

КИНЕТИКА СУБСТРАТЗАВИСИМОГО РОСТА ВОДНОГО ГИАЦИНТА *Eichornia crassipes* (Martius.)

С. Ю. Горбунова
Н. В. Фомин

Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь

E-mail: svetlana_8423@mail.ru

Получено 30.03.2011

Исследована кинетика субстратзависимого роста водного гиацинта *Eichornia crassipes* (Martius.) при выращивании его на с/х сточных водах в нестационарных условиях накопительного режима культивирования. Установлено, что поглощение минерального субстрата из среды водным гиацинтом и рост его массы — это два взаимосвязанных процесса. Связующим звеном является накопление и использование минеральных биогенов растениями. Разработана модель кинетики роста водного гиацинта. Используя численный метод решения системы трех дифференциальных уравнений, определили концентрации биогенных элементов питания в массе растений. Первое уравнение описывает динамику концентрации минерального элемента в среде, второе — баланс его концентрации в массе и третье — динамику накопления массы растений. Рассчитаны минимальные значения концентраций азота и фосфора в питательной среде, ниже которых поглощение водным гиацинтом остальных элементов становится невозможным. Установлено, что зависимость удельной скорости поступления питательного вещества в растение от его концентрации в питательной среде близка к прямо пропорциональной. На основе метода покоординатного спуска определены коэффициенты модели и начальные условия опыта.

Ключевые слова: водный гиацинт, сточные воды, биогенные элементы, кинетика роста.

Водный гиацинт (*Eichornia crassipes*) — тропическое растение, однако экспериментально была установлена возможность его выращивания и в климатических условиях Крыма [1]. Ранее была прослежена динамика его роста, а также изменение концентраций азота в форме нитратов ($N-NO_3$) и фосфора в форме фосфатов ($P-PO_4$) в питательной среде при накопительном режиме культивирования [1]. Сопоставление этих процессов показывает, что фаза замедления роста водного гиацинта наступает при исчерпании азота и фосфора в среде. При отсутствии минерального субстрата в питательной среде прирост массы не прекращается, а лишь замедляется.

Количественная зависимость удельной скорости роста от концентрации лимитирующего субстрата S , как правило, имеет насыщающий характер и обычно описывается уравнением Моно, которое имеет два параметра: μ_{max} — максимально возможная скорость роста при избытке субстрата ($сут^{-1}$) и K_S — коэффициент насыщения [2, 3]. Теоретически коэффициент насыщения численно равен той концентрации субстрата, при которой наблюдается половинная от максимальной скорость роста.

При подходе, основанном на зависимости Моно [4], процессы поглощения питатель-

ных веществ и роста водных фототрофов не различаются, однако это справедливо только для культивирования в условиях хемостата.

Накопительный режим культивирования не относится к стационарному [5]. При таком культивировании концентрация минеральных веществ в среде постоянно изменяется, а следовательно, изменяется и их влияние на скорость ферментативических реакций, что приводит к постоянному изменению количества биогенных элементов в клетке. Поскольку предположения, лежащие в основе зависимости Моно, приемлемы только для культивирования в условиях хемостата, то для накопительного режима культивирования они часто нарушаются. В экспериментах с изучением роста растений в накопительном режиме возможны ситуации, которые принципиально не могут быть описаны моделью Моно. Неоднократно наблюдались случаи, когда при почти полном отсутствии минеральных веществ в среде ($S = 0$ в уравнении Моно) растение, тем не менее, продуцирует новое вещество ($\mu \neq 0$) [6].

Основой фотосинтеза растений является использование углерода и кислорода, полученных из углекислого газа атмосферы, и водорода, взятого из воды [7].

Минеральные компоненты, извлеченные из среды водными растениями и выступающие

как субстрат, в общей их массе могут составлять лишь 10–35% [8]. Для синтеза остальной массы растения потребуется время, обусловленное фотосинтезом. Если речь идет не о светозависимом, а субстратзависимом росте водных фототрофов, и в качестве субстрата выступают минеральные вещества, то процесс поглощения субстрата из среды и прирост массы следует рассматривать как два отдельных процесса.

Цель работы — исследовать кинетику субстратзависимого роста высших водных растений на примере водного гиацинта *Eichornia crassipes* (Martius.) при выращивании его на с/х сточных водах в нестационарных условиях накопительного режима культивирования.

Материалы и методы

Объектом исследования было высшее водное растение — водный гиацинт *E. crassipes*. Эксперимент проводили в течение 25 сут. Для выращивания водного гиацинта использовали 200-литровый бассейн. Объем среды составлял 100 л и на протяжении всего эксперимента оставался неизменным, поскольку испарение компенсировали добавлением водопроводной воды. В бассейн в качестве питательной среды внесли модельную с/х сточную воду с повышенным содержанием органических веществ. Этот избыток моделировали, внося в водопроводную воду 4 кг перегноя, содержащего 8,69 г/л органического вещества, что приблизительно соответствует составу органико-содержащих сточных вод. В течение всего эксперимента культиватор находился в условиях естественного освещения. Средняя освещенность в дневное время суток (с 8.00 до 16.00) — 100 клк. Среднесуточная температура воздуха для этого периода времени составляла 23–29 °С. При этом температура в бассейне колебалась от 22 до 23 °С. Значения рН варьировали от 8,15 до 8,5. Ошибка применяемых в работе методов определения азота и фосфора в питательной среде составляет не более 1%, а в биомассе растений — не превышает 5%.

Результаты и обсуждение

Для детального изучения динамики концентрации минеральных питательных веществ (азота, фосфора) в среде (рис. 1) экспериментальных точек было недостаточно, поэтому нами получены промежуточные точки с величиной шага 0,5 сут методом ку-

бической интерполяции [9], а применение аппроксимирования экспериментальных данных усредненной кривой дало возможность применять численное дифференцирование. В результате аппроксимации получены усредненные значения, которые в узловых точках имеют отклонения от экспериментальных данных не более 1%, что соответствует точности метода измерений этих параметров.

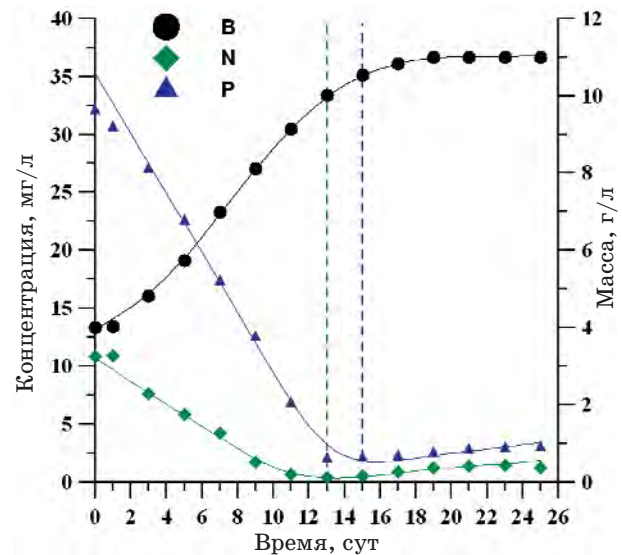


Рис. 1. Динамика массы (B) *E. crassipes*, концентрации N-NO₃ и P-PO₄ в с/х сточной воде.

Пунктирной линией отмечено начало фазы замедления роста водного гиацинта, которая наступала на 13–15-е сутки культивирования при исчерпании азота и фосфора из среды

Продифференцировав по времени динамику минерального субстрата, получили скорость изменения его концентрации dC/dt , а отнеся ее к массе растений, — удельную скорость изменения концентрации минеральных веществ в среде dC/Bdt . Величина, взятая со знаком минус, — это удельная скорость поглощения минерального элемента растениями $-dC/Bdt$. Она связана со скоростью изменения концентрации минерального субстрата в массе растений следующим образом:

$$\frac{dS^+}{dt} = -\frac{dC}{Bdt} \quad (1)$$

Зависимость удельной скорости поглощения минерального субстрата от его концентрации в среде представлена на рис. 2. Эту зависимость аппроксимировали линейной функцией (в интервале исследованной концентрации):

$$-\frac{dC}{Bdt} = K \cdot C + K_0, \quad (2)$$

где C — концентрация минерального элемента в питательной среде, K и K_0 — коэффициенты линейной функции.

Поглощение минерального элемента может происходить до некоторого минимального уровня его концентрации в питательной среде, ниже которого поглощение не происходит (рис. 2). Величина этого уровня обусловлена способностью клеточной мембраны переносить ионы минерального элемента путем активного транспорта из среды с низкой концентрацией в клеточную среду с более высокой концентрацией или появлением лимитирования роста растений некоторым другим элементом минерального питания, при отсутствии которого в питательной среде поглощение остальных становится невозможным. Этот уровень у водного гиацинта для азота составил 0,36, а для фосфора — 1,77 мг/л. В этой точке прямая обрывается и падает до нуля. Поскольку разработанная модель не учитывает существующие в культуре (ценозе) гиацинта вероятностные и адаптационные явления, на представленных графиках наблюдается некоторое расхождение теоретических линий и расчетных значений скорости поглощения биогенных элементов из среды в области остановки поглощения растением питательного субстрата.

Из уравнения (2) следует, что изменение концентрации минерального элемента в питательной среде можно представить таким образом:

$$\frac{dC}{dt} = -B \cdot (K \cdot C + K_0). \quad (3)$$

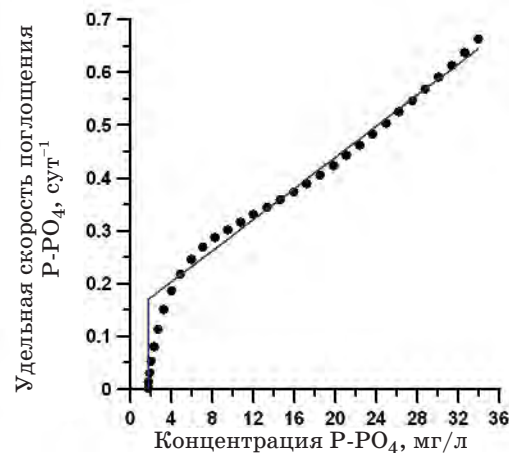
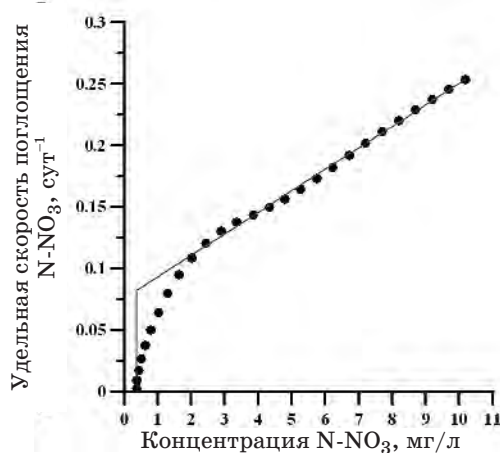


Рис. 2. Кинетика N-NO₃ и P-PO₄ при выращивании *E. crassipes* в с/х сточной воде

Однако эта зависимость не дает обратной связи поглощения питательных веществ из окружающей среды с их концентрацией в растениях и скоростью роста. Она применима лишь при невысоком уровне содержания минеральных элементов питания в среде. Возможно, при высоких концентрациях, когда темпы поглощения будут превосходить скорость расходования их на биосинтез, а скорость роста растений достигнет максимального значения, наступит стабилизация поглощения. Но для количества минеральных веществ, при которых проводилось культивирование, эта кинетика приемлема.

Удельная скорость роста является основным показателем динамики массы B :

$$\mu = \frac{dB}{Bdt},$$

отсюда динамика массы растений описывается уравнением:

$$\frac{dB}{dt} = \mu B. \quad (4)$$

Удельная скорость роста растений определяется лимитирующим элементом, если его концентрация невелика, в противном случае — скоростью энзиматической реакции лимитирующего звена метаболизма [10]. Увеличение массы растений происходит в клеточной среде, где созданы условия пропорционального присутствия всех необходимых субстратов, за внутриклеточную концентрацию которых частично ответственна клеточная мембрана.

В простейшем случае зависимость удельной скорости энзиматической реакции μ от концентрации субстрата S описывается формулой Михаэлиса–Ментен:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{(K_s + S)}, \quad (5)$$

где K_s — константа Михаэлиса — Ментен.

Скорость расхода минерального компонента на биосинтез можно определить исходя из следующих соображений. За время dt единица массы растения даст прирост dB , при этом потребуется количество минерального субстрата dS . Отношение dB/dS — это экономический коэффициент Y . Отсюда следует, что удельная скорость расхода минерального субстрата, находящегося в массе растений, на прирост новой массы равна:

$$\frac{dS^-}{dt} = \frac{dB}{dt} \cdot \frac{dS}{dB} = \frac{\mu}{Y}. \quad (6)$$

Скорость изменения концентрации минерального субстрата в массе растений dS/dt представляет собой разность между удельной скоростью поглощения его из среды dS^+/dt и скоростью расхода на биосинтез dS^-/dt .

$$\frac{dS}{dt} = \frac{dS^+}{dt} - \frac{dS^-}{dt}.$$

Тогда удельную скорость изменения концентрации минерального субстрата растений нужно описать уравнением:

$$\frac{dS}{dt} = (KC + K_0) - \frac{\mu}{Y}. \quad (7)$$

Таким образом, получена система трех дифференциальных уравнений:

$$\begin{cases} \frac{dC}{dt} = -(KC + K_0) \cdot B, \\ \frac{dS}{dt} = (KC + K_0) - \frac{\mu_{\max} S}{Y(K_s + S)}, \\ \frac{dB}{dt} = \frac{\mu_{\max} BS}{(K_s + S)}. \end{cases} \quad (8)$$

Для численного решения системы уравнений (8) необходимо знать значения ее коэффициентов: K и K_0 , μ_{\max} , K_s , Y , начальные значения величин концентрации минеральных веществ в среде C_0 , массе растений S_0 , плотность массы B_0 , а также задать шаг интегрирования.

Шаг численного интегрирования уравнения был задан равным $1/24$ сут. Значения коэффициентов K и K_0 найдены по методу наименьших квадратов из зависимостей удельной скорости поглощения минеральных субстратов от их концентрации в среде (рис. 2), которая составила: для азота $K = 0,018$ и $K_0 = 0,073$; для фосфора $K = 0,015$ и $K_0 = 0,167$.

Из аппроксимированных экспериментальных данных определены начальные значения концентрации азота и фосфора в среде: $C_{N_0} = 10,73$ и $C_{P_0} = 31,10$ мг/л, а также начальная масса растений: $B_0 = 4,00$ г/л.

Коэффициенты μ_{\max} , K_s , Y и S_0 были найдены с помощью метода покоординатного спуска (табл. 1).

Таблица 1. Коэффициенты для решения системы линейных уравнений

Биогенные элементы	K	K_0	μ_{\max} , сут ⁻¹	K_s , мг/л	Y , мг/кг
N-NO ₃	0,018	0,073	$7,178 \cdot 10^{-3}$	24,75	496
P-PO ₄	0,015	0,167	$7,31 \cdot 10^{-3}$	42,35	175

При численном решении системы уравнений были следующие ограничения:

$$B \geq 0; C \geq C_{\min}; S \geq 0.$$

Если $C \leq C_{\min}$, то $dC/dt = 0$.

Если $S \leq 0$, то $dS/dt = 0$.

Численное решение этой системы уравнений для азота и фосфора представлено на рис. 3. Зависимость удельной скорости поступления питательного вещества в массу растения от его концентрации в питательной среде близка к прямо пропорциональной (см. рис 2).

Начальная концентрация азота N_{S_0} и фосфора P_{S_0} в массе водного гиацинта составила 8,62 и 11,22 мг/кг соответственно. На 4–5-е сут эксперимента концентрация азота $N_{S_{\max}}$ и фосфора $P_{S_{\max}}$ достигла своих максимальных значений: 14,31 и 22,28 мг/кг. В этом промежутке времени наблюдался экспоненциальный рост.

Уменьшение концентрации минеральных веществ в среде привело к уменьшению их поступления в массу растений. В этот промежуток времени наблюдается линейная фаза роста. На 10–13-е сут ресурсы питательной среды были исчерпаны, и поток питательных веществ из среды прекратился. При этом рост растений продолжался за счет собственных ресурсов. Отсутствие питательных веществ в среде и, как следствие, прекращение их поступления в клетку привело к резкому падению их концентрации в массе (на рис. 3 отмечено вертикальной прямой), что в свою очередь обусловило падение скорости роста растений. Наступила фаза замедления роста. На 25-е сут концентрация питательных веществ в растениях достигла минимальных значений, которые для азота

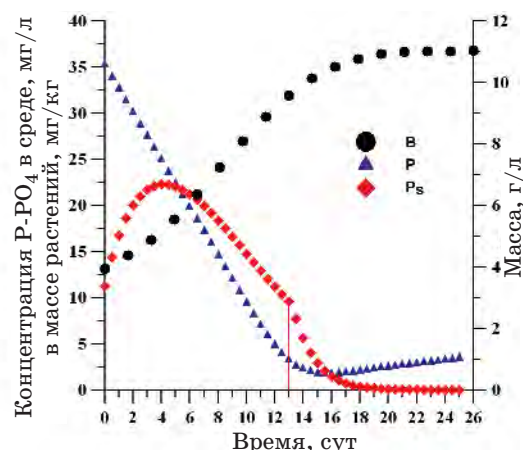
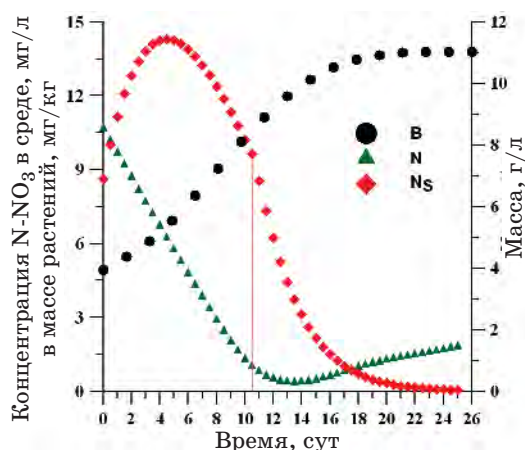


Рис. 3. Динамика массы *E. crassipes*, концентрации минерального субстрата в с/х сточной воде и в массе растений

N_{Smin} и фосфора P_{Smin} составили 0,04 и 0,002 мг/кг соответственно, что привело к прекращению роста водного гиацинта ($\mu = 0$). Отсутствие лаг-фазы роста объясняется высоким начальным уровнем биогенных элементов в массе растений.

Таким образом, поглощение минерального субстрата из среды водным гиацинтом и рост его массы — это два взаимосвязанных процесса. Связующим звеном является накопление и использование минеральных биогенов растениями. Следовательно, модели, игнорирующие этот факт, не отражают по крайней мере двух явлений, наблюдаемых в природе: 1) скорость роста водных растений и потребления питательных веществ может

быть различной, в частности, скорость потребления может существенно превышать скорость роста (при переносе растений из обедненной в обогащенную питательными веществами среду); 2) рост растения продолжается при очень низкой концентрации ресурсов в среде или при их непродолжительном отсутствии. Используя численный метод решения системы трех дифференциальных уравнений, определена концентрация биогенных элементов питания в массе растений. Первое уравнение описывает динамику концентрации минерального элемента в среде, второе — баланс его концентрации в массе и третье — динамику накопления массы растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горбунова С. Ю., Фомин Н. В. Экспериментальное исследование роста водного гиацинта *Eichornia crassipes* // Экология моря. — 2010. — Спец. вып. №80: Биотехнология водорослей. — С. 41–43.
2. Печуркин Н. С. Популяционная микробиология. — Новосибирск: Наука, 1978. — 277 с.
3. Рубин А. Б. Биофизика: В 2 т. — М.: Мир, 2002.
4. Monod J. The growth of bacterial cultures // Ann. Rev. Microbiol. — 1949. — N 3. — P. 371–394.
5. Силкин В. А., Хайлов К. М. Биоэкологические механизмы управления в аквакультуре. — Л.: Наука, 1988. — 230 с.
6. Фурсова П. В., Левич А. П. Математическое моделирование в экологии сообществ // Пробл. окр. среды. — 2002. — № 9. — С. 82.
7. Волькенштейн М. В. Общая биофизика. — М.: Наука, 1978. — 592 с.
8. Основы биохимической инженерии: Пер. с англ.: В 2 ч. — М.: Мир, 1989. — Ч. 1. — 692 с.
9. Демидович Б. П., Марон И. А. Основы вычислительной математики. — М.: Наука, 1970. — 664 с.
10. Тренкеншу Р. П. Кинетика метаболических реакций при различной организации узкого места. — Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2005. — 91 с.

**КІНЕТИКА СУБСТРАТЗАЛЕЖНОГО
РОСТУ ВОДЯНОГО ГІАЦИНТА
Eichornia crassipes (Martius.)**

*С. Ю. Горбунова
М. В. Фомін*

Інститут біології південних морів
НАН України, Севастополь

E-mail: svetlana_8423@mail.ru

Досліджено кінетику субстратзалежного росту водяного гіacinта *Eichornia crassipes* (Martius.) при вирощуванні його на с/г стічних водах у нестационарних умовах накопичувального режиму культивування. Встановлено, що поглинання мінерального субстрату із живильного середовища водяним гіacinтом і зростання його маси — це два взаємозв'язані процеси. Сполучною ланкою є накопичення та використання мінеральних біогенів рослинами.

Розроблено модель кінетики росту водяного гіacinта. Використовуючи чисельний метод рішення системи трьох диференціальних рівнянь, визначено концентрацію біогенних елементів живлення в масі рослин. Перше рівняння описує динаміку концентрації мінерального елемента в живильному середовищі, друге — баланс його концентрації в масі, третє — динаміку накопичення маси рослин. Розраховано мінімальні значення концентрації азоту і фосфору в живильному середовищі, нижче яких поглинання водяним гіacinтом інших елементів стає неможливим. Встановлено, що залежність питомої швидкості надходження поживних речовин в рослину від їхньої концентрації в живильному середовищі близька до прямо пропорційної. Визначено коефіцієнти моделі та початкові умови дослідження.

Ключові слова: водяний гіacinт, стічні води, біогенні елементи, кінетика росту.

**KINETICS OF SUBSTRATE-DEPENDENT
GROWTH OF WATER HYACINTH
Eichornia crassipes (Martius.)**

*S. Yu. Gorbunova
N. V. Fomin*

Institute of Biology of the Southern Seas
of National Academy of Sciences of Ukraine,
Sevastopol

E-mail: svetlana_8423@mail.ru

Kinetics of substrate-dependent growth of water hyacinth *Eichornia crassipes* (Martius.) during the growth its on agricultural wastewater under unsteady conditions accumulation mode of cultivation has been investigated. It is established that mineral uptake of substrate from the medium by water hyacinth and its mass growth — two interrelated processes. The connecting link is the accumulation and use of mineral nutrients by plants. Model of water hyacinth growth kinetics has been developed. Using a numerical method for solving of three differential equations systems, the concentrations of nutrients in the food plant mass has been identified. The first equation describes the dynamics of mineral elements concentrations in the environment, the second — the balance of its concentration in the bulk and the third — the dynamics of accumulation of plant mass. Minimum concentrations of nitrogen and phosphorus in the nutrient medium has been calculated, the absorption other elements by water hyacinth below its values are impossible. It is established that the dependence of specific input rate of nutrient in the plant from its concentration in the nutrient medium is almost directly proportional. Model coefficients and initial conditions of the experiment have been determined.

Key words: water hyacinth, sewages, biogen elements, kinetics of growth.