



УДК 582.272:551.464.6 (262.5)

В. Н. Поповичев, н. с., **В. Н. Егоров**, чл.-корр. НАН Украины, зав. отделом

Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского Национальной академии наук Украины,
Севастополь, Украина

КИНЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ФОСФОРНОГО ОБМЕНА ЧЕРНОМОРСКОЙ БУРОЙ ВОДОРОСЛИ *CYSTOSEIRA BARBATA*

Представлены данные экспериментальных исследований кинетики фосфорного обмена бурой водоросли *Cystoseira barbata* в условиях изменения освещённости, концентрации фосфатов, а также добавок сулемы. Методом радиоактивных индикаторов, с использованием ^{32}P , получены оценки параметров фосфорного обмена цистозеры для разных морфологических участков ее таллома. Показано, что у водоросли имеется механизм регулирования фосфорного метаболизма к условиям фосфатной гиперэвтрофикации морской среды.

Ключевые слова: бурые водоросли, *Cystoseira barbata*, фосфаты, фосфор-32, обмен фосфора, кинетика, поглощение, сорбция, выведение, Чёрное море

Автотрофные процессы в прибрежных морских акваториях более чем на 90 % осуществляются за счёт функционирования фитобентоса [5]. На видовой состав фитоценозов и их продукционные характеристики существенное влияние оказывают факторы среды, которые в мелководной прибрежной зоне варьируют в широком диапазоне. В роли значимых факторов проявляют себя также морфометрические характеристики водорослей, формирующие отклик на экологические условия среды обитания, а поверхностно-массовые соотношения их талломов могут определять перестройку фитоценозов в условиях антропогенного воздействия и гиперэвтрофикации вод [6, 7, 12,13].

По современным представлениям обменная функция водорослей, как основа их минерального питания и лимитирования роста биогенными элементами, является важнейшим механизмом продукционного процесса. Поэтому изучение минерального обмена макрофитов с учетом их морфометрических характеристик составляет необходимое звено в понимании закономерностей, отвечающих за формирова-

ние, как структуры, так и биоразнообразия в прибрежных фитоценозах. В связи с этим, цель данной работы состояла в исследовании кинетических закономерностей фосфорного обмена у разных участков слоевища черноморской цистозеры, с различными морфометрическими параметрами, в условиях изменения освещённости, концентрации фосфатов в водной среде и добавок метаболического яда (сулемы).

Материал и методы. Материалом для исследований служила бурая водоросль *Cystoseira barbata* (Good. et Wood.) Ag. [5], обитающая в прикрепленном состоянии в акватории севастопольских бухт, талломы которой для экспериментов были отобраны в бухте Омега (Круглая) ($44^{\circ} 36' 05.77''$ с.ш.; $33^{\circ} 26' 27.02''$ в.д.) на глубинах 0.1 – 1.0 м, а её таксономия была любезно определена для нас С. А. Ковардаковым.

Проводимые в октябре – ноябре 2000 г. экспериментальные исследования базировались на радиоиндикаторном методе, включающем метод добавок изотопного носителя ($\text{NaH}_2^{31}\text{PO}_4$). В качестве метки использовали-

радиофосфор (^{32}P) в виде ортофосфорной кислоты без носителя. Для оценки соотношения между сорбционной и метаболической активностью цистозеры в отношении поглощения

^{32}P служила сулема (HgCl_2), которая добавлялась в экспериментальные аквариумы для подавления жизненных процессов в водорослях в концентрации 1 мл насыщенного раствора на 1 л воды. Данная процедура позволяла вычленивать вклад сорбционного механизма при поглощении (^{32}P) на фоне комплексного процесса его поглощения и сорбции живой цистозерой [1]. Опыты ставились в стеклянных аквариумах, которые устанавливались в изотопной лаборатории вне прямого воздействия солнечного света и заполнялись прибрежной водой объёмом 6 л из местообитания цистозеры. Содержание минерального фосфора в воде определялось Н. И. Бобко по принятой гидрохимической методике.

Перед постановкой экспериментов с ^{32}P была проделана морфометрическая работа с талломами цистозеры по определению значений удельной поверхности (S/W) её морфологических частей [6, 12, 13]. Для этого из ветвей талломов вырезали цилиндрические фрагменты длиной 10 мм, обсушивали их промокающей бумагой и определяли сырую массу (W) и площадь боковой поверхности (S). На основании этих данных было сформировано три типа образцов водоросли с ветвями, имеющими различные значения удельной поверхности: 1 – значения S/W свыше $4 \text{ мм}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$ сырой массы, отражающие морфометрию верхушечных и адвентивных ветвей от 2 до 5-го порядков; 2 – от 1 до $4 \text{ мм}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$ (ветви 1 и 2-го порядков) и 3 – с S/W менее $1 \text{ мм}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$ (ветви 0 (ствол) и 1-го порядка). Первый тип образцов характеризовался диаметром ветвей не более 0.4 мм, с массой указанных фрагментов не более 3 мг; второй – диаметром от 0.4 до 1.5 мм, а соответствующая масса варьировала в пределах от 3 до 50 мг; третий – диаметром свыше 1.5 мм и массой фрагментов более 50 мг.

Опыты проводили с целыми талломами цистозеры (максимальный диаметр ствола составлял 4.6 мм) с плотностью их посадки в аквариумы не свыше 7.5 г л^{-1} . Указанная плотность посадки водорослей была рассчитана, исходя из методических рекомендаций проведения количественных радиоэкологических исследований [3] и физиологических требований содержания водорослей в экспериментальных аквариумах, при таком соотношении в них воды и биомассы, чтобы не было автоингибирования макрофитов продуктами собственной жизнедеятельности [13].

Радиометрические измерения образцов цистозеры в отношении ^{32}P проводили по излучению Черенкова в стандартных флаконах на жидкостно-сцинтилляционном анализаторе “1219-Rack Beta”. Перед этим цилиндрические фрагменты цистозеры промокали фильтровальной бумагой, взвешивали на лабораторных весах и микрометром определяли их диаметр для вычисления площади боковой поверхности. Из условий требуемой точности наблюдений на каждый тип образцов приходилась выборка разного размера: для 1-го типа – от 4 до 9 фрагментов, для 2-го – 3 – 7 и для 3-го – 1 – 4 фрагмента.

Предварительно была проведена работа для оценки самопоглощения ^{32}P в пробах цистозеры, когда радиоактивность её образцов измерялась дважды: сначала без размельчения и растирания в фарфоровой чаше, а затем после проведения данной процедуры. Отношение

скоростей счёта импульсов (имп мин $^{-1}$) бета-излучения ^{32}P в пробе после её растирания в порошок и до растирания считали значением коэффициента самопоглощения ^{32}P в этой пробе для данных условий радиометрии. Статистический разброс его значений, полученных в результате проведённых измерений, был усреднён линией регрессии, уравнение которой выражалось

прямой: $y = 0.13 x + 0.8688$. На основе этого уравнения была сформирована таблица значений данного коэффициента для

ветвей диаметром от 1 до 5 мм, образцы из кото-рых имели его значения выше единицы, и по-этому при радиометрии таких проб вносилась коррекция в скорость их счета, учитывающая факт самопоглощения ^{32}P .

Степень аккумуляции ^{32}P цистозирой характеризовали значениями коэффициента накопления $K_n(t)$, равными отношению кон-центраций радиофосфора в пробах гидробион-та ($C_{гр}$, имп·мин $^{-1}$ ·г $^{-1}$) и воды ($C_{в}$, имп·мин $^{-1}$ ·мл $^{-1}$) на момент времени (t) отбора пробы. Выве-дение ^{32}P водорослями характеризовали отно-шением внутриклеточных концентраций ра-диофосфора в рассматриваемый момент вре-мени к начальному, который определялся вре-менем помещения экспериментальных образ-цов из аквариума с радиоактивной меткой в воду, не содержащую ^{32}P .

По результатам опытов с ^{32}P при раз-личных добавках в воду стабильного (^{31}P) ми-нерального фосфора определяли параметры

уравнения Михаэлиса-Ментен [8] и оценивали возможность его применения для описания скорости поглощения минерального фосфора водорослями при разном его содержании в во-де. Адекватность применимости этого уравне-ния оценивалась подчинённостью эксперимен-тальных данных модифицированному уравне-нию Лайнуивера-Бэрка [8].

Приводимые на рисунках значения ко-эффициента детерминации (R^2) отражают ка-чество аппроксимации полученных данных линией регрессии в виде экспоненциальной функции [12].

Результаты и обсуждение. На рис. 1 показаны кинетические зависимости 5.1-суточного накопления (А) и 12-суточного вы-ведения (Б) ^{32}P разными морфологическими участками цистозеры, полученные по резуль-татам опытов по накоплению радиофосфора и последующего переноса образцов водоросли в аквариумы с нерадиоактивной морской водой.

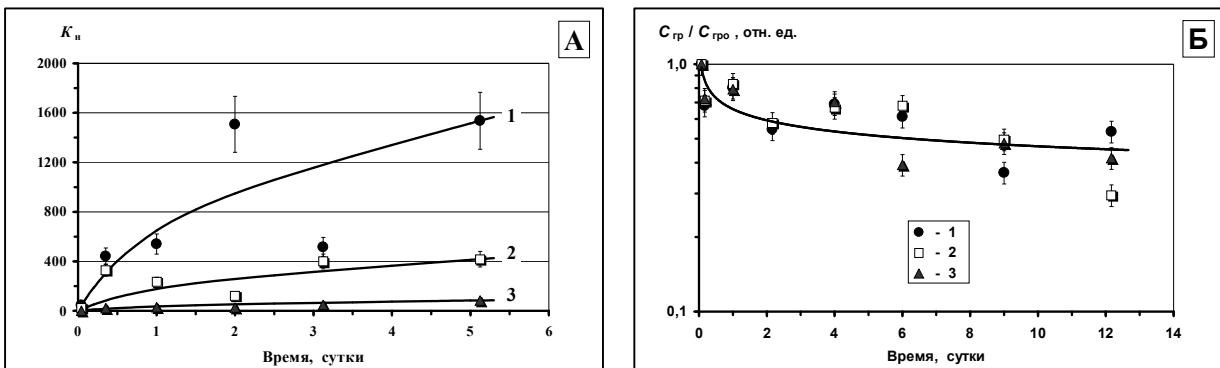


Рис. 1 Кинетика накопления (А) ^{32}P разными морфологическими участками цистозеры (S/W , мм 2 мг $^{-1}$): 1 – > 4; 2 – (1 - 4); 3 – < 1, а также его выведения (Б) в нерадиоактивной морской воде после 5.1-суточной экспозиции цистозеры в аквариуме с ^{32}P

Fig. 1 Kinetics of accumulation (A) of ^{32}P by different morphological parts of *Cystoseira barbata* (S/W , mm 2 •mg $^{-1}$): 1 – > 4; 2 – (1 - 4); 3 – < 1, and of its loss (B) in non-radioactive seawater after 5.1-day incubation of *C. barbata* in aquarium with ^{32}P

Представленные на рис. 1А материалы наблюдений показывают, что наиболее интенсивно накапливали ^{32}P ветви цистозеры с более высокой удельной поверхностью (S/W). В то же время рис.1Б иллюстрирует, что кинетика выведения ^{32}P водорослями, выраженная в относительных единицах ($C_{гр}/C_{гр0}$), не зависела

от морфологических особенностей их талломов ($C_{гр0}$ – концентрация ^{32}P в цистозере на момент начала опыта по его выведению в нерадиоактивную воду). Из данных рис. 1Б видно, что при природном (~ 10 мкгР л $^{-1}$) уровне содержания минерального фосфора в воде

кинетическая кривая выведения ^{32}P образцами из талломов водоросли в логарифмическом масштабе по оси ординат не трансформируется в прямую линию. Графический анализ этой кривой дал возможность вычленить две экспоненты и определить их константы, что позволило до-статочно адекватно описать представленную на рис. 1Б кинетическую кривую выведения ^{32}P цистозирой двухэкспоненциальной функцией:

$$C_{\text{гр}}(t) / C_{\text{гр}0} = 0.6 \cdot \exp(-0.02 \cdot t) + 0.4 \cdot \exp(-1.39 \cdot t) \quad (1)$$

С точки зрения современных теоретических представлений о минеральном обмене [9], данный факт свидетельствует, что фосфорное питание цистозирой связано более чем с одним фондом, обмениваемым фосфор со скоростью метаболических реакций первого порядка. Для количественной интерпретации этих данных нами выдвинута гипотеза о кинетике фосфорного обмена каждым из морфологических участков цистозирой, описываемой камерной математической моделью с двумя обменными фондами минерального фосфора [9, 10]. Данный подход позволил кинетику обмена ^{32}P цистозирой интегрально представить функцией вида:

$$K_{\text{н}}(t) = K_{\text{нс}} - B_1 \cdot \exp(-p_1 \cdot t) - B_2 \cdot \exp(-p_2 \cdot t), \quad (2)$$

где $K_{\text{н}}(t)$ – коэффициент накопления ^{32}P в момент времени t ; $K_{\text{нс}}$ – стационарное, статическое или предельное значение $K_{\text{н}}(t)$ при $t \rightarrow \infty$, причем $K_{\text{нс}} = B_1 + B_2$; B_1 и B_2 – показатели объемов соответственно медленно- и быстрообмениваемого фондов; p_1 и p_2 – соответствующие константы обмена с размерностью t^{-1} , вычисляемые через постоянные полузатухания экспонент (τ_i): $p_i = \ln 2 / \tau_i$.

Адекватность гипотезы о структуре фосфорного метаболизма цистозирой устанавливалась сравнением результатов наблюдений, иллюстрируемых рис. 1, с описанием этих кинетических закономерностей уравнениями (1) и (2). Выполнение общепринятых процедур аппроксимации приведенных на рис. 1 данных экспоненциальными функциями [2, 4, 9, 10] позволило определить параметрическую базу фосфорного обмена цистозирой, приведённую в табл. 1, где C_{10} и C_{20} – концентрации ^{32}P соответственно в медленно- и быстрообмениваемом фондах цистозирой на момент начала опыта по его выведению в нерадиоактивную воду: $C_{\text{гр}0} = C_{10} + C_{20}$.

Табл. 1 Оценки параметров уравнений (1) и (2) для разных морфологических участков цистозирой
Table 1 Estimated parameters of equations (1) and (2) for different morphological parts *Cystoseira barbata*

№ участка	S/W, мм ² ·мг ⁻¹	$K_{\text{н}}(t)$ (при $t = 5.1$ сут)	$K_{\text{нс}}$	B_1	B_2	$C_{10}/C_{\text{гр}0}$	$C_{20}/C_{\text{гр}0}$	P_1 , сут ⁻¹	P_2 , сут ⁻¹
1	> 4	1536	10075	9460	615	0.6	0.4	0.02	1.39
2	1 – 4	418	2741	2574	167	0.6	0.4	0.02	1.39
3	< 1	84	551	517	34	0.6	0.4	0.02	1.39

Результаты расчётов кинетики накопления ^{32}P водорослями уравнением (2) с учётом данных, приведённых в табл. 1, отражают линии на рис. 1А. Опыты по выведению этого радионуклида, описанные уравнением (1), отражены кривой на рис. 1Б. Сравнение результатов расчётов и наблюдений свидетельствует о достаточной адекватности принятой теоретической гипотезы. Анализ экспериментальных

наблюдений в совокупности с их теоретической интерпретацией показывает, что активность в поглощении минерального фосфора водорослями из водной среды в значительной степени определяется поверхностно-массовыми (размерно-весовыми) соотношениями их талломов. В то же время, при природных уровнях содержания минерального фосфора в водной среде, внутриклеточный фосфор

обменивается по типу метаболических реакций первого порядка для каждого из обменных фондов с равной относительной интенсивностью для всех морфологических структур водорослей. Различие показателей скорости обмена фосфора в фондах (p_1 и p_2) свидетельствует, что отдельные реакции фосфорного метаболизма в водорослях протекают со скоростями, отличающимися на один – два порядка величин. Вместе с тем следует отметить, что теоретическая интерпретация представленных материалов не позволяет придавать сорбционное или метаболическое соответствие отдельным фондам, т. к. используемые в качестве их идентификационных признаков параметры экспоненциальных функций не позволяют решать задачу однозначного вычленения всех экспонент по результатам экспериментальных наблюдений. Интерпретация приведенных на рис. 1 и в табл. 1 данных с точки зрения теории камерного анализа [9] позволяет заключить,

что комплекс медленных реакций фосфорного обмена у цистозеры составляет около 60 %, а быстрых – 40 % от потребляемого потока минерального фосфора. Время полного круговорота фосфора (T) в обменных фондах может быть оценено по формуле: $T \approx 5 \cdot \tau_{05}$, где τ_{05} – период времени полуобмена фонда (или период полужатухания соответствующей экспоненты): $\tau_{05} = 0.693/p$ [9]. Расчеты с использованием данных табл. 1 показывают, что быстрые реакции фосфорного метаболизма протекают на масштабе 2.5 суток, а медленные – на масштабе 173 суток. Граница разделения быстрого и медленного масштабов фосфорного метаболизма хорошо отслеживается на рис. 1Б в виде спрямления кривой выведения ^{32}P цистозерой после 2.5 суток экспозиции наблюдений.

Результаты экспериментальных оценок концентрационных характеристик различных морфологических участков цистозеры в отношении ^{32}P показаны на рис. 2.

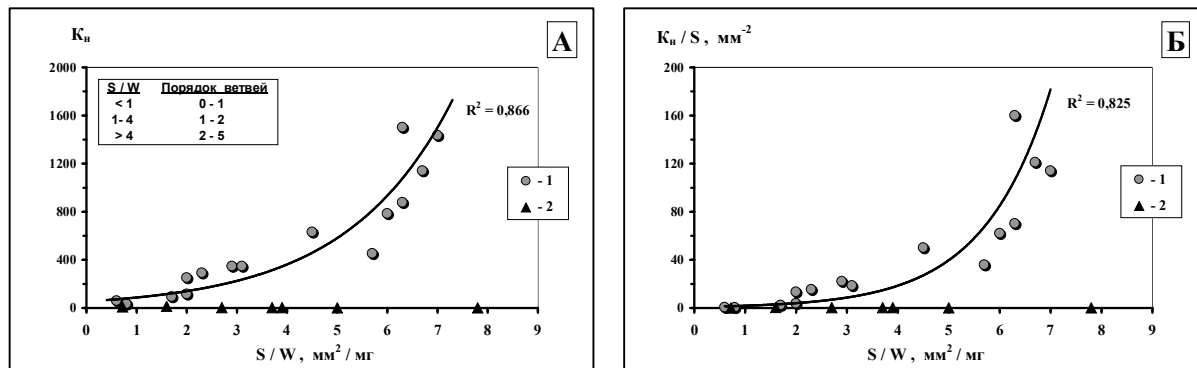


Рис. 2 Зависимости: (А) – коэффициента накопления (K_n) ^{32}P цистозерой и (Б) – его удельной (на ед. площади) величины (K_n/S , мм^{-2}) от поверхностно-массового отношения (S/W , $\text{мм}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$) при 5.1-суточной экспозиции в аквариуме без добавки сулемы (1) и с ее добавкой (2)

Построенные по результатам наблюдений аппроксимационные кривые на этом рисунке отражают экспоненциальную зависимость коэффициента накопления (K_n) ^{32}P (рис. 2А) и его удельной (K_n/S , мм^{-2}) (на ед. площади) величины (рис. 2Б) при изменении поверх-

ностно-массового соотношения (S/W , $\text{мм}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$) образцов из талломов цистозеры.

Наши исследования показали, что в широком диапазоне изменения удельных поверхностей образцов из талломов водоросли (от 0.6 до 7.7 $\text{мм}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$) зависимости изменения

значений K_n и K_n/S после 5.1-суточного накопления цистозирой ^{32}P описываются экспоненциальной функцией с достоверностью, характеризующей коэффициентом детерминации (R^2), равным соответственно 0.866 и 0.825. В области низких величин удельной поверхности морфологической структуры слоевища (до $2 \text{ мм}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$) коэффициенты накопления радиофосфора водорослями в среде без добавок и с добавками сулемы практически совпадали (рис. 2А). Более заметно это проявлено соответствующими значениями K_n/S (рис. 2Б). Так как сулема подавляет жизненные функции в водорослях, то эти данные свидетельствуют, что фосфорный обмен ветвей цистозеры, имеющих такую низкую удельную поверхность (в основном ствол и ветви не выше 2-го порядка), связан в первую очередь с сорбционными процессами. В то же время, большое отличие уровней концентрирования ^{32}P живыми водорослями, по сравнению с убитыми в результате добавок сулемы, указывает (при $S/W > 2 \text{ мм}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$) на активное метаболическое поглощение минерального фосфора периферийными (относительно основания ствола) областями талломов цистозеры – её адвентивными и верхушечными ветвями.

По современным представлениям, для детализации кинетических механизмов радиоизотопного и минерального обмена необходимо изучение не только интегральных, но и дифференциальных концентрационных характеристик гидробионтов, к которым относятся оценки скоростей их метаболической активности, обусловленной морфометрическими параметрами. В связи с этим нами изучались показатели скорости поглощения ^{32}P водорослями в зависимости от удельной поверхности их образцов. Как известно [2, 4, 9], показатели скорости обмена минеральных элементов гидробионтами могут быть определены по результатам экспериментов с их радиоактивной меткой только в таких опытах, в которых созданы условия, когда скорость поглощения или выведе-

ния радиоактивной метки и изотопного носителя совпадают. Применительно к кинетике фосфорного обмена, представленной на рис. 1 и описанной уравнениями (1) и (2), это означает, что для оценки показателя скорости обмена фосфора цистозирой необходимо дифференцирование этих уравнений при соответствующих начальных условиях. В частности, выполнение этой процедуры для выражения (2) позволяет получить формулу для оценки показателя скорости поглощения минерального фосфора (V_n) с размерностью сут^{-1} по данным экспериментов с его радиоактивной меткой:

$$V_n = V_1 \cdot p_1 + V_2 \cdot p_2 \quad (3)$$

В связи с тем, что условия применимости соотношения (1) для оценки значения V_n могут быть обеспечены, как правило, только после длительных предварительных опытов (в нашем случае для этого потребовалось бы 173 сут. изучения накопления радиофосфора водорослями), то наиболее предпочтительна процедура, связанная с использованием соотношения (2). В то же время, в практике экспериментального определения V_n чаще всего используется оценка показателя скорости поглощения элемента по двум точкам – в нулевой момент времени, и при минимально достижимой экспозиции изучения процесса накопления. Особенностью данного подхода является наличие методической погрешности за счёт замены касательной к зависимости (2) отрезком, лежащим на этой кривой. Эта погрешность тем меньше, чем меньше экспозиция, однако при этом возрастает ошибка, обусловленная увеличением её соизмеримости с промежутком времени, связанным с процедурой отбора проб. Поэтому оптимизация минимальной экспозиции обычно базируется на результатах предварительных опытов. В нашем случае, сравнительные расчёты по формулам (2) и (3) показали, что при одночасовой экспозиции наблюдений методическая погрешность оценки показателя скорости поглощения фосфора водорослями не превышала 3 %, а при 3-часовой – 7 %.

На рис. 3 отражены результаты экспериментального изучения процесса накопления ^{32}P образцами цистозеры с различными удельными поверхностями (в аквариуме без добавки сулемы (1) и с её добавкой (2) при одночасовой экспозиции наблюдений) в виде зависимостей показателя скорости поглощения минерального фосфора ($V_n, \text{ч}^{-1}$) (рис. 3А) и его удельной (на

единицу площади) величины ($V_n/S, \text{ч}^{-1} \text{мм}^{-2}$) (рис. 3Б) от поверхностно-массового отношения ($S/W, \text{мм}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$). Из представленного материала видно, что искомые параметры (V_n и V_n/S) с достаточной степенью достоверности возрастали экспоненциально с увеличением удельной поверхности водоросли.

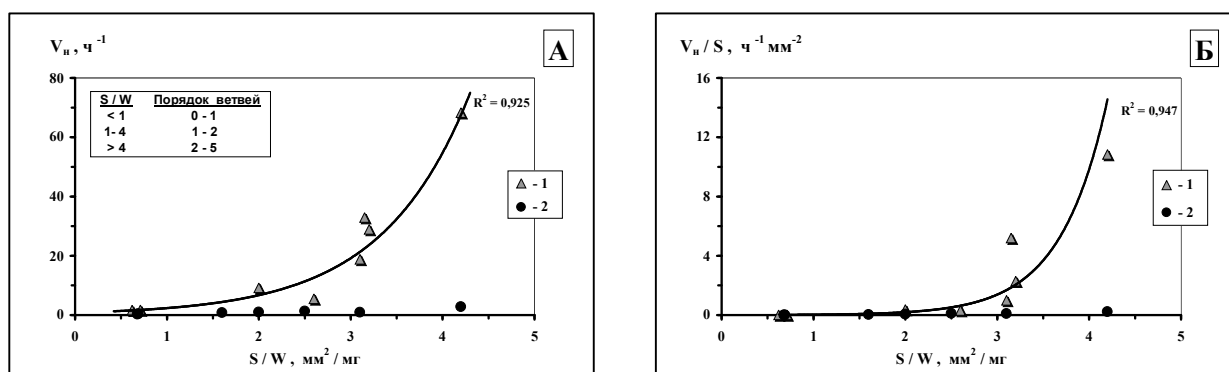


Рис. 3 Зависимости: (А) – показателя скорости ($V_n, \text{ч}^{-1}$) поглощения минерального фосфора цистозерой и (Б) – его удельной (на ед. площади) величины ($V_n/S, \text{ч}^{-1} \text{мм}^{-2}$) от поверхностно-массового отношения ($S/W, \text{мм}^2 \text{мг}^{-1}$) при 1-часовой экспозиции накопления ^{32}P в аквариуме без добавки сулемы (1) и с её добавкой (2)

Fig. 3 Dependencies of: (A) – index of uptake rate of inorganic phosphorus by *Cystoseira barbata* (V_n, h^{-1}) and (B) – its specific (per surface unit) value ($V_n/S, \text{h}^{-1} \text{mm}^{-2}$) from the surface-mass ratio ($S/W, \text{mm}^2 \text{mg}^{-1}$) after 1-hour in-cubation in aquarium without addition of HgCl_2 (1) and with the addition of HgCl_2 (2)

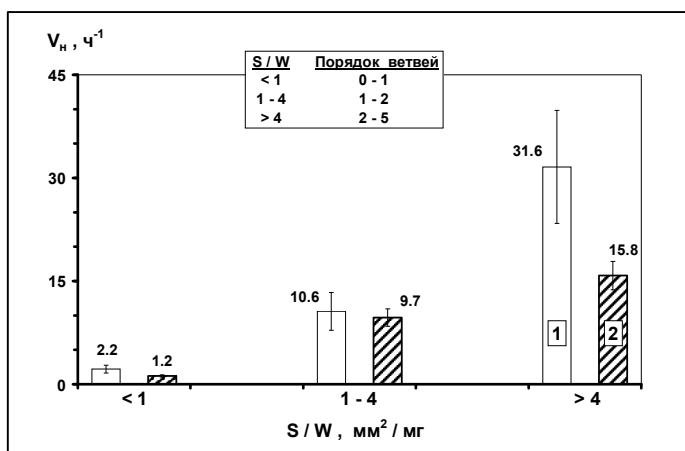
В подобных экспериментах [4] по изучению поглощения ^{65}Zn вырезками (кружками) равной поверхности, но разной толщины из талломов черноморской ульвы (*Ulva rigida*), показано, что до более высоких коэффициентов накопления концентрируют ^{65}Zn образцы ульвы меньшей толщины. Опыты с двумя группами кружков ульвы разной толщины показали, что в моменты времени, близкие к начальному, концентрирование ^{65}Zn было пропорционально поверхности кружков, а в следующие моменты времени – их массе, что свидетельствовало о превалировании сорбционного механизма в поглощении радионуклеида водорослью [4, 9].

В нашем случае из данных рис. 3 видно, что при низких значениях удельной поверхности ($S/W < 2 \text{мм}^2 \text{мг}^{-1}$) оценки величин V_n , а также V_n/S , живыми и убитыми водорос-

лями практически совпадали, что подтвердило факт значимого вклада сорбционного механизма в фосфорном обмене у ствольных ветвей слоевищ цистозеры и сравнимых с ними по диаметру ветвей 1 – 2-го порядков. В то же время, иллюстрируемое рис. 3 существенное отличие концентрационных характеристик у живых и убитых адвентивных и верхушечных ветвей водоросли, обладающих относительно меньшим диаметром, а следовательно и более высокой удельной поверхностью, указывает на присущий им не только сорбционный, но и активный путь поглощения минерального фосфора, обусловленный их метаболизмом.

Для оценки влияния фактора освещённости на фосфорный метаболизм мы изучали 3-часовое поглощение ^{32}P разными морфологическими участками цистозеры при естественном дневном освещении и в темноте, после

предварительной 2-недельной адаптации водорослей к соответствующим температурно-световым условиям. Результаты этих экспериментов, представленные на рис. 4, свидетельствуют, что показатели скорости поглощения минерального фосфора в целом были выше у талломов с более высокой удельной поверхностью. Для ствольных частей ($S/W < 1$) и ветвей не выше 2-го порядка ($S/W = 1 - 4$) значения показателя скорости (V_n) поглощения ^{32}P в условиях естественного освещения и в темноте



практически не отличались, а для периферийных частей талломов цистозеры ($S/W > 4 \text{ мм}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$) поглощение радиоактивного фосфора в условиях естественного освещения было заметно выше, чем в темноте (рис. 4). Эти данные подтверждают сведения о положительной корреляции интенсивности фотосинтеза макрофитов с удельной поверхностью их слоевищ [13] и относительно более высоком соматическом росте периферийных частей талломов цистозеры [5].

Рис. 4 Значения показателя скорости ($V_n, \text{ч}^{-1}$) поглощения ^{32}P разными морфологическими участками цистозеры с различной удельной поверхностью при 3-часовой экспозиции опытов в условиях естественной освещённости (1) и в темноте (2)

Fig. 4 Values of index of uptake rate of ^{32}P by different morphological parts of *Cystoseira barbata* (V_n, h^{-1}) with different specific surface after 3-hour incubation an natural light exposure (1) and in the dark (2)

Наши исследования также показали, что интенсивность поглощения ^{32}P цистозерой зависит от концентрации минерального фосфора в водной среде (рис. 5). В 3-часовых опытах, направленных на изучение скорости поглощения ^{32}P цистозерой при разных добавках минерального фосфора в аквариумах, для разных морфологических участков слоевищ цистозеры были получены S-образной формы зависимости показателя скорости поглощения фосфора ($V_n, \text{ч}^{-1}$) от изменения его концентрации в воде (C_B) в диапазоне от 10 до 1000 мкгР л^{-1} (рис. 5). Значения V_n ветвей с $S/W < 1$ были примерно на порядок ниже, чем у ветвей с $S/W = 1 - 4$ и на два порядка ниже, чем у ветвей с $S/W > 4 \text{ мм}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$. Наличие перегибов на S-образных кривых (рис. 5) свидетельствует о существовании адаптационных механизмов регулирования фосфорного обмена при изме-

нении концентрации минерального фосфора в водной среде в отмеченном, достаточно широком интервале изменения его концентраций.

Анализ этих материалов позволил выявить три тренда. Первый тренд (I на рис. 5) был связан с уменьшением величины показателя скорости поглощения минерального фосфора водорослями (V_n) при увеличении его концентрации в воде (C_B) в диапазоне от 10 до 30 мкгР л^{-1} , второй тренд (II на рис. 5) – характеризовался увеличением V_n при росте C_B в диапазоне изменения концентраций от 30 до 200 мкгР л^{-1} , и третий (III на рис. 5) – проявлялся в снижении величины V_n в диапазоне роста значений C_B от 200 до 1000 мкгР л^{-1} . На рис. 5 видно, что отмеченные закономерности фиксировались для всех трех изученных морфологических частей талломов цистозеры.

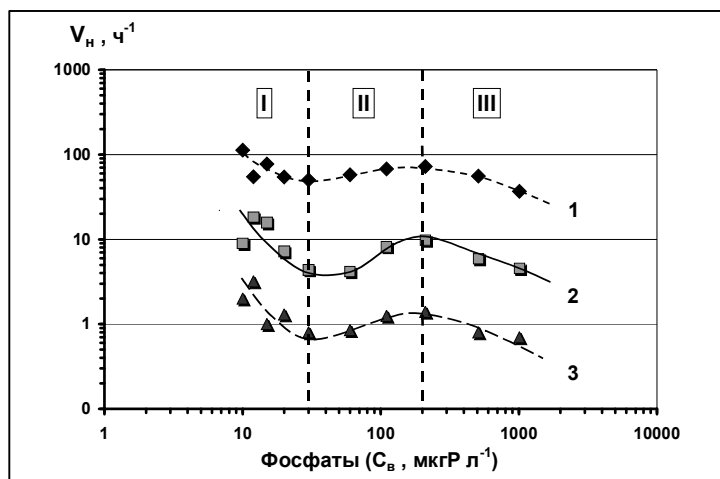


Рис. 5 Изменение показателя скорости (V_n , $ч^{-1}$) поглощения ^{32}P различными морфологическими частями цистозеры (1 – $S/W > 4$, 2 – $S/W = 1 - 4$ и 3 – $S/W < 1$ $мм^2 \cdot мг^{-1}$) при изменении концентрации минерального фосфора в воде (C_b , $мкгР \cdot л^{-1}$) в диапазонах: I – 10 – 30; II – 30 – 200 и III – от 200 до 1000 $мкгР \cdot л^{-1}$

Fig. 5 Changes of index of uptake rate of ^{32}P (V_n , h^{-1}) by different morphological parts of *Cystoseira barbata*: (1 – $S/W > 4$; 2 – $S/W = 1 - 4$ and 3 – $S/W < 1$ $mm^2 \cdot mg^{-1}$) at variable concentration of inorganic phosphorus in water (C_b , $\mu gP \cdot l^{-1}$) ranging between: I – 10 – 30; II – 30 – 200 and III – 200 – 1000 $\mu gP \cdot l^{-1}$

Исследования показали, что в диапазонах (I и III, рис. 5) изменения концентрации минерального фосфора в водной среде, где наблюдалось снижение величин показателя скорости (V_n , $ч^{-1}$), зависимость скорости поглощения минерального фосфора (V_n , $мкгР \cdot л^{-1} \cdot ч^{-1}$) всеми морфологическими участками водорослей подчинялась уравнению Михаэлиса-Ментен (4) [8]:

$$V_n = V_{max} \cdot C_b / (K_m + C_b), \quad (4)$$

где параметр V_{max} ($мкгР \cdot л^{-1} \cdot ч^{-1}$) – максимальная скорость поглощения минерального фосфора

цистозерой из водной среды.

Из рис. 6 видно, что значения константы Михаэлиса-Ментен для первого и третьего диапазонов концентраций, графически определенные процедурой использования модифицированного уравнения Лайнуивера-Бэрка [8 -10], как линеаризованного выражения (4), были соответственно равны: $K_m = 9$ $мкгР \cdot л^{-1}$ (рис.

6А) и $K_m = 580$ $мкгР \cdot л^{-1}$ (рис. 6Б), и эти значения K_m в пределах каждого из интервалов не зависели от морфологических особенностей слоевищ цистозеры.

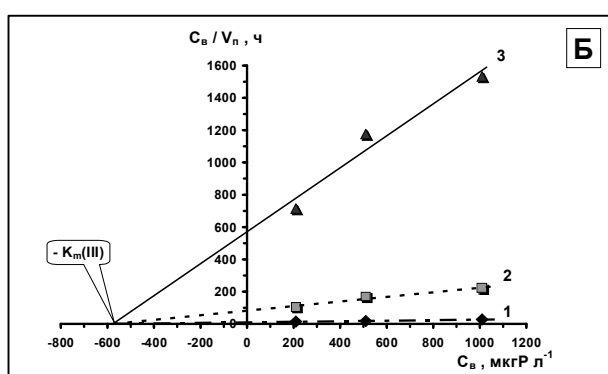
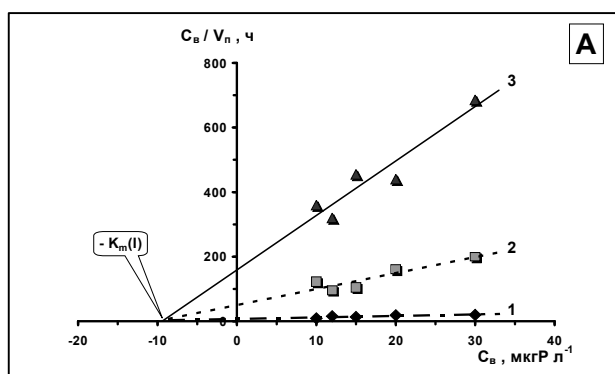


Рис. 6 Зависимость, в координатах линеаризованного уравнения Михаэлиса-Ментен, скорости поглощения минерального фосфора при его концентрации в водной среде в диапазонах 10 - 30 $мкгР \cdot л^{-1}$ (А) и 200 - 1000 $мкгР \cdot л^{-1}$ (Б) для разных морфологических участков цистозеры (S/W , $мм^2 \cdot мг^{-1}$)

Fig. 6 Dependence, in coordinates of the linearized Michaelis-Menten equation, of uptake rate of inorganic phosphorus at its concentration in water ranging between 10 - 30 $\mu gP \cdot l^{-1}$ (А) and 200 - 1000 $\mu gP \cdot l^{-1}$ (Б) for different morphological parts of *Cystoseira barbata* (S/W , $mm^2 \cdot mg^{-1}$)

Параметры уравнения Михаэлиса-Ментен (4) для выделенных на рис. 5 первого и третьего диапазонов концентрации минераль-

ного фосфора в водной среде приведены в табл. 2.

Табл. 2 Параметры уравнения Михаэлиса-Ментен и фосфорного обмена цистозеры (удельной биомассой $M_r/M_b = 1 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$) при природных уровнях содержания минерального фосфора в воде ($C_{b1} = 10 \text{ мкгР} \cdot \text{л}^{-1}$) и в условиях фосфорной гиперэвтрофикации ($C_{b2} = 1000 \text{ мкгР} \cdot \text{л}^{-1}$)

Table 2 Parameters of the Michaelis-Menten equation and the phosphorus turnover of *Cystoseira barbata* (with specific biomass $M_r/M_b = 1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$) at the natural conditions of inorganic phosphorus concentration in water ($C_{b1} = 10 \text{ μgP} \cdot \text{l}^{-1}$) and at the phosphorus hyper-eutrophication conditions ($C_{b2} = 1000 \text{ μgP} \cdot \text{l}^{-1}$)

№ участка	S/W, мм ² ·мм ⁻¹	$C_{b1} = 10 \text{ мкгР} \cdot \text{л}^{-1}$				$C_{b2} = 1000 \text{ мкгР} \cdot \text{л}^{-1}$				T = $C_{b2}/V_{\max 1}$ (сут)
		K_{m1} , мкгР·л ⁻¹	$V_{\max 1}$, мкгР·г ⁻¹ ·ч ⁻¹	V_{n1} , мкгР·г ⁻¹ ·ч ⁻¹	$T_1 = C_{b1}/V_{n1}$, сут, при $M_r/M_b = 1 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$	K_{m2} , мкгР·л ⁻¹	$V_{\max 2}$, мкгР·г ⁻¹ ·ч ⁻¹	V_{n2} , мкгР·г ⁻¹ ·ч ⁻¹	$T_2 = C_{b2}/V_{n2}$, сут, при $M_r/M_b = 1 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$	
1	> 4	9	1.927	1.014	0.4	580	58.5	37.0	1.1	21.6
2	1 - 4	9	0.252	0.132	3.1	580	7.1	4.5	9.3	165.6
3	< 1	9	0.061	0.032	13.0	580	1.0	0.6	64.7	683.5

В графах 3 и 7 (табл. 2) содержатся значения констант Михаэлиса-Ментен, а в графах 4 и 8 – максимальных скоростей поглощения минерального фосфора различными морфологическими участками таллома цистозеры применительно к диапазонам изменения его концентрации, представленными соответствующими подстрочными символами: 1 – от 1 до 30 мкгР·л⁻¹ и 2 – от 200 до 1000 мкгР·л⁻¹. В графах 5 и 9 даны рассчитанные по уравнению Михаэлиса-Ментен (4) значения скоростей поглощения минерального фосфора морфологическими группами цистозеры при содержании минерального фосфора в пределах природных уровней (10 мкгР·л⁻¹) и при фосфатном гиперэвтрофировании вод (1000 мкгР·л⁻¹). В графах 6 и 10 (табл. 2) приведены расчётные значения периодов оборота минерального фосфора в водной среде с концентрацией соответственно 10 и 1000 мкгР·л⁻¹ за счёт поглощения и выведения различными морфометрическими группами цистозеры при их удельной биомассе (M_r/M_b) для каждой группы в 1 г·л⁻¹. В природ-

ных условиях обитания фитоценоза цистозеры её биомасса, например, в бухте Казачьей (г. Севастополь), составляет 76 – 533 г под одним квадратным метром поверхности в пределах глубин 0.5 – 3.0 м [5], поэтому содержащиеся в графах 6 и 10 оценки близки по порядку величин к природным уровням круговорота фосфора в результате метаболизма цистозеры.

Приведенные в табл. 2 данные в целом свидетельствуют, что метаболическая активность цистозеры в отношении минерального фосфора при природных уровнях его содержания в морской среде достаточно высока, обеспечивая его биотический круговорот в фитоценозе цистозеры на масштабе от десятка часов до суток, что согласуется с имеющимися в литературе данными [13]. В то же время, с уменьшением удельной поверхности морфологических участков слоевищ водорослей она снижается во всех диапазонах изменения его концентрации в морской среде. Графы 7 и 8 табл. 2 показывают, что в условиях фосфорной гиперэвтрофикации вод значительно изменя-

ется уровень фосфорного метаболизма цистозир, в результате чего значения константы Михаэлиса-Ментен и максимальные скорости поглощения фосфора всеми морфологическими группами водорослей увеличиваются более чем на порядок величин, что даже при росте концентрации минерального фосфора в водной среде на два порядка величин обеспечивает его биотический круговорот в фитоценозе цистозир на масштабе от единиц до десятков суток (графа 10, табл. 2).

В графе 11 (табл. 2) представлены расчётные оценки периодов круговорота фосфора различными морфологическими участками цистозир в условиях, когда бы отсутствовало увеличение интенсивности его метаболизма при гиперэвтрофикации вод. Сравнение этих данных с оценками, приведёнными в графе 10 рассматриваемой таблицы, позволяет заключить, что обнаруженная нами перестройка интенсивности метаболизма цистозир при фосфорной гиперэвтрофикации вод приводит к увеличению максимальной скорости его поглощения в водной среде практически более чем на порядок величин (см. графы 4 и 8, табл. 2), и следствием этого является биотическая деэвтрофикация вод. Это означает, что влияние отмеченных выше адаптационных механизмов в экологическом плане проявляется в повышении деэвтрофирующей роли водорослей по мере увеличения степени фосфорной гиперэвтрофикации вод. На системном уровне он идентичен условию существования отрицательной обратной связи или принципу Ле Шателье-Брауна: «При внешнем воздействии, выводящем систему из состояния устойчивого равновесия, равновесие смещается в том направлении, при котором эффект внешнего воздействия ослабляется» [11].

Выводы. 1. В диапазоне природных уровней и при малом изменении содержания минерального фосфора в морской среде кинетические закономерности поглощения и выведения ^{32}P цистозир с достаточной степенью

адекватности описываются камерной моделью, отражающей его обмен двумя фондами в водорослях со скоростями метаболических реакций первого порядка. **2.** Коэффициенты накопления ^{32}P и показатели скорости его поглощения цистозир экспоненциально возрастают с увеличением ее удельной поверхности, а показатели скорости его выведения из фондов не зависят от морфологической идентификации в структуре таллома водоросли. У образцов цистозир с удельной поверхностью до $2 \text{ мм}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$

(сырой массы) коэффициенты накопления и скорости поглощения ^{32}P живыми и убитыми водорослями практически совпадают, что свидетельствует о высокой, значимой роли сорбционного механизма фосфорного обмена у ствольных ветвей и ветвей не выше 2-го порядка. У периферийных относительно основания ствола областей талломов (ветви 2 - 5-го порядков – верхушечные и адвентивные ветви) коэффициенты накопления и скорости светового поглощения радиофосфора живыми образцами водорослей закономерно выше, чем убитыми. **3.** Скорости поглощения ^{32}P ветвями цистозир с удельной поверхностью менее $4 \text{ мм}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$ на свету и при отсутствии освещения совпадают, а ветви с удельной поверхностью свыше $4 \text{ мм}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$ поглощают его на свету с большей скоростью, чем в темноте, что указывает на их более высокую фотосинтетическую активность. **4.** В диапазоне концентраций минерального фосфора в воде от 10 до $30 \text{ мкгР} \cdot \text{л}^{-1}$ абсолютная скорость его поглощения цистозир описывается уравнением Михаэлиса-Ментен с константой $K_m = 9 \text{ мкгР} \cdot \text{л}^{-1}$, а в диапазоне концентраций 200 - $1000 \text{ мкгР} \cdot \text{л}^{-1}$ – с константой $K_m = 580 \text{ мкгР} \cdot \text{л}^{-1}$, что свидетельствует о наличии у водоросли механизма регулирования внешнего фосфорного обмена, применительно к условиям фосфатной гиперэвтрофикации морской среды.

1. *Баринов Г. В.* Кинетика поглощения и обмена радионуклидов морскими водорослями. – В кн.: Морская радиоэкология. – К.: Наук. думка, 1970. – С. 62 – 71.
2. *Бачурин А. А.* Динамические характеристики радиоэкологического процесса концентрирования // Морская радиоэкология. – К.: Наук. думка, 1970. – С. 72-89.
3. *Бачурин А. А., Поликарпов Г. Г.* Расчет минимально необходимого объема аквариума для снятия динамических характеристик накопления радионуклидов морскими организмами. – Отчёт отдела радиобиологии за 1968 год. II полугодие. – Севастополь: ИнБЮМ, 1968. – С. 80-83.
4. *Иванов В. Н., Егоров В. Н., Рожанская Л. И.* Изучение накопления и выведения ^{65}Zn черноморской водорослью *Ulva rigida* Ag. в связи с ее ростом // Биология моря. – 1978. – Вып. 44. – С. 46-55.
5. *Калугина-Гутник А. А.* Фитобентос Чёрного моря. – К.: Наук. думка, 1975. – 248 с.
6. *Комплексная адаптация цистозеры к градиентным условиям: Научные и прикладные проблемы / Ковардаков С. А., Празукин А. В., Фирсов Ю.К., Попов А. Е.* – К.: Наук. Думка, 1985. – 216 с.
7. *Миничева Г. Г.* Морфофункциональные основы формирования морского фитобентоса. – Авт. реф. на соиск. уч. ст. док. биол. наук. – Севастополь, 1998. – 32 с.
8. *Паттон А.* Энергетика и кинетика биохимических процессов. – М.: Мир, 1968. – 159 с.
9. *Поликарпов Г. Г., Егоров В. Н.* Морская динамическая радиохемозология. – М.: Энергоатомиздат, 1986. – 176 с.
10. *Поповичев В. Н.* Кинетические характеристики обмена фосфора-32 черноморскими идогтеями при накоплении его непосредственно из воды // Экология моря. – 1991. – 37. – С. 80-88.
11. *Реймерс Н. Ф.* Природопользование: Словарь-справочник. – М.: Мысль, 1990. – 640 с.
12. *Хайлов К. М., Парчевский В. П.* Иерархическая регуляция структуры и функции морских растений. – К.: Наук. думка, 1983. – 256 с.
13. *Хайлов К. М., Празукин А. В., Ковардаков С. А., Рыгалов В. Е.* Функциональная морфология морских многоклеточных водорослей. – К.: Наук. думка, 1992. – 281 с.

Поступила 19 ноября 2007 г.

После доработки 01 октября 2008 г.

Кінетичні закономірності фосфорного обміну чорноморської бурої водорості *Cystoseira barbata*. В. М. Поповичев, В. М. Єгоров. Представлені дані експериментальних досліджень кінетики фосфорного обміну бурої водорості *Cystoseira barbata* в умовах зміни освітленості, концентрації фосфатів, а також добавок сулеми. Методом радіоактивних індикаторів, з використанням ^{32}P , отримані оцінки параметрів фосфорного обміну цистозери з водним середовищем для різних морфологічних ділянок її таллома. Показано, що у водорості є механізм регулювання фосфорного метаболізму до умов фосфатної гіперевтрофікації морського середовища.

Ключові слова: бурі водорості, *Cystoseira barbata*, фосфати, обмін фосфору, фосфор-32, кінетика, поглинання, сорбція, виведення, Чорне море

Kinetic regularities of exchange of phosphorus by the Black Sea brown seaweed *Cystoseira barbata*. V. N. Popovichev, V. N. Egorov. The results of the experimental investigations of a phosphorus exchange by brown seaweed *Cystoseira barbata* in conditions of variation of light exposure, concentration phosphates, and also additions HgCl_2 are presented. The method of radioactive indicators, with use ^{32}P , gives estimations of parameters of external phosphorus exchange by seaweed for its different morphological parts. It is shown that *Cystoseira barbata* has regulating mechanism of phosphorus metabolism on conditions of the phosphatic hypereutrophication of sea environment.

Key words: brown seaweeds, *Cystoseira barbata*, phosphates, exchange of phosphorus, phosphorus-32, kinetics, absorption (uptake), sorption, excretion (loss), Black Sea