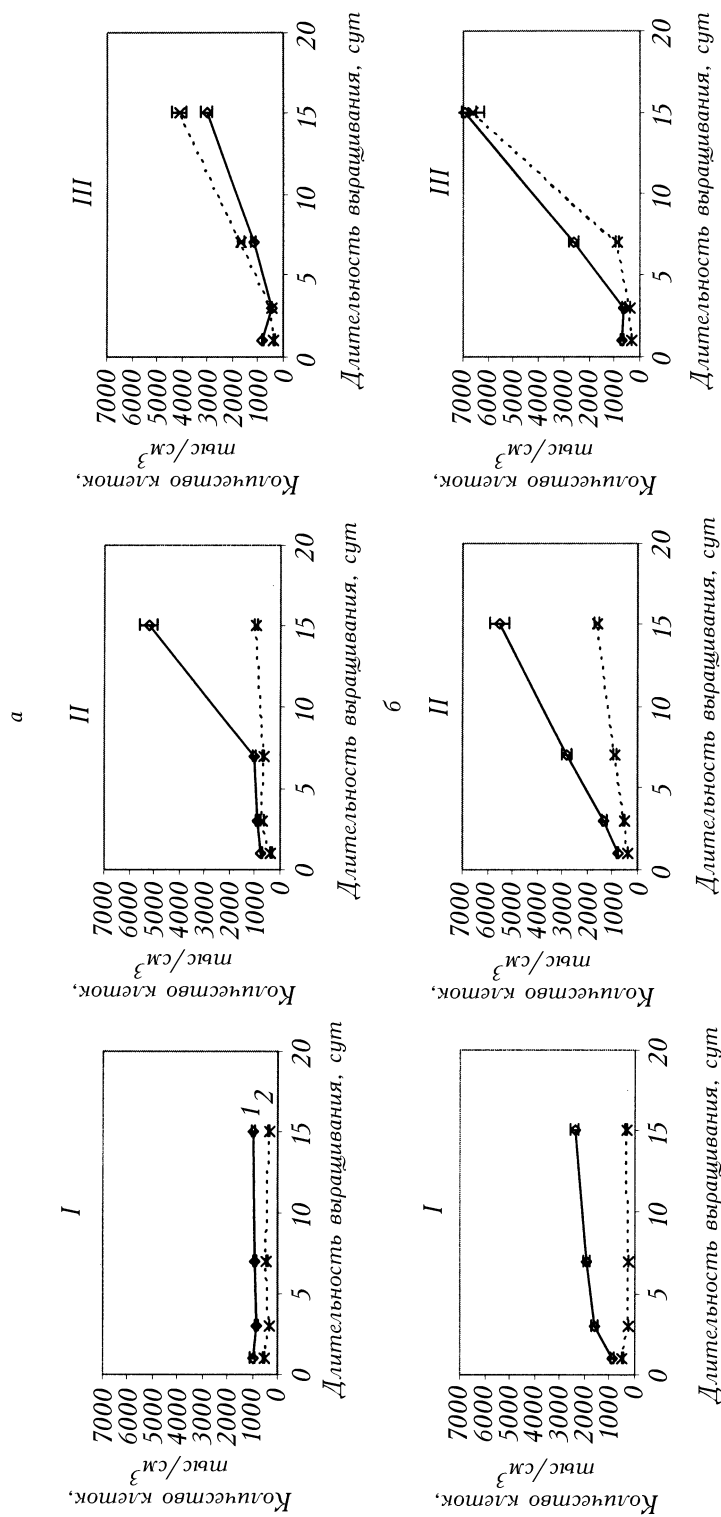
Таким образом, для промежуточного уровня освещенности 5 клк характерно наличие стабильного негативного взаимовлияния видов, которое можно рассматривать как результат аллелопатического взаимодействия водорослей, а увеличение или снижение освещенности сопровождается изменениями его силы и характера.

Если сравнить графики изменения численности клеток во всех исследованных моновидовых и смешанных культурах, то при освещенности 5 клк угнетение роста водорослей прослеживается во всех вариантах, различия касаются лишь его величины и времени проявления (рис. 2, 3). При минимальной в исследованном диапазоне освещенности 0,5 клк наиболее существенное замедление роста в результате аллелопатического влияния другого вида отмечено для *Desmodesmus armatus* (табл. 3). При максимальной освещенности 25 клк значительный отрицательный аллелопатический эффект отмечен только для *S. gracile* (см. табл.3).

Сравнение фотосинтетической активности исследованных смешанных культур водорослей при различной освещенности показывает, что показатели фотосинтеза в большинстве случаев выше для водорослей, выращиваемых при 5 клк, как по средним, так и по максимальным величинам (табл. 4).



2. Изменение численности *Microcystis aeruginosa* (а) и *Selenastrum gracile* (б) при выращивании в моно- (I) и смешанной (II) культурах при освещенности 0,5 клк (I), 5 клк (II) и 25 клк (III).



3. Изменение численности *Chlorocella vulgaris* (а) и *Desmodesmus armatus* (б) при выращивании в моно- (I) и смешанной (2) культурах при освещенности 0,5 клк (I), 5 клк (II) и 25 клк (III).



**3. Интенсивность угнетения роста водорослей (%) в смешанных культурах при разных уровнях освещенности**

Освещенность, клк	<i>Chlorella vulgaris</i> + <i>Desmodesmus armatus</i>		<i>Microcystis aeruginosa</i> + <i>Selenastrum gracile</i>	
	<i>Ch. vulgaris</i>	<i>D. armatus</i>	<i>M. aeruginosa</i>	<i>S. gracile</i>
0,5	32	75	23	+ 13
5	62	39	68	35
25	+ 190	+ 112	3	42

Примечание. «+» — усиление роста водорослей.

**4. Интенсивность фотосинтеза (мг O<sub>2</sub>/дм<sup>3</sup>·ч) смешанных культур *Microcystis aeruginosa* + *Selenastrum gracile* и *Chlorella vulgaris* + *Desmodesmus armatus* при разных уровнях освещенности**

Режимы освещенности, клк	<i>Microcystis aeruginosa</i> + <i>Selenastrum gracile</i>	<i>Chlorella vulgaris</i> + <i>Desmodesmus armatus</i>
0,5	0 – 1,88	0,62 – 1,68
	0,66 ± 0,43	0,96 ± 0,20
5	0,09 – 2,70	0,37 – 2,74
	1,38 ± 0,62	1,68 ± 0,48
25	0,37 – 1,66	0 – 1,90
	1,21 ± 0,24	0,93 ± 0,51

Примечание. Над чертой — пределы колебаний показателя, под чертой — средняя величина за весь период наблюдений.

Повышение и снижение уровня освещенности сопровождается в целом ослаблением фотосинтетической активности водорослей в условиях их совместного культивирования, что, очевидно, и приводит к изменению аллелопатической активности культур.

**Заключение**

Аллелопатическое взаимовлияние водорослей разных видов зависит не только от их биологических особенностей, но и от условий выращивания. В частности, режим освещения обуславливает интенсивность как роста и функционирования водорослей, так и их реакции на присутствие другого вида.

При среднем уровне освещенности 5 клк (в диапазоне 0,5—25 клк) для исследованных видов водорослей наблюдается стабильный отрицательный аллелопатический эффект, выражающийся в снижении скорости их роста в смешанных культурах. Повышение или уменьшение освещенности сопровождается изменением силы и характера аллелопатического взаимодействия видов, которое может выражаться как в усилении степени угнетения, так и в стимуляции роста водорослей.

Если учесть, что при крайних уровнях освещенности фотосинтетическая активность водорослей снижена, можно предположить, что вследствие замедления метаболизма ослабляется также выделение веществ, ответственных за аллелопатическое угнетение другого вида. С другой стороны, наложение двух неблагоприятных факторов может усиливать действие каждого из них и приводить к увеличению негативного влияния. Очевидно, рассмотренное выше усиление аллелопатического угнетения роста *D. armatus* и *S. gracile* при уровнях освещенности, отличающихся от среднего, является результатом аддитивного действия негативных факторов — экстремального уровня освещенности и аллелопатического влияния метаболитов другой водоросли.

\*\*

*Залежно від рівня освітленості змінюється ступінь і характер алелопатичної взаємодії водоростей. При освітленості 5 клк ріст досліджених видів у змішаних культурах (*Microcystis aeruginosa* Kütz. emend Elenk. + *Selenastrum gracile* Reinsch., *Chlorella vulgaris* Beijer. + *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew.) пригнічено на 39—68%. При 0,5 клк пригнічення росту *D. armatus* у змішаній культурі з *Ch. vulgaris* посилюється до 75%, проте відбувається стимуляція росту *S. gracile* при спільному вирощуванні з *M. aeruginosa*. При освітленості 25 клк відмічено стимуляцію росту *D. armatus* і *Ch. vulgaris* у їх спільній культурі та посилення пригнічення росту *S. gracile* у змішаній культурі з *M. aeruginosa*.*

\*\*

*Depending on the lighting conditions the degree and character of allelopathic interactions between the algae changes. At light exposure 5 klk the growth of the investigated species in the mixed cultures (*Microcystis aeruginosa* Kütz. emend Elenk. + *Selenastrum gracile* Reinsch., *Chlorella vulgaris* Beijer. + *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew.) was inhibited by 39—68%. In light 0,5 klk the oppression of *D. armatus* growth in the mixed culture with *Ch. vulgaris* is enhanced up to 75% (in comparison with growth in monoculture), but there is a stimulation of growth *S. gracile* in the mixed culture with *M. aeruginosa*. At light exposure 25 klk the stimulation of *D. armatus* and *Ch. vulgaris* growth in their mixed culture and strengthening of growth oppression of *S. gracile* in the mixed culture with *M. aeruginosa* is observed.*

\*\*

1. Беянин В.Н., Тренкеншу Р.П. Управляемое культивирование микроводорослей как способ оценки продукционных возможностей массовой культуры // Культивирование и применение микроводорослей в народном хозяйстве : Материалы республ. совещ., Ташкент, 5—7 окт. 1977. — Ташкент: ФАН, 1977. — С. 17—19.
2. Владимирова М.Г., Семененко В.Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. — М.: Изд-во АН СССР, 1962. — 59 с.
3. Диб Дж. Морфологические и биологические особенности перспективных штаммов микроводорослей в интенсивных культурах: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Кишинев, 1991. — 23 с.
4. Игрисова Н.Х. Оптимизация условий культивирования *Chlorella vulgaris* (Beijer.) str. Gromov 1962/30 CALU 157 для рыбохозяйственных целей в соответствии с экологической природой штамма: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Л., 1986. — 22 с.

5. Кирпенко Н.И. Рост и функционирование некоторых планктонных водорослей в условиях смешанного культивирования // Гидробиол. журн. — 2005. — Т. 41, № 3. — С. 58—71.
6. Клячко-Гурвич Г.А. Направленный биосинтез углеводов у хлореллы // Физиология растений. — 1964. — Т. 11, № 6. — С. 978—987.
7. Ковров Б.Г., Буганов А.С. О конструировании лабораторных культиваторов для выращивания хлореллы в интенсивном режиме // Управляемое культивирование микроводорослей. — М.: Наука, 1964. — С. 12—23.
8. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. — Киев: Наук. думка, 1975. — 256 с.
9. Набивайло Ю.В., Туплянов Э.А. Конкурентные взаимоотношения водорослей в природе и в культуре // Биология моря. — 2006. — Т. 32, № 5. — С. 315—325.
10. Паньков С.Л., Спекторова Л.В. Интенсивное культивирование диатомовых водорослей // Рыб. хоз-во. — 1989. — № 2. — С. 40—43.
11. Саут Р., Уиттик А. Основы альгологии: Пер. с англ. — М.: Мир, 1990. — 597 с.
12. Спекторова Л.В., Паньков С.Л., Панькова С.А. Производство микроводорослей и коловраток для марихозяйств // Рыб. хоз-во. — 1988. — № 9. — С. 71—74.
13. Шубернецкий И.В., Борщ З.Т. Культивирование хлореллы в различных температурных и световых условиях // Биологические основы культивирования водных организмов. — Кишинев: Штиинца, 1983. — С. 26—35.
14. Экологическая физиология морских планктонных водорослей (в условиях культур) / Под общ ред. К. М. Хайлова. — Киев: Наук. думка, 1971. — 207 с.
15. Biological test method: growth inhibition test using the freshwater alga *Selenastrum capricornutum* // Environment Canada, Environmental Protection Series, Report EPSI/RN/25, November, 1992. — 13 p.
16. Vonsak H. Strain selection of *Spirulina* suitable for mass productions // Hydrobiologia. — 1987. — Vol. 151—152. — P. 75—77.
17. Pesheva J.S. Further investigations on growth optimization of *Dunaliella salina* V-63 // Докл. Болгар. АН. — 1988. — Т. 41, № 12. — С. 105—108.