
3. Funkcionalna biomasa in prilagoditveni odziv populacij alg z različno stopnjo strukturiranosti (od *turfa* do *canopya*)

Delovna skupina

Odgovorna oseba: dr. Laura TALARICO

Sodelavka: univ. dipl. Paola FRISENDA

Uvod

Z ekofiziološkimi študijami lahko različne vrste alg razdelimo na osnovi njihove sposobnosti vpijanja in izkoriščanja svetlobe (vpadna obsevalna energija).

Za bentonske vrste je posebej pomembno prilagajanje pogojem, ki prevladujejo v njihovem naravnem okolju, kot sta spektralna sestava svetlobe (barva) in sevanje PAR (Talarico & Domevscek, 1990; Talarico *et al.*, 1991; Talarico & Cortese, 1991; Talarico & Cortese, 1993; Talarico, 1996; Talarico, 1999; Talarico & Maranzana, 2000; Talarico *et al.*, 2001; Frisenda & Talarico, 2003; Frisenda & Talarico, 2005; Bolzan & Talarico, 2006; Frisenda & Talarico, 2006).

Alge rade kolonizirajo okolja, kjer lahko dosežejo najboljše rezultate fotosintetične produktivnosti. Omeniti velja, da na količino in kakovost fotosinteze vpliva svetlobno spreminjanje v okolju in da le-to lahko povzroča spremembe fiziologije, rasti in strukture populacije. V tem smislu so fotoaklimatacija in odgovori na svetlobo kakor tudi sposobnost aktiviranja procesov fotoinhibicije/fotozaščite (Figueroa *et al.*, 2003) ključnega pomena za razumevanje razvrstitev in produktivnosti makroalg na podvodnih substratih (naravnih in umetnih).

Preko fizioloških, biokemijskih in nadstrukturalnih analiz (t.i. avtoekološki pristop) se lahko preučijo različne strategije prilagajanja, ki jih uporabljajo makroalge na peščeni plitvini pri Križu.

Cilji

Da bi preverili sposobnosti fiziološke adaptacije svetlobnim pogojem (Talarico & Domevscek, 1990; Talarico *et al.*, 1991; Talarico & Cortese, 1991; Talarico & Cortese, 1993; Talarico, 1996; Talarico, 1999; Talarico & Maranzana, 2000) na peščeni plitvini pri Križu (Talarico *et al.*, 2001; Frisenda & Talarico, 2003; Frisenda & Talarico, 2005; Bolzan & Talarico, 2006; Frisenda & Talarico, 2006) in s tem

fotosintetične sposobnosti pionirskih ali dominantnih vrst na celotni umetni plošči, smo opravili funkcionalno študijo o tako imenovanih 'tufted filamentous algae', o koralinskih algah Corallinales in o nekaterih 'ciljnih vrstah' (*Rhodymenia pseudopalmata*, *Ceramium flaccidum*, *Zanardinia typus*, *Cutleria multifida*, *Dictyota dichotoma*). Istočasno smo izpolnili delovne pristope za ocenitev evolucijske stopnje apnenčastih alg v umetnem gojišču (po inducirani in naravni reprodukciji) in *in situ*.

Poleg tega smo naredili prvi ekofiziološki screening makroalg, izbranih zaradi njihove visoke dosegljivosti in prisotnosti v nekaterih obalnih krajih v Tržaškem zalivu. Svetlobi (PAR sevanju) najbolj prilagodljive vrste bomo lahko uporabili za bodoče posege na peščeni plitvini pri Križu z inducirano in/ali prisiljeno kolonizacijo, ki lahko poveča biotsko raznovrstnost.

Metodološki oris

Vzorci smo nabrali med potapljanjem z 'acqualung' (D.S. Bressan, Di Pascoli) na postaji (piramidi) D3, in sicer na treh globinah (globina 1 = 7 ± 1 m; globina 2 = 10 ± 1 m; globina 3 = 12 ± 1 m).

Steljke smo (v temi in pri temperaturi 10°C) takoj prenesli v laboratorij za fiziološke in biokemične analize.

Saturacijske krivulje. Slednje smo pridobili z merjenjem fotosintetične aktivnosti (Oxylab - HANSATECH DW 3 polarographic electrode) vzorcev, ki jih smo izpostavili rastočim svetlobnim sevanjem ($0-900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Krivulje P/I smo pridobili z interpolacijo eksperimentalnih podatkov s teoretičnimi, po enačbi $P = P_{\text{max}} \cdot [(I/I_k) / \sqrt{1 + (I/I_k)^2}]$. Parametri P_{max} ($\text{mmol O}_2 \text{ ml}^{-1} \text{ min}^{-1}$), I_k ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) in α (kotni količnik) kažejo produktivnost in fotoaklimatizacijske značilnosti.

Fotosinteza/Dihanje Fotosintetično delovanje in dihanje ($\text{mmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{PS}$) smo ocenili kot proizvodnjo/uporaba kisika (Walker, 1987) (Oxylab - HANSATECH DW 3 polarographic electrode).

Fotosintetična učinkovitost S pomočjo merjenja inducirane fluorimetrije (PAM) (FMS1 HANSATECH Instr.) so se pridobili naslednji parametri: (F_v/F_m), (F_v'/F_m'), (ΦPSII), (ETR) e (NPQ) (Genty *et al.*, 1989).

Pigmenti, topljivi v lipoidih. Totalni klorofil (chl *a*) in totalni karotinoide (car) so se iz vzorcev alg pridobili s pomočjo homogenizacije v 80% acetonu (v/v) in 24-urne difuzije (v temi, pri temperaturi 4°C). Po centrifugiranju (10 minut – 18.000 obratov na minuto) smo merili surnatant (snov, plavajočo na površini) s spektrofotometrom

(Perkin Elmer UV-VIS 554) na valovni dolžini λ_{\max} 665 nm. Koncentracijo totalnega chl *a* (mg g⁻¹ PS) smo izračunali po Kosovelu in Talaricu (1979). Koncentracijo car-ov (mg g⁻¹ PS) smo izračunali s Richardsovim (1952) koeficientom ugasnitve.

Vodotopni pigmenti. Fikoeritrin (PE), fikocianin (PC) in alofikocianin (APC) smo pridobili iz delov steljk s pomočjo homogenizacije v fosfatnem pufru 50 mM s pH6,8 in 24-urne difuzije (v temi, pri temperaturi 4°C). Po centrifugiranju (15 minut – 18.000 obratov na minuto) smo merili surnatant (snov, plavajočo na površini) s spektrofotometrom (Perkin Elmer UV-VIS 554) na valovnih dolžinah λ_{\max} 565 nm za R-PE, λ_{\max} 615 nm za R-PC in λ_{\max} 650 nm za APC (Talarico, 1990). Izračun koncentracij smo izvedli po MacCollu in Gurad-Friaru (1987).

Opombe o nadstrukturi. Nekateri vzorci iz mediolitorala so se na terenu predhodno fiksirali v 6 % raztopini GTA v filtrirani morski vodi (millipore 0,22 μ m), nato fiksirali v 6 % raztopini GTA z disaharidom in rdečim rutenijem v fosfatnem pufru 0,1 M s pH7,2, in še fiksirali v 1% OsO₄ v fosfatnem pufru, dehidrirali v acetonski seriji in vstavili v smolo Spurr. Sekcije (LKB Ultratome III 8800) so se dvakrat pobarvale (Pb/U) in opazovale z električnim transmisijemskim mikroskopom (Philips EM 201). Vse analize smo izvedli na treh ponovitvah, tako da so se opravile neodvisne meritve in izračunala povprečna in relativna DS (\pm).

Rezultati

Makroalge

Za eksperimentiranje smo izbrali kot vzorce 14 vrst med algami Chlorophyceae, Rhodophyceae in Phaeophyceae (Tab. 3.1), prisotnih na peščeni plitvini pri Križu in različnih obalnih krajih.

Saturacijske krivulje

Peščena plitvina pri Križu. Rezultati kažejo, da sta parametra P_{\max} za vrste (Tab. 3.2), ki so bile odbrane na globini 7m, in I_k precej nestalna. Zanimivo je, da *Ceramium flaccidum* (Sl. 3.1b) in *Dictyota dichotoma* (Sl. 3.1c), nimata visokega I_k , čeprav kažeta visoke vrednosti P_{\max} , kar pomeni, da se dobro prilagajata nizkemu svetlobnemu sevanju. *Rhodymenia pseudopalmata* (Sl. 3.1a) in *Pneophyllum fragile* (Sl. 3.1g), ki kažeta visoke vrednosti za P_{\max} in I_k , učinkovito izkoristita visoko in nizko svetlobno sevanje. Nasprotno, *Bryopsis plumosa* (Sl. 3.1d), *Cutleria multifida* (Sl. 3.1e) in *Zanardinia typus* (Sl. 3.1c) kažejo nizke vrednosti za P_{\max} in I_k , kar pomeni, da so prilagodljive nizkemu svetlobnemu sevanju, vendar imajo slabo fotosintetično učinkovitost.

Obalne vrste. Opaziti je, da so se vzorci, odbrani na mediolitoralnem predelu, bolje prilagajali visokemu svetlobnemu sevanju (visoke vrednosti za I_k) (Tab. 3.3) (Sl. 3.2a - g). Kljub temu se zdi, da vse vrste ne morejo izkoristiti svetlobe (kot količina PAR) za učinkovito fotosintezo. Pri visokih vrednostih parametra I_k so vrednosti parametra P_{max} visoke samo pri *Corallina officinalis* (Sl. 3.2e) in *Ulva laetevirens* (Sl. 3.2a). Vendar bi kotni količnik ($\alpha < 45^\circ$) krivulj vseh vrst kazal na možnost adaptacije tudi nizkemu svetlobnemu sevanju.

Fotosinteza / dihanje/ fotosintetična barvila

Analize smo izvedli tako, da smo vzorce izpostavili sevanju PAR, merjenemu na globini, kjer so bili nabrani (dejansko proizvajanje) zatem pa smo jih ponovili pri rahlo nižjem svetlobnem sevanju kot saturacijskem (Tab. 3.2). S tem smo želeli preveriti fotosintetični potencial (potencialno proizvajanje ali produktivnost) (Talarico *et al.*, 2002). Odločili smo se preučiti odziv vrste *Ceramium flaccidum* in vseh 'turfov', tako da smo jih najprej razdelili in jih nato ločeno analizirali (*Bryopsis plumosa* in *Rhodymenia pseudopalmata*).

Ceramium flaccidum. Dihanje je kazalo precejšnjo stabilnost ($0,4 \text{ mmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PS}$) v globini 8 in 10m ter močno povečanje ($0,9 \text{ mmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PS}$) v globini 13m. Nasprotno je bila fotosinteza večja (do $0,3 \text{ mmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PS}$) na globini 10m, kjer je proizvajanje večje in poraba kisika manjša, zato so fiziološki procesi bolj uravnoteženi (Sl. 3.3a). Pod saturacijsko svetlobo ($600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Sl. 3.3b) smo opazili približno 50-odstotno zmanjšanje vrednosti. Dihanje je potekalo podobno, kot je opisano zgoraj, medtem ko se je fotosinteza večala enakomerno z večanjem globine (od $0,08$ do $0,20 \text{ mmol O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ PS}$). V tem primeru se je pokazalo, da vzorci, ki so rasli v večjih globinah, so bolj fotosintetično učinkoviti in imajo boljšo fotoadaptacijo, če so izpostavljeni višjemu svetlobnemu sevanju, kot steljke, ki jih smo jemali v drugih globinah (Talarico & Domevscek, 1990; Talarico *et al.*, 1991; Talarico *et al.*, 2001).

Koncentracije chl *a* so nihale med minimalnimi $0,9 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ (globina 1) in maksimalnimi $1,2 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ (globina 3), medtem ko so bili car stalni (pribl. $0,5 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$) (Sl. 3.4a). Visoke vrednosti za R-PE in R-PC, ki sta naraščala do $4 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ in $9 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$, pri vzorcih iz večjih globin (12m) in stabilnost APC ($2 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$) (Sl. 3.4b) kažejo, da se alge *C. flaccidum* bolje prilagajajo kakovosti (barvna adaptacija) kot količini svetlobe (Talarico 1996; Talarico & Maranzana 2000; Bolzan & Talarico, 2006).

'Turfi' (*B. plumosa* in *R. pseudopalmata*). Turf je bil opazen predvsem na vodoravnih potopljenih površinah (na globinah 1 in 2), najverjetneje zaradi slabe prosojnosti vodnega stolpca, ki so jo povzročale lebdeče snovi (takšne razmere

niso značilne za ta mesec.). Rezultati kažejo, da sta bila fotosintetično delovanje in dihanje podobna pri vzorcih, izpostavljenih svetlobi na terenu (Sl. 3.5a), in tistih, izpostavljenih saturacijski svetlobi (Sl. 3.5b). Oba procesa sta se večala z večanjem globine in sta dosegla vrednosti (poraba_{max} = 3 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS in proizvodnje_{max} = 2,5 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS), ki so bile znatno višje kot pri algi *C. flaccidum*. Pomanjšanje proizvodnje kisika, ki smo ga opazili pod saturacijsko svetlobo, je lahko povzročilo izpostavljanje pretiranemu (več kot dvakratnemu) svetlobnemu sevanju v primerjavi z naravnim. V tem primeru bi pomanjšanje fotosintetičnih aktivnosti sprožilo fotozaščitne procese. Količina barvil, topljivih v lipidih (chl *a* in car), je ostala pri vseh vzorcih stalna (Sl. 3.6).

Bryopsis plumosa. Medtem ko je bila poraba kisika visoka v globinah 8 in 10m (do 0,9 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS) in se je zmanjšala v globini 12m (0,2 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS), je fotosinteza ostala stalna (0,2 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS). Ravnotežje med procesoma je bilo doseženo na globini 12m (Sl. 3.7a). Enako je bilo opaziti pod saturacijski svetlobi (Sl. 3.7), vrednosti pa so bile precej nizke, (poraba_{max} = 0,20 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS in proizvodnje_{max} = 0,09 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS). Vsebina chl *a* in car je bila stalna pri vseh vzorcih (približno 3 mg g⁻¹ PS in 1 mg g⁻¹ PS) (Sl. 3.8).

Rhodomyenia pseudopalmata. Medtem ko se je dihanje rahlo spreminjalo na treh globinah, (od 0,3 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS do 0,4 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS), se je fotosinteza linearno povečala s povečanjem globine do maksimalnih vrednosti 0,1 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS (Sl. 3.9a). Znatno povečanje (> 50%) proizvodnje kisika, ki ga je bilo opaziti pod saturacijsko svetlobo (Sl. 3.9b), je kazalo na večjo fotoadaptacijo in odlično fotosintetično učinkovitost pri nizkem kakor tudi pri visokem svetlobnem sevanju, kar je razvidno iz saturacijske krivulje z vrednostjo $\alpha \geq 45^\circ$ (Sl. 3.1a).

Chl *a* je nihal med minimalnimi 2 mg g⁻¹ PS (globina 1) in maksimalnimi 6 mg g⁻¹ PS (globina 2), car pa od 0,5 mg g⁻¹ PS (globina 1) do 2 mg g⁻¹ PS (globina 2) (Sl. 10A). Visoke vsebine R-PE in R-PC (do 15 mg g⁻¹ PS in 25 mg g⁻¹ PS) pri vzorcih iz globine 3 in stabilnost APC (pribl. 7 mg g⁻¹ PS) (Sl. 3.10b) pomenijo, da se vrsti *C. flaccidum* in *R. pseudopalmata* barvno adaptirata (Talarico 1996; Talarico & Maranzana 2000; Bolzan & Talarico, 2006).

Phaeophyceae. Da bi ocenili prispevek rjavih alg k produktivnosti, smo opravili vzorčenje treh vrst, ki so predstavljale največjo biomaso v smislu pokrivanja površine (*Z. typus*, *D. dichotoma* in *C. multiformis*, na globini 8m, 10m in 13m). Iz grafov (Sl. 3.11a - b) je razvidna stalnost količine kisika, porabljene v treh globinah, in večja produktivnost (fotosintetično delovanje) pri algi *D. dichotoma* (globina 2),

in sicer tako pod globinsko svetlobo kot tudi pod saturacijsko svetlobo (0,2 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS in 0,6 mmol O₂ min⁻¹ g⁻¹ PS).

Vsebina fotosintetičnih barvil je bila 0,9 mg g⁻¹ PS (chl *a*) in 0,5 mg g⁻¹ PS (car) pri vrstah *Z. typus* in *D. dichotoma* ter 1,5 mg g⁻¹ PS (chl *a*) in 0,9 mg g⁻¹ PS (car) pri *C. multifida* (Sl. 12).

Fotosintetična učinkovitost (fluorimetrija PAM)/ fotosintetična barvila

Rezultati so pokazali, da je bil količinski donos večji pri rjavih algah kot pri kalcitnih in rdečih, in sicer na vseh globinah. Optimalni količinski donos pa je bil visok tako pri rjavih kot pri rdečih algah, še posebej pri vzorcih, ki jih smo vzeli v globini 10m (Sl. 3.13a). Manjša razlika med optimalnim količinskim in dejanskim donosom (Sl. 3.13b) bi pomenila, da tri skupine (rjave alge na globini 10m, kalcitne alge na treh globinah in rdeče na globini 7m) lahko učinkovito izkoriščajo svetlobo, ki jim je na voljo v teh globinah. Vrednosti količnika elektronskega prenosa - ETR (Sl. 3.13c) so namreč precej različne v treh skupinah alg. Pri rjavih algah so se vrednosti ETR zmanjševale s povečanjem globine, pri kalcitnih (razen na globini 2) so se povečevale, medtem ko se pri rdečih algah, znatno povečale na globinah 7 in 10m, na globini 13m pa močno zmanjšale.

Leto 2006 smo se odločili, da izvedemo analize v obdobju, ko so vrste (*Bryopsis plumosa*, *Rhodymenia pseudopalmata*, *Cutleria multifida*), prisotne na piramidi D3 najbolj številčne.

Variiranje treh glavnih parametrov (Fv/Fm, Fv'/Fm', ETR) (Sl. 3.14a - c) je kazalo, da se tri vzorčne vrste (*B. plumosa*, *R. pseudopalmata*, *C. multifida*) različno prilagajajo na količino svetlobe (svetlobno sevanje PAR) glede na globino in prosojnostjo vodnega stolpca. Natančneje je *B. plumosa* (Sl. 3.15) kazala visoke vrednosti za ETR na najmanjši globini (7m), ki so se z večanjem globine manjšale (9,94 v 7m, 5,33 v 12m), *R. pseudopalmata* (Sl. 3.16), minimalne vrednosti na globini 7 in 12m (1,53 in 3,16) in maksimalne na 10m, medtem ko sta bili vrednosti vrste *C. multifida* (Sl. 3.17) maksimalni na 7 in 12m (pribl. 16), minimalna pa na 10m (4,31). Razlika med optimalnim količinskim in dejanskim donosom (Sl. 3.18) kaže, da vrsti, ki lahko boljše izkoristita svetlobo, ki jim je na voljo, sta *R. pseudopalmata* na globini 10m in *C. multifida* na globini 12m. Ta rezultat, ki se zdi v nasprotju s fiziološkimi značilnostmi dveh vrst, lahko razlagamo s termoklino, ki je prisotna na globini 10m, kjer se beležijo tudi največje spremembe prosojnosti (visoka kalnost in manjše svetlobno sevanje). Zato lahko rdeče alge, ki imajo dodatne tipalke (fikobilisome), zajemajo in izkoriščajo valovne dolžine za fotosintezo, kar pa druge skupine alg ne morejo. Tudi vrednosti ΦPSII (Sl. 3.19) so kazale, da se rdeče alge bolje prilagodijo na globini 10m, vrsta *C. multifida* pa pri

največji globini. To je mogoče razumeti kot boljšo adaptacijo te vrste – kot tudi drugih alg *Phaeophyceae* – svetlobi, ki je značilna za hladna morja in severna ozemlja. Za algo *B. plumosa* so bile značilne stalne vrednosti Φ PSII na globini 7 in 10m, z rahlim povečanjem učinkovitosti na 12m. Vrednosti NPQ kažejo na visoke sposobnosti fotoinhibicije pri vseh vzorcih v najmanjši globini. Vrednosti, ki se približujejo ali presegajo 1 (za *Bryopsis* in *Cutleria*) pomenijo tudi začetek fotozaščite. Nasprotno je *R. pseudopalmata* kazala vrednosti, ki so zelo blizu ali manjše od 0,5 na vseh treh globinah in absolutni minimum na 10m. Ta rezultat potrjuje dobro učinkovitost fotosintetičnega procesa (Sl. 3.20), ki izhaja iz sposobnosti barvne adaptacije te in drugih rdečih alg (Talarico, 1996; Talarico & Maranzana, 2000; Bolzan & Talarico, 2006).

Fotosintetična barvila

Bryopsis plumosa. Koncentracije chl *a* so nihale med minimalnimi 1 mg g⁻¹ PS in maksimalnimi 2 mg 7g⁻¹ PS pri vzorcih, ki smo jih vzeli v globini 7 in 12m, medtem ko so bile vrednosti car stalne na globini 7 in 10m (pribl. 0,5 mg g⁻¹ PS), povečale pa so se na 12m (0,9 mg g⁻¹ PS) (Sl. 3.21).

Rhodomenia pseudopalmata. Vsebine chl *a* so bile precej visoke v primerjavi z drugimi vrstami in so dosegale maksimalno vrednost pribl. 2,5 mg g⁻¹ PS pri vzorcih, ki so rasli na globini 10m, medtem ko so car nihali med minimalno vrednostjo 0,3 mg g⁻¹ PS na 12m in maksimalno 0,8 mg g⁻¹ PS na 10m (Sl. 3.22A). Vsebina barvil, topljivih v lipidih, je imela isti potek, ki ga smo že prej opazili: vrednost APC je bila na 10 in 12m precej stabilna (pribl. 0,3 mg g⁻¹ PS) in povečana na 7m (0,6 mg g⁻¹ PS), vrednosti R-PC (od 1,4 mg g⁻¹ PS do 0,7 mg g⁻¹ PS) in R-PE (od 3,6 mg g⁻¹ PS do 5,8 mg g⁻¹ PS) pa so bile spremenljive (Sl. 3.22b).

Cutleria multifida. Pri tej vrsti so bile vsebine vseh barvil na splošno nizke z minimalnimi vrednostmi za vzorce v najmanjši globini (0,3 mg g⁻¹ PS za chl in 0,1 mg g⁻¹ PS za car) (Sl. 3.23).

Električna transmisijska mikroskopija (TEM)

Kot primer in za uvod so prikazane nekatere mikrofografije (Razpredelnica 1) o algi *Phaeophyceae*, ki smo jo vzeli v mediolitoralu in fiksirali *in situ*, da bi označili fiziološko stanje alge v trenutku vzorčenja. Za morfologijo steljke je značilna organizacija v kortikalni zunanji plasti, z majhnimi celicami, gosto in s kloroplasti (chl) bogato citoplazmo (cy), v notranji plasti pa z velikimi celicami, zelo bogatimi z vakuolami. Jedro (n), kloroplasti (chl) in mitokondri (m) so dobro strukturirani, prisotni so aktivni Golgijevi aparati (G) in številčni ribosomi (r), ki kažejo dobro biosintetično delovanje, predvsem za polisharide in proteine. Periferna razporeditev

številčnih dobro strukturiranih kloroplastov v zunanjih kortikalnih celicah pomeni dobre fotosintetične možnosti in pomanjkanje oksidativnih poškodb, ki jih povzroča preveliko svetlobno sevanje.

Rezultati

S saturacijskimi krivuljami smo lahko ocenili ekofiziološke značilnosti vzorčenih vrst na peščeni plitvini pri Križu kot tudi na obalnih krajih. Natančneje, parameter I_k , ki ima prednost, da je neodvisen od merilne enote za fotosintezo, se je izkazal kot odličen indeks za primerjanje fiziološkega stanja (fotoadaptacija) različnih vrst. Nizke vrednosti I_k , ki smo jih opazili pri nekaterih vrstah, t.j. *C. flaccidum* in *D. dichotoma*, kažejo zelo učinkovito izkoriščanje nizkih svetlobnih sevanj za proizvodnjo kisika (visoko P_{max}), bolj kot slabo fotosintetično učinkovitost pod visokim svetlobnim sevanjem (Henley, 1993). Vrsti *R. pseudopalmata* in *P. fragile* se lahko prilagodita tudi večjim sevanjem, značilnim za manjše globine. To pomeni, da imajo ti vrsti zelo širok razmik fotoadaptacije (Talarico 1996; Talarico & Maranzana 2000; Bolzan & Talarico, 2006).

Predhodna študija obalnih vrst je potrdila dobro prilagoditev visokim svetlobnim sevanjem, hitro aktiviranje fotoinhibicijskih in fotozaščitnih procesov s posledičnim zmanjšanjem proizvodnje kisika. Potek krivulj, popolnoma enak tistemu, ki se nanaša na nekatere vrste na peščeni plitvini (*B. plumosa*, *C. multifida* in *Z. typus*), kaže na morebitno sposobnost adaptacije tudi v pogojih nizkega svetlobnega sevanja.

Kar zadeva produktivnost, se največji prispevek pripisuje »turf-u« na vseh globinah, algam *C. flaccidum* na globini 10m in *R. pseudopalmata* na 10 in 12m. Rezultati, izvedeni pri algah *Ceramium* in *Rhodymenia*, ki so rasle na največji globini (12-13m) in so bile izpostavljene saturacijski svetlobi, so pokazali, da so se le-te sposobne boljše fotoadaptirati na teh globinah. Ko smo ločeno analizirali glavni (*B. plumosa*) in združeni del (*R. pseudopalmata*) alg 'tufted filamentous algae', dominantnih na celotni površini, smo ugotovili, da je med dvema vrstama alga *Bryopsis* bolj izpostavljena fotoinhibicijskim pojavom. Nasprotno *Rhodymenia* pri istih pogojih približno trikrat poveča primarno produkcijo, predvsem pri vzorcih, prilagojeni globini 10m.

Primerjava treh vrst alg Phaeophyceae (*Z. typus*, *D. dichotoma*, *C. multifida*) je izpostavila večjo proizvodnjo alge *Dictyota* na globini 10 m, kar se ujema z rezultati fluorimetrije (dejanska in možna maksimalna količinska učinkovitost). Od vseh vzorcev, analiziranih s to metodo, rdeče alge najbolj učinkovito izkoriščajo svetlobo, ki jim je na razpolago, na globini 7 in 10m, rjave alge na globini 10m, kalcitne pa na globini 13m. Torej ne gre spregledati dejstva, da je pri študijah

ekološkega značaja nujno upoštevati tako količino svetlobe PAR kakor tudi spektralno sestavo svetlobe. V naravnem okolju sta obe lastnosti zelo spremenljivi in v preteklosti sta imeli ključno vlogo pri evoluciji različnih vrst (Talarico & Domevscek, 1990; Talarico *et al.*, 1991; Talarico & Cortese, 1991; Talarico & Cortese, 1993; Talarico, 1996; Talarico, 1999; Talarico & Maranzana, 2000; Talarico & Bolzan, 2006).

Z metodološkega vidika sta uporaba tehnik fluorimetrije in izpopolnjevanje eksperimentalnih protokolov omogočali hitro izvajanje fizioloških analiz in relativno hitro opravljanje primerjave fotosintetične učinkovitosti (dejanske, optimalne in PSII) različnih vrst. Hitrost in primerjava sta bistvenega pomena za preseganje pomanjkljivosti avto- in so-ekoloških analiz, saj se tako razdalja med laboratorijem in terenom bistveno manjša in obratno. Medtem ko se pri oceni primarne produkcije s pomočjo oksimetrije pridobijo splošni podatki, ocena fotosintetične učinkovitosti s pomočjo fluorimetrije temelji na analitičnem ocenjevanju številčnih procesov, ki so vpleteni v proizvodnjo kisika. Možnost, da se oceni na primer učinkovitost elektronskega prenosa, omogoča boljše opredelitev različnih skupin alg. Podobno sta parametra Φ PSII in NPQ zelo uporabna za preverjanje, na kakšni globini lahko različne vrste maksimalno izkoriščajo svetlobo, ki jim je na voljo (PUR), brez energetske disperzije.

Uporaba nadstrukturnih tehnik pri ekofizioloških študijah omogoča, da se preveri in oceni ujemanje fizioloških in biokemičnih odzivov na spreminjanje svetlobe in morebitne celične spremembe. Tudi iz nadstrukturne analize je torej mogoče pridobiti dodatne podatke o prilagodljivosti različnih vrst na različnih globinah. Na primer, ugotovitve o celicah alge *Feoficea*, nabrane na obali (pri pogojih zelo visokega sevanja PAR) so pokazale visoko adaptacijsko sposobnost vrst, ki so tipične za globinsko in manj razsvetljeno okolje, kjer prevladuje »bolj energetska« sevanje.

Metodološki pristop za ocenitev fotosintetičnega delovanja in dihanja alg Corallinales v umetnem gojišču in in situ.

Fotosinteza/dihanje

Fiziološke analize, izvedene pri reproduciranih vzorcih (D.S. BRESSAN, DI PASCOLI) s pomočjo spontane osemenitve v Javnem Tržaškem Akvariju, ($T=15^{\circ}\text{C}$, $\text{PAR}= 20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, L:D=11:13), niso privedle do zadovoljivih rezultatov, ker je bilo fotosintetično delovanje kulturnega sredstva večje kot pri vzorcih (20 dni stare umetna gojišča) (Sl. 3.24). Zaradi interference heterotrofičnega (bakterijev) in mikrofitičnega dejavnika (predvsem diatomeje in

cianoficeje) kakor tudi majhnega števila razvitih celic kalcitna alga ni dobila dovolj O₂ ne za fotosintezo ne za dihanje.

Nadaljnjo eksperimentiranje smo izvedli v umetnih gojiščih, ki smo jih pridobivali s pomočjo inducirane osemenitve v laboratoriju, s termičnim šokom v kontroliranih pogojih (T=15°C, PAR=12 μmol m⁻² s⁻¹, L:D=10:14). Pred fiziološkimi analizami smo vzorce dali za 24 ur v filtrirano morskovo vodo (millipore 0,45 μm), ki se je stalno obnavljala, da bi se zmanjšali tuji (heterotrofični in avtotrofični) elementi. V tem primeru vpliv teh elementov v kulturnem sredstvu ni bil tolikšen, da bi razveljavil fiziološke meritve. (Sl. 3.25). Steljke so že 11 dni po osemenitvi kazale visoko fotosintetično aktivnost in dihanje (0,4 μmol O₂ ml⁻¹ min⁻¹ mm⁻²). Med rastjo sta se oba procesa zmanjšala do relativno nizkih vrednosti proizvodnje in porabe kisika v umetnih gojiščih, starih 5 mesecev (0,1 μmol O₂ ml⁻¹ min⁻¹ mm⁻²). Te vrednosti so bile zelo podobne tistim, ki smo jih izmerili pri odraslih steljkah, vzetih na peščeni plitvini pri Križu na globini 14m.

Fotosintetična učinkovitost (fluorimetrija PAM) alg Corallinales v umetnem gojišču

V umetnih gojiščih, starih mesec in 5 mesecev, je bila vrednost (Fv'/Fm') rahlo večja od (Fv/Fm), kar pomeni, da je bilo sevanje PAR, uporabljeno v sistemu umetnega gojišča, optimalno za maksimalno učinkovitost fotosintetičnega procesa. Vrednosti (obe > 0,7) kažejo tako na odsotnost »stresa«, ki ga povzroča svetlobo, kot pojavov fotohinibicije in/ali fotozaščite. (Sl. 3.26a). Pri odraslih vzorcih, rojenih na peščeni plitvini, so bile vrednosti (Fv/Fm) v treh globinah stalne, medtem ko je bila vrednost večja pri vzorcih, ki so rasli na globini 13m. Tudi ETR (Sl. 3.26b) je bil znatno večji, kar kaže na boljšo učinkovitost PSII.

Fotosintetična učinkovitost alg Corallinales in situ (bivanje na peščeni plitvini: 2 meseca)

Za vzorce, pridobljene preko inducirane osemenitve v laboratoriju (Dott.ssa Di Pascoli) in dva meseca obdržane na peščeni plitvini, so značilna zelo različna obnašanja, odvisno od globine, na katero so bili postavljeni in kjer so se prilagodili. Medtem ko je (Fv/Fm) (Sl. 3.27) nekoliko variirala (od 0,55 do 0,66) – to pomeni, da so bili vsi vzorci z vidika potencialnosti enaki, sta se (Fv'/Fm') - (Sl. 3.28) in ΦPSII (Sl. 3.29) večali enakomerno z večanjem globine (Fv'/Fm' od minimalno 0,001 do maksimalno 0,2 in ΦPSII od minimalno 0,082 do maksimalno 0,75). Kljub temu je bil ETR (Sl. 3.30) visok (>9) pri prilagojenih vzorcih na 10m kot tudi pri tistih, vzetih na 12m). Na teh dveh globinah svetlobno sevanje (171 in 105 μmol m⁻² s⁻¹) ni spodbudilo fotoinhibicije (NPQ<0,5), nasprotno kakor

sevanje ($306 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), merjeno na globini 7m, pri katerem je NPQ dosegel zelo visoke vrednosti (>1) (Sl. 3.31), ki verjetno kažejo na procese fotozaščite.

Fotosintetična učinkovitost alg Corallinales in situ (rast na peščeni plitvini: 5 mesecev)

Po petih mesecih rasti na proučevanem mestu so se parametri na splošno zmanjšali. Vrednote F_v/F_m (med 0,4 in 0,5) so vedno ostale nespremenjene (Sl. 3.32) pri vseh vzorcih, njihova učinkovitost pa nizka (F_v'/F_m' 3.33). Kljub temu da sta bili vrednosti $\text{NPQ}>0,5$ (Sl. 3.36) in $\Phi\text{PSII}>0,03$ (Sl. 3.34), je vrednost σ za ETR (Sl. 3.35) kazala na dobro delovanje fotosintetičnih procesov, predvsem za vzorce, ki so se prilagodili globini 10m.

Fotosintetična učinkovitost alg Corallinales in situ (rast na peščeni plitvini: 8 mesecev)

Samo za vzorce, vzete na globini 10m, so vse vrednosti, t.j. $F_v/F_m=0,7$ (Sl. 3.37), $F_v'/F_m'=0,8$ (Sl. 3.38), $\Phi\text{PSII}=0,15$ (Sl. 3.39), $\text{ETR}=18$ (Sl. 3.40) in $\text{NPQ}<0,5$ (Sl. 3.41) kazale dobro adaptacijo na količino svetlobe PAR in na splošne pogoje kraja. Kljub dobri fotosintetični potencialnosti ($F_v/F_m=0,6$ pribl.) pri vzorcih, pobiranih na globini 7m, vrednosti vseh parametrov kažejo na vzpostavitev fotoinhibicijskih procesov ($\text{NPQ}>1$ pod PAR sevanjem = $455 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), medtem ko pri vzorcih, pobiranih na globini 7m, se je zabeležila slaba učinkovitost PSII in posledično prav tako nizka vrednost ETR.

Rezultati

Za izvedbo poizkusa je bilo bistvenega pomena, da so bili vzorci v filtrirani vodi, preden se je opravila oksimetrična analiza. Samo na ta način je bilo mogoče odstraniti avtotrofični in heterotrofični dejavnik, ne da bi se pri tem oškodovala kalive ploščice. Fiziološke analize so v tej predhodni fazi kazale dobro adaptacijo steljk kulturnim pogojem ter takojšnja in stalna povečevanja fotosintetičnih odzivov. Zelo pomemben začetni rezultat je, da se v različnih stopnjah rasti fotosintetična aktivnost/dihanje lahko primerjata s površino, pokrito z algami (Di Pascoli *et al.*, 2006). Da bi se zaključila študija o algah Corallinales, se je poizkus nadaljeval z uporabo florimetrije (PAM), ker je neuničujoča metoda.

Rezultati so do sedaj spodbudni, ker vse prilagojene steljke v različnih globinah grebena kažejo dobro fotosintetično potencialnost, ne glede na letni čas. Kot se zdi, so na globini 10m pogoji za maksimalno učinkovitost celega fotosintetičnega postopka popolni. Na proučevanem primeru (-10m) in verjetno tudi na drugih globinah grebena so svetlobni pogoji v umetnem gojišču in nadaljnja ohranitev *in*

situ bistvenega pomena, ker se je Rhodophyta sposobna prilagoditi tako količini (PAR sevanju) kot kakovosti (enobarvnim sevanjem) svetlobe, ki jo ima na voljo (PUR) (Talarico & Domevscek, 1990; Talarico *et al.*, 1991; Talarico & Cortese, 1991; Talarico & Cortese, 1993; Talarico, 1996; Talarico, 1999; Talarico & Maranzana, 2000; Talarico *et al.*, 2001; Frisenda & Talarico, 2003; Frisenda & Talarico, 2005; Frisenda & Talarico, 2006).

Fiziološki rezultati, pridobljeni v laboratoriju z neuničujočimi analizami, bodo skupaj z ocenitvijo pokrivanja alg Corallinales, ki obdajajo greben, v daljšem časovnem obdobju omogočili ocenitev dejanskega prispevka te rastlinske komponente k produktivnosti proučevanega kraja.

Splošni rezultati

Integriran ekofiziološki pristop na terenu in v laboratoriju je zelo učinkovita metoda za ocenjevanje primarne produkcije z vidikov biomase/prekrivanja grebena, ker ponuja natančnejše podatke o pogojih, ki vzpodbujajo poselitev in razvoj vedno bolj bogatih in raznolikih populacij alg. Poleg tega je ta pristop zelo pomenljiv pri ocenitvi evolucije populacij alg, ki so dandanes poselile umetno podlago pri naravnih in/ali umetno ustvarjenih pogojih.