



TARTU ÜLIKOOL



INTENSIIVSE KULTIVEERIMISTEHNOLOOGIA VÄLJA TÖÖTAMINE,
KATSETAMINE JA EVALVEERIMINE AGARIKU *Furcellaria lumbricalis*
KINNITUMATA VORMI KASVATAMISEKS

Euroopa Merendus ja Kalandusfondi rakenduskava 2014-2020 meetme 2.1

„Vesiviljeluse innovatsioonitoetus“ projekti lõpparuanne

(projekt viitenumber 821017780004)

Toetuse saaja: Tartu Ülikool

Aruande koostaja: Tiina Paalme (TÜ Eesti Mereinstituut)

2020



Sisukord

1. Sissejuhatus	3
2. Agariku kultiveerimissüsteem	6
2.1. Kultiveerimiskompleksi asukoht	6
2.2. Kultiveerimissüsteemi tehniline kirjeldus	6
2.3. Kultiveerimissüsteemi energiakulu	12
3. Agariku kasvatamine kunstlikes tingimustes	13
3.1. Agariku kasvatamine laboritingimustes	13
3.2. Agariku kasvatamine kultiveerimissüsteemis	15
3.2.1 Agariku kultiveerimiskatse I	16
3.2.2 Agariku kultiveerimiskatse II	24
3.2.3 Agariku kultiveerimiskatse III	29
3.3. Metoodilised soovitused agariku kultiveerimiseks	35
3.4. Hinnang välja töötatud kultiveerimistehnoloogiale	36
4. Agariku ja teiste suurvetikaliikide kultiveerimise perspektiivid Eestis	37
5. Summary	39
6. Kasutatud kirjandus	40



1. Sissejuhatus

Suurvetikad on üheks tähtsamaks looduslikuks ressursiks meredes ja ookeanides. Traditsiooniliselt koguti suurvetikaid nende looduslikest kooslustest, kuid üha kasvav nõudlus nende järele viis looduslike ressursside üle eksploateerimisele ja sageli ka kadumisele (Kruk-Dowgiałło 1991; Kruk-Dowgiałło & Szaniawska 2008; Pedersen & Snoeijs 2001). Sellega seoses tekkis vajadus kunstliku kultiveerimise meetodite välja töötamiseks ja rakendamiseks. Kultiveerimismeetodite valimisel tuleb arvestada kultiveeritava vetikaliigi eripäraga, s.o eelkõige talluse morfoloogiaga ja regeneratsioonivõimega, paljunemisviisiga (vegetatiivne vs spooridega), kasvukiirusega ning tuleb välja selgitada, millised on liigi optimaalsed kasvutingimused: valgusnõudlus, temperatuuri tingimused, toitainete vajadus, vee liikumine (Titlyanov & Titlyanova, 2010; Lüning & Pang, 2003).

Suurvetikate kultiveerimise meetodid võib jagada kahte suurde rühma: ekstensiivne ja intensiivne kultiveerimine. Ekstensiivselt kultiveeritavad vetikad kasvavad (s.o looduslike suurvetikakoosluste eksploateerimine) või neid kasvatatakse nt merepõhjal või erinevatel kunstlikel substraatidel – köitel/võrkudel, spetsiaalsetes sumpades (s.o suurvetikate kunstlik kultiveerimine) nende looduslikus kasvukohas, kasutades ainult looduslikku valgust, soojust, veerežiimi ja toitaineid. Looduslike koosluste, kus domineerib üks vetikaliik, eksploateerimine on levinud kogu maailmas.

Alates 1950ndatest aastatest on katsetatud ligi 100 erineva suurvetikaliigi kunstliku kultiveerimisega, kuid tänapäeval kasvatatakse massiliselt vaid umbes tosinat liiki. 95% kultiveeritavate vetikate koguproduktioonist annavad *Laminaria* spp (kombu), *Undaria* spp (wakame), *Porphyra* spp (nori), *Eucheuma/kappaphycus* spp (cottonii) ja *Gracilaria* spp (ogonori) (Buchholz et al., 2012).

Intensiivse kultiveerimise puhul kasvatatakse vetikaid kas spetsiaalsetes mahutites (tsisternid, akvaariumid, basseinid) või väikestes looduslikes veekogudes (tiigid, laguunid, järved), kusjuures kasvatatakse kas looduslikku või kunstlikku valgustust, vajadusel toitaineid ja fütohormoone. Kõrge produktiivsuse tagamiseks, suurvetikate kultiveerimisel spetsiaalsetes mahutites, kasvatatakse vetikaid neile optimaalsetes kasvutingimustes – reguleeritakse või kontrollitakse valgustingimusi (sh valguse spektraalset koostist ja valguspäeva pikkust), vajadusel kasvatatakse väetisi, sageli rikastatakse vett CO₂ ja/või HCO₃-ga, kontrollitakse epifüütide kasvu ja vetikamaterjali tihedust, reguleeritakse veevahetust jne (Turan & Neori, 2010; Ugarte & Santelices, 1992; Israel et al., 2006; Haglund & Pedersen, 1993).



Eestis on ainsaks ekstensiivselt kultiveeritavaks suurvetikaliigiks punavetika *Furcellaria lumbricalis* (agarik) kinnitumata vorm, mille looduslikku kooslust Kassari lahes on ekspluateeritud alates eelmise sajandi 60ndatest aastatest (Trei, 1978; Paalme, 2013). *F. lumbricalis* kunstliku kultiveerimise meetoodika väljatöötamise ja katsetustega Väinameres alustati 2014. a. OÜ Vormsi Agar ja TÜ Eesti Mereinstituudi ühisprojekti “Kinnitumata punavetikakoosluse kunstliku kultiveerimise võimalikkus ning selle mõju Väinamere keskkonnaseisundile” raames. *F. lumbricalis* ehk agarik on väärtuslikuks tooraineks eelkõige geelistuvate polüsahhariidide (karrageenide) tootmisel (furcellaraan – E407), mida kasutatakse tänapäeval laialdaselt stabiliseeriva, paksendava ja geelistava ainenä valdavalt toiduainete, kosmeetika ja farmaatsiatööstuses. *F. lumbricalis* sisaldab ka arvestatavates kogustes R-fükoerütriini (0,1% kuivmassist) ning on seega selle pigmendi potentsiaalseks töenduslikuks toormeks (Tuvikene ja Robal, 2015). R-fükoerütriini kasutatakse loodusliku värvainena nii toiduainete, kosmeetika- kui ravimitööstuses ning meditsiinis ja biokeemilistes uuringutes fluorestsentsvärvainena.

Kinnitumata agarik on mitmeaastane, ainult vegetatiivselt paljunev, suhteliselt aeglase kasvuga punavetikaliik (Martin et al., 2006a,b; Kotta et al., 2008; Paalme et al., 2013). Kõrgeimad juurdekasvu väärtused on mõõdetud 4 m sügavusel Kassari lahes, vetika looduslikus kasvukohas, läbi viidud katsetes (Martin et al. 2006a,b).

Agariku juurdekasvu nii looduslikus punavetikakoosluses kui kunstliku kultiveerimise tingimustes määravad mitmed erinevad abiootilised ja biootilised keskkonnategurid, sh valgustingimused, veetemperatuur, toitained, koosluse struktuur. Abiootilistest keskkonnateguritest on agariku fotosüntees ja sellest sõltuvalt kasvukiirus kõige enam mõjutatud valgustingimustest so fotosünteesiliselt aktiivsest kiirgusest (PAR), mis jõuab läbi veesamba vetikani. Kirjanduse andmetel on agariku fotosünteesi valgusküllastusväärtuseks 116 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ (Johansson & Snoeijs, 2002). Biootilistest teguritest mõjutavad valgustingimusi vetikakihi paksus ja tihedus, mis korreleeruvad negatiivselt valgustingimustega vetikakihi sees, st mida paksem ja tihedam on vetikakiht, seda rohkem valgust neeldub selle pinnakihi ning allpool asuvate vetikateni jõudev valguse hulk ei ole enam piisav, et tagada nende kõrget fotosünteesilist aktiivsust (Kotta et al., 2008; Paalme et al., 2013). Läänemere suurvetikad sh punavetikad on reeglina suhteliselt hästi kohastunud madalate veetemperatuuridega. Agariku aktiivse kasvuperioodi algus aprillis näitab, et tema juurdekasv leiab aset juba suhteliselt madalate veetemperatuuride juures. Samas, kõrged veetemperatuurid ($>20^\circ\text{C}$) juulis-augustis, agariku aktiivse kasvuperioodi lõpus, kiirendavad



kindlasti vetikate kasvuga kaasnevaid lagunemisprotsesse, kuna viimased sõltuvad otseselt temperatuurist (Martin et al., 2006a,b).

Makrovetikad vajavad kasvu tagamiseks mitmeid erinevaid keemilisi ühendeid, millest olulisimad on lämmastiku ja fosforiühendid. Vetikad on võimelised omastama mereveest anorgaanilisi lämmastiku- ja fosforiühendeid (valdavalt nitraate ja fosfaate). Mitmeaastased vetikad, sh agarik, on võimelised talletama oma talluses piisavat toitainete varu (s.o sügis-talvisel perioodil, kui toitainete sisaldus merevees on kõrge), mille arvel tagatakse juurdekasv aktiivsel kasvuperioodil, kui toitainete kontsentratsioonid merevees on madalad (Paalme et al., 2011). Seega kogudes vetikamaterjali kavandatava kultiveerimiskatse jaoks varakevadel, ei ole toitainete lisamine kasvukeskkonda vajalik.

Läänemere regioonis eelnev kogemus suurvetikate kultiveerimiseks rakendades intensiivset kultiveerimismetoodikat praktiliselt puudub. Samuti ei ole osutunud edukateks katsed kasvatada agarikku Eesti rannikumere erinevates piirkondades väljaspool tema loodusliku koosluse levikuala. Seega kinnitumata agariku kultiveerimismetoodika väljatöötamine, mis võimaldaks kasvatada vetikat talle sobivates kunstlikes, juurdekasvu soodustavates tingimustes maismaal, vähendaks vähemalt osaliselt sinimajanduse arenguga kaasnevat võimalikku survet agariku unikaalsele looduslikule kooslusele meres.

Euroopa Merendus- ja Kalandusfondi rakenduskava 2014–2020 meetme „Vesiviljeluse innovatsioon“ projekti **Intensiivse kultiveerimistehnoloogia välja töötamine, katsetamine ja evalueerimine agariku *Furcellaria lumbricalis* kinnitumata vormi kasvatamiseks (07/2017 – 31/12/2019)** tegevuste oodatavaks tulemuseks (peamiseks eesmärgiks) oli toimiva ja praktikas kontrollitud kultiveerimistehnoloogia väljatöötamine, mida saab rakendada agariku *F. lumbricalis* kinnitumata vormi kasvatamiseks maismaal paiknevates loodusliku merevee läbivooluga ja kunstliku (kontrollitud) vaguskliimaga mahutites. Väljatöötatud meetoodika rakendamine peaks tagama agariku optimaalse juurdekasvu ja kvaliteedi kontrollitud kasvutingimustes.

Kultiveerimismetoodika välja töötamisel ja katsetamisel agariku kasvatamiseks loodud kunstlikes tingimustes (kultiveerimissüsteemis) toetuti lisaks projekti raames läbi viidud kasvueksperimentidele ka TÜ Eesti mereinstituudi varasemale kogemusele, s.o agariku kasvu/kasvatamist ja füsioloogiat ning neid mõjutavaid tegureid käsitletavatele eksperimentaaluuringutele (sh Kotta et al., 2008; Martin et al., 2006a,b; Paalme et al., 2011, 2013, 2017).

2. Agariku kultiveerimissüsteem

2.1 Kultiveerimiskompleksi asukoht

Agariku *Furcellaria lumbricalis* kinnitumata vormi kasvatamine viidi läbi OÜ Ristna sadam (Padise, Harju maakond; 59°16,24' N ja 23° 44,71' E) angaaris paiknevas kultiveerimissüsteemis (joonis 2.1.1).

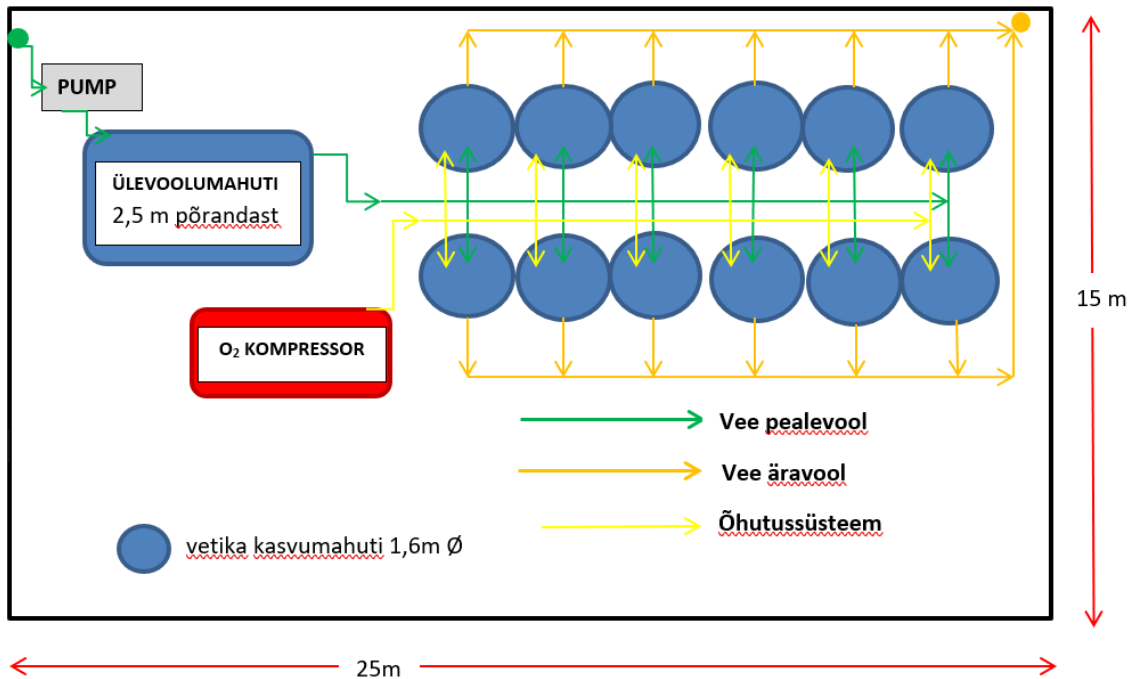


Joonis 2.1.1 Agariku kultiveerimiskompleks Ristna sadamas.

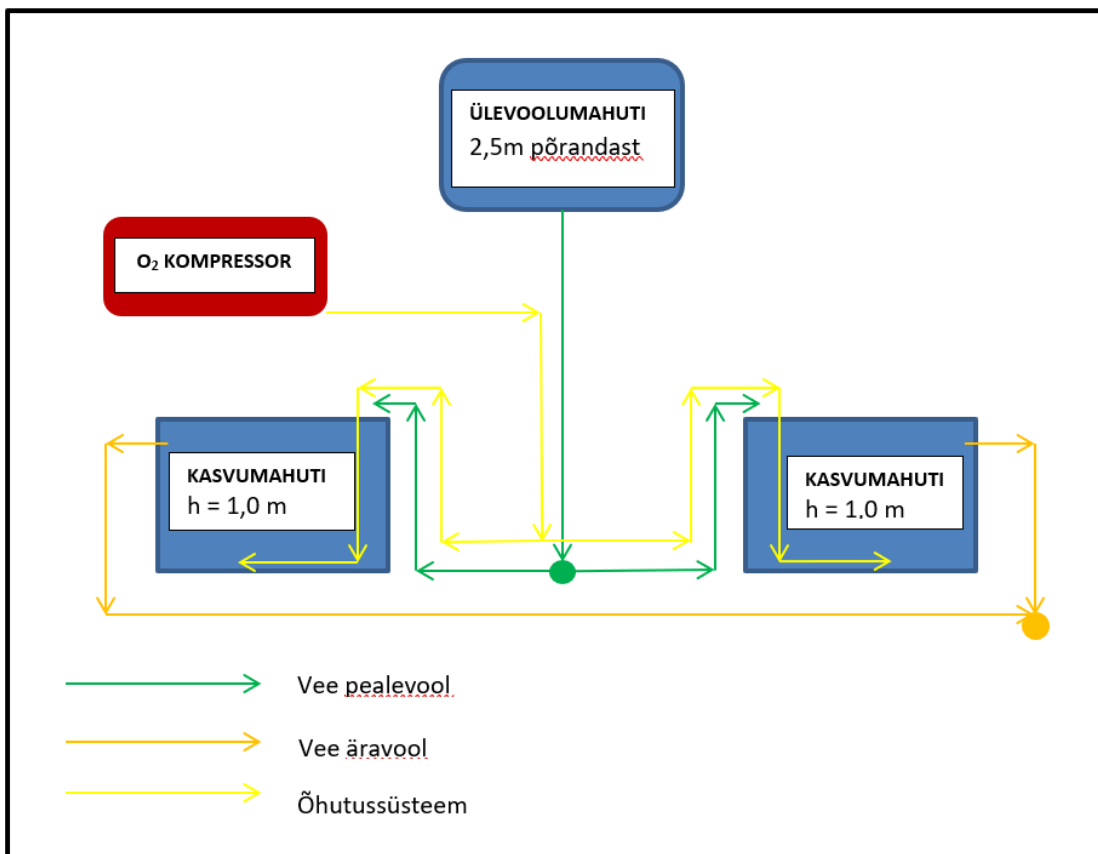
2.2 Kultiveerimissüsteemi tehniline kirjeldus

Projekti raames välja töötatud kultiveerimissüsteemi skeem on esitatud joonistel 2.2.1 ja 2.2.2). Angaaris (betoon põrand, seinad soojustatud *sandwich*-paneelidega) paiknev kultiveerimissüsteem koosnes kaheteistkümnest klaasplastist (keemiliselt ja bioloogiliselt neutraalsed, mittetoksilised vetikatele) vetikate kasvumahutist (joonis 2.2.3). Mahutite kõrgus oli 1 meeter ja diameeter 1,6 meetrit, mahuti seina paksus 8–10 mm. Vee (merevesi) väljavoolu ava oli mahuti külje peal 0,75m kõrgusel (mahuti põhjast arvestatuna; joonis 2.2.2).

Merevee pealevool (joonis 2.2.2) toimus mahuti serva kohalt ja sai alguse nn ülevoolumahutist. Ülevoolumahutina (Joonis 2.2.3) kasutati 5 m³ klaasplastist tsisterni diameetriga 1,2 m ja pikkusega 4,7 m, millel oli eemaldatud pealmine serv 1 m laiuselt ja 0,2 m sügavuselt, mis võimaldas paigaldada mahutisse siidid ja nendesse veevooluga risti asetsevad filterkehad (läbivate osakeste suurus maksimaalselt 0,5 mm). Lisa filterkehadena kasutati kasvumahutites vastavalt vajadusele (vees palju peenhõljumit, nt saviosakesi) väikseid akvaariumi filtreid (Eheim aquaball 180, 6 W , joonis 2.2.4).



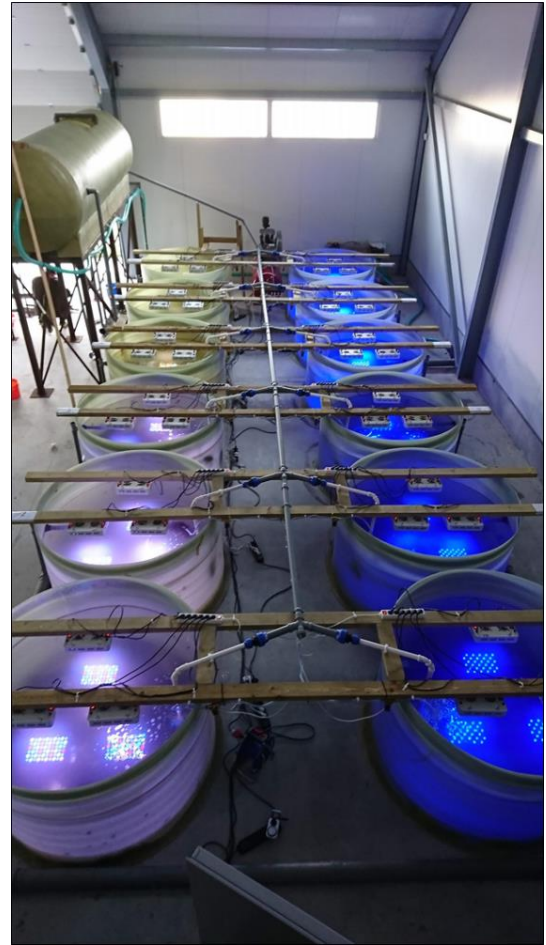
Joonis 2.2.1. Kultiveerimissüsteemi skeem (pealt vaates): kasvumahutite mahutite, veepumba ülevoolumahuti ja õhukompressori paigutus angaaris; vee pealevool/äravool.



Joonis 2.2.2. Kultiveerimissüsteemi skeem (küljvaates): vee pealevool, äravool ja õhutussüsteem.

Ülevoolu tünni paigaldati andurid veetasemete indikatsiooniks, andurid lülitasid vajadusel automaatselt merevee pumba välja (nt uputuse ohu korral või filtrite ummistumise tõttu). Ülevoolu tünn paiknes raudpukil (kandevõime vähemalt 5 tonni, arvestades vee erikaalu, kõrgus maapinnast 2,5 m; puki veemassi kandva osa pikkus 4 m ja laius oli 1 m). Puki külje peal ning väljuva torustiku kultiveerimissüsteemi poolses otsas paiknes ühe meetri laiune käimisala-rest.

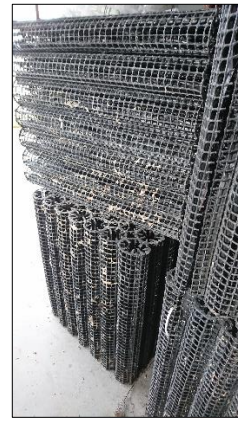
Kultiveerimissüsteemi varustas mereveega soolsust ja merevett taluv pump B2KQ-A/B (pronks korpus, 1,5 kW, 230V, tootlikkus 80 l/min; joonis 2.2.5). Pump oli varustatud põhjavee tagasivooluklapiga ning filterkehaga imitoru otsas, kasutades filterriidega kaetud Bioblok 150 tüüpi kargkehasid (kasutatakse kalakasvatustes vee aereerimisel; joonis 2.2.5), mis tagas esmase makroosakeste (nt lahtine vetikas) eemaldamise. Pumba imiots oli paigaldatud meres ca 2 meetri sügavusele.



Joonis 2.2.3. Vetikate kasvamahutite ja ülevoolumahuti paigutus angaris.

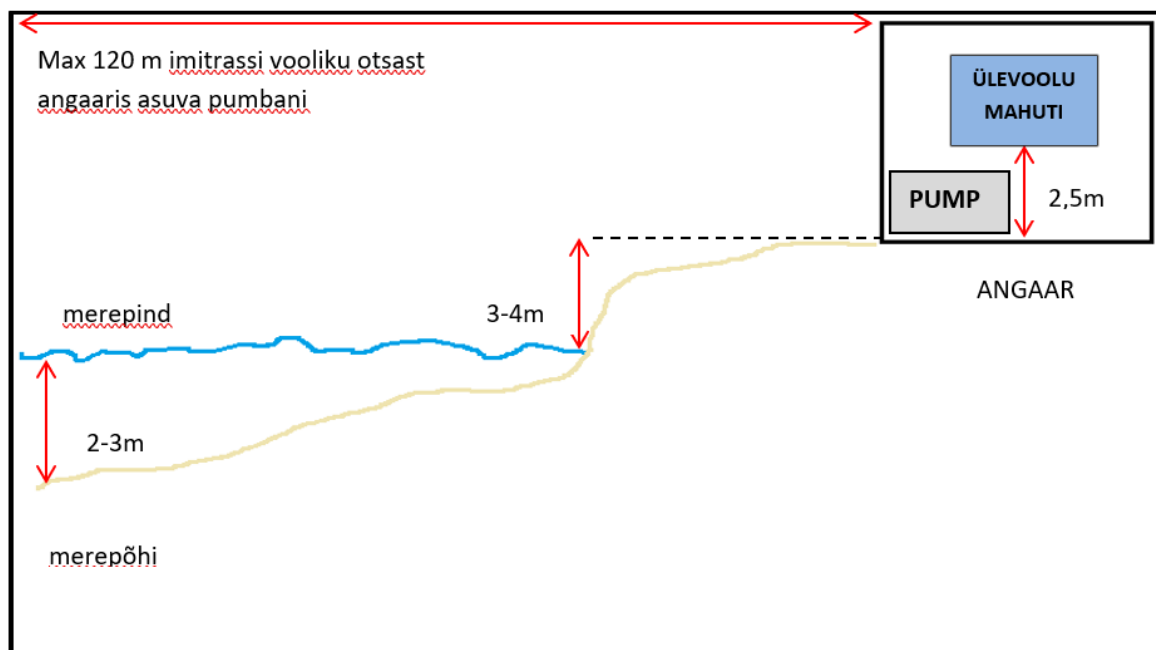


Joonis 2.2.4. Kasvamahutite vee filtreerimisel kasutatud Eheim aquaball 180 akvaariumifiltrid.



Joonis 2.2.5. Pump B2KQ-A/B (paremal) ja Bioblok 150 tüüpi kargkehad (vasakul).

Imitrass (merest pumbani ja sealt edasi ülevoolu mahutisse oli UV ja ilmastikukindel, joonis 2.2.6) ja pealevoolu torustik oli 50mm läbimõõduga. Pealevoolu torustik jagunes 12 vetikatünni vahel paari kaupa (joonis 2, 3). Hargnemiste otsa oli paigaldatud plastik kuulkraanid ja torustik ahenes kuni 32 mm läbimõõduni diameetris. Väline imitrass (angaarist mereni) paiknes 0,7 m sügavusel pinnases ja oli varustatud küttekaabliga, vältimaks võimalikku jäätumisprotsessi temperatuuri langemisel alla 0 °C. Küttekaabli pikkus oli 50 meetrit ja koguvõimsus 980 W. Imitrassi merre jääv osa kinnitati betoonankrutega, tagamaks trassi ohutust.



Joonis 2.2.6. Imitrassi paiknemine, pikkus ja kõrgus merepinnast.

Mahutist väljavoolu torustiku diameeter oli 50 mm. Üleminekuga 50 mm diameetrilt mindi üle 110 mm torule, mis koondas kokku vetikamahutitest tuleva vee ja juhtis selle tagasi merre. Tagamaks, et vetikas ei liiguks veevahetuse ajal mahutist koos veevooluga välja oli mahuti sisse, väljaviigu külge paigaldatud 0,4 m pikkune ja 50 mm läbimõõduga kinnise otsaga toru (joonis 2.2.7), millel oli iga sendimeetri tagant 1,5 mm sisselõige.



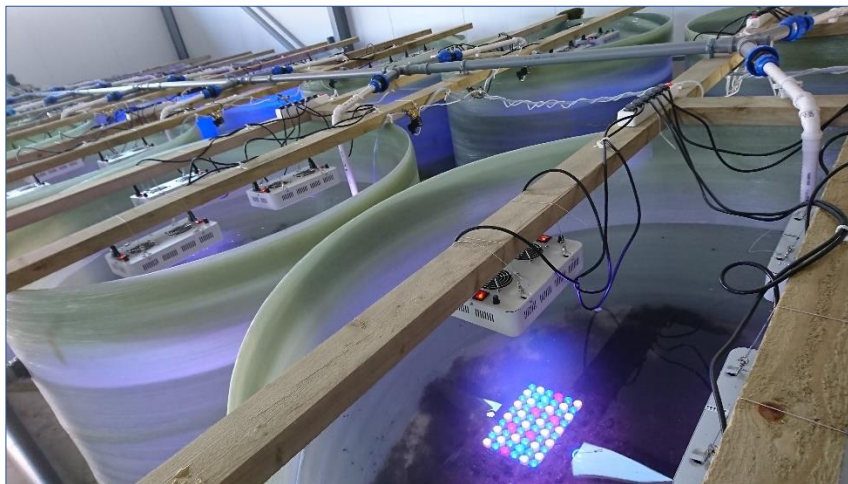
Joonis 2.2.7. Kasvumahutitest veevahetusega vetikate väljavoolu takistav toru

Vetikate kultiveerimissüsteem oli varustatud õhukompressoriga AIR660 (tootlikkus 1210l/min; 500l; 7,5 kW/400V) (Joonis 2.2.8). Kultiveerimismahutite õhutussüsteemi (Joonis 2.2.2) voolikutesüsteem oli paigaldatud ringikujuliselt kasvumahutite põhja ja varustatud aegreleede ning solenoid-/magnetklappidega (Solenoid, magnetpool, 220V AC, 21VA), mis võimaldasid ajaliselt juhtida õhu peale voolu mahutitesse läbi mahuti põhjas oleva ringikujulise aukudega vooliku. Õhutamisüsteemi 12 mahutit olid jagatud kolme rühma (korruga õhutati 4 mahutit, kestvusega 5 minutit). Igal rühmal oli ööpäevas üheksa õhutamise tsüklit. Mahuti põhja paigaldatud õhutussüsteem toimis ka vetikamassi segajana, et tagada kogu vetikamassile ühesugune kasvukeskkond, s.o vältida eelkõige võimalikku valguse defitsiidi tekkimist vetikamati alumistes kihtides.

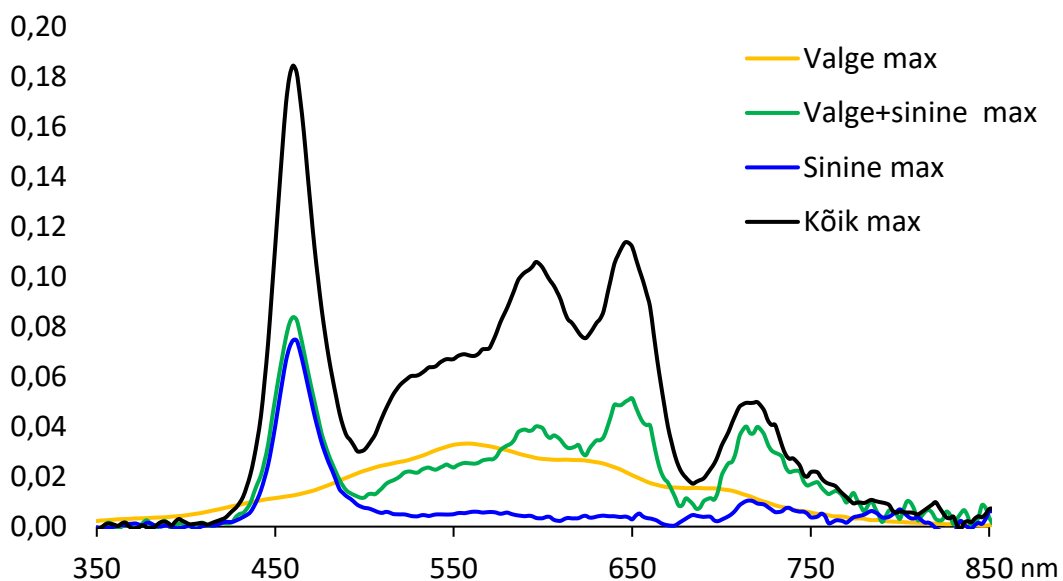


Joonis 2.2.8. Mahutite õhutamine (paremal) õhukompressoriga AIR660 (vasakul).

Kultiveerimissüsteemi mahutite valgustamiseks kasutati reguleeritava valgusspektri ja valgusintensiivsusega LED lampe (Aqualight, multispektraalne, joonis 2.2.9). Lampide kõrgust tünni kohal oli võimalik reguleerida kinnitustrosside abil. Iga mahuti kohal paiknes 3 LED lampi, koguvõimsusega 500 W. Joonisel 2.2.10 on esitatud LED lampide kiirgusspekter erinevate valgus(värvi)kombinatsioonide juures, mõõdetud maksimumvõimsusel otse valgusallika all mahutis.



Joonis 2.2.9. Kasvumahutite valgustussüsteem (LED lambid).



Joonis 2.2.10. LED lampide kiirgusspekter.

2019. a kevadel asendati pooltel (6) kasvumahutitel LED lambid luminofoor päevavalgus lampidega, koguvõimusega 144W. Lambi torudena kasutati erineva valgusspektriga “warm white” ja “cool white” valgustorusid.

Vetikakasvatuse jälgimiseks kasutati moodul kilpi (IP55; FULLAPP 1M +GSM liides), mis võimaldas spetsiaalse äpi kaudu jälgida (IP videokaamerad, 2 tk) kultiveerimissüsteemi toimimist ja andis edasi häire- ja tõrketeteid.

2.3 Kultiveerimissüsteemi energiakulu

Tabel 2.3.1. Kultiveerimissüsteemi valgustuse energiakulu

	Kogutarve (kW)	
	16:8 valgustsükkel	12:12 valgustsükkel
LED lambid, 3 lampi mahuti kohta:		
Sinine max võimsus	2.72	2.04
Sinine min võimsus	0.56	0.42
Valge-punane max võimsus	2.64	1.98
Valge-punane min võimsus	0.40	0.30
Valge-punane keskmine võimsus	0.88	0.66
Valge-punane ja sinine max võimsus	5.44	4.08
Valge-punane ja sinine min võimsus	0.72	0.54
Luminofoor lambid, 4 lampi mahuti kohta	2.30	1.73

Tabel 2.3.2. Kultiveerimissüsteemi energiakulu v.a valgustus

	Tarve (kW) 3 h veevahetustsükli jooksul
Merevee pump	4.50
	Tarve (kW) 24h tsükli jooksul
Õhutus-segamis kompressor	16.88
Väike akvaariumi filter	0.14
Küttegaabel 50 m	23.52
Elektrilised solenoid klapid 12 tk	0.19

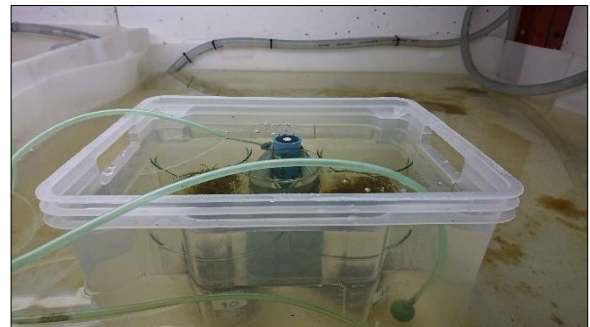
3. Agariku kasvatamine kunstlikes tingimustes

3.1. Agariku kasvatamine laboritingimustes

Paralleelselt Ristna kultiveerimiskompleksi ettevalmistamisega agariku kasvatamiseks viidi ajavahemikus 06/09/2017 – 23/04/2018 läbi pilootkatse agariku kinnitumata vormiga TÜ Eesti mereinstituudi spetsiaalses kasvuinkubaatoris.

Eesmärk: selgitada välja temperatuuri mõju kinnitumata agariku juurdekasvule ja hinnata selle alusel vetika füsioloogilise seisundi võimalikke muutusi kasvuperioodi erinevatel etappidel.

Katsetes kasutati Kassari lahe punavetikakoosluse seirejaamast KA14 (*Furcellaria lumbricalis* kinnitumata vormi osakaal 84 %) kogutud vetikat. Vetikamassist eemaldati teised makrovetikad ja karbid. Puhastatud ja kaalutud vetikaid, keskmiselt 5 g märgkaalus, inkubeeriti 1000 ml keeduklaasides nelja erineva veetemperatuuri (5 °C, 10 °C, 15 °C ja 20 °C), PAR (fotosünteesiliselt aktiivne kiirus) 100 $\mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (18:6), soolsus 5,8–6,2 PSU juures (joonis 3.1.1). Veetemperatuuri hoidmiseks mahutites, kus paiknesid keeduklaasid vetikaga, kasutati veejahutajaid Titan500 Aquamedic.



Joonis 3.1.1. Kinnitumata agariku kasvamine laboratoorses tingimustes.

Kogu laborikatse (229 päeva) vältel viidi läbi seitse vahekaalumist märgkaalu määramiseks (Tabel 3.1.1) ja saadud tulemuste põhjal arvutati agariku juurdekasv kasutades valemit

$$\text{Juurdekasv ööpäevas (\%)} = [M_0 / (M_1 - M_0)] / (n - 1),$$

kus M_0 – vetika mass (märgkaal) katseperioodi alguses

M_1 – vetika mass (märgkaal) katseperioodi lõpus

n – katseperioodi kestus päevades

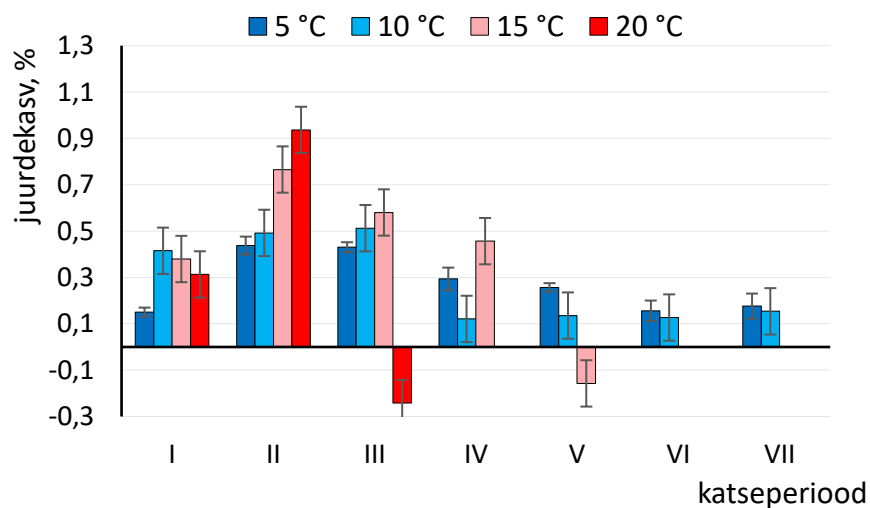
Tabel 3.1.1. Katseperioodide kestus

katseperiood	algus	lõpp	kestus päevades
I	06/09/2017	09/10/2017	33
II	09/10/2017	09/11/2017	31
III	09/11/2017	05/12/2017	26
IV	05/12/2017	09/01/2018	35
V	09/01/2018	12/02/2018	34
VI	12/02/2018	19/03/2018	35
VII	19/03/2018	23/04/2018	35

Statistilise andmetöötluse läbiviimiseks kasutati arvutiprogrammi Statistica 13. Erinevuste olulisuse hindamiseks erinevate rühmade vahel kasutati ühe- või mitmefaktorilist dispersiaanalüüsi ANOVA (Analysis of Variance) ja Bonferroni post hoc testi. Erinevused loeti statistiliselt oluliseks, kui $p < 0,05$.

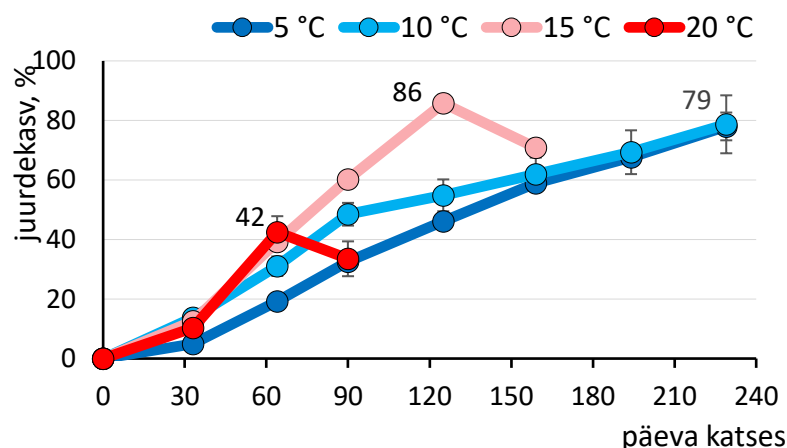
Tulemused

Kinnitumata agariku ööpäevane juurdekasv (%) erinevatel katseperioodidel (I – VII) on esitatud joonisel 3.1.2.



Joonis 3.1.2. Muutused kinnitumata agariku ööpäevase juurdekasv (%) väärtustes mõõdetud erinevate veetemperatuuride juures katseperioodi erinevatel etappidel.

Tulemuste statistiline analüüs näitas, et agariku juurdekasv sõltus märkimisväärselt katseperioodist, temperatuurist ja nende koosmõjust. Esimesel etapil statistiliselt olulisi erinevusi erinevate katseseeriade (temperatuuride) vahel ei tuvastatud. Teisel katseperioodil registreeriti kogu katse kõrgeimad juurdekasvuväärtused 15 ja 20 °C juures. Kolmanda katseperioodi lõpus oli agariku juurdekasv 20 °C juures ja viienda katseperioodi lõpus 15 °C juures juba negatiivne ja tuvastati vetikakudede aktiivne lagunemine, mille tõttu tuli vetikad katsest eemaldada. Erinevatel katseperioodidel leiti statistiliselt olulisi erinevusi 5 ja 10 °C juures määratud juurdekasvudes ainult katse alguses (I) ja IV katseperioodil, kusjuures mõlemas katseseerias mõõdeti kõrgeimad juurdekasvu väärtused katse esimeses pooles. Katse lõpus (kokku 229 päeva katses) saadi mõlemas eelpool nimetatud katseseerias summaarne juurdekasvuks võrdne tulemus (joonis 3.1.3).



Joonis 3.1.3. Laboratoorsetes tingimustes mõõdetud kinnitumata agariku juurdekasv erinevate veetemperatuuride juures.

3.2. Agariku kasvatamine kultiveerimissüsteemis

Ristna sadamas paiknevas kultiveerimissüsteemis (vt ptk 2.2) viidi läbi agariku kasvatamise katsed kolmes etapis:

I katse 09/05/2018 – 15/11/2018 (6 kuud)

II katse 11/12/2018 – 10/04/2019 (4 kuud)

III katse 18/04/2019 – 25/11/2019 (7 kuud)

Kõigis katsetes kasutati Kassari lahe punavetikakoosluse seirejaamast KA14 (sügavus 8,0 m; *F. lumbricalis* kinnitumata vormi osakaal 84 %) kogutud ja puhastatud vetikat.

3.2.1 Agariku kultiveerimiskatse I

Peamised eesmärgid:

- 1) kultiveerimissüsteemi katsetamine ja selle sobivuse hindamine agariku kasvatamiseks
- 2) valgustingimuste (4 erinevat valguskeskkonda) mõju välja selgitamine agariku juurdekasvule kultiveerimissüsteemis
- 3) veetemperatuuri võimaliku mõju hindamine agariku juurdekasvule (vt ka ptk 3.1)
- 4) katsetada, kas ja mis määral on veevahetusega võimalik kontrollida/reguleerida veetemperatuuri kasvumahutites

Esimeses kultiveerimiskatses kasvatati kinnitumata agarikku 12 kasvumahutis neljas erinevas valguskeskkonnas (Tabel 3.2.1.1). Agariku asustustihedus kasvumahutites oli keskmiselt 1,98 kg m⁻² märgkaalus, mis vastab tema maksimaalsele looduslikule asustustihedusele Kassari lahes.

Tabel 3.2.1.1. Valguskeskkond erinevates katseseeriates; *PAR mõõdetud mahutis otse valgusallika all.

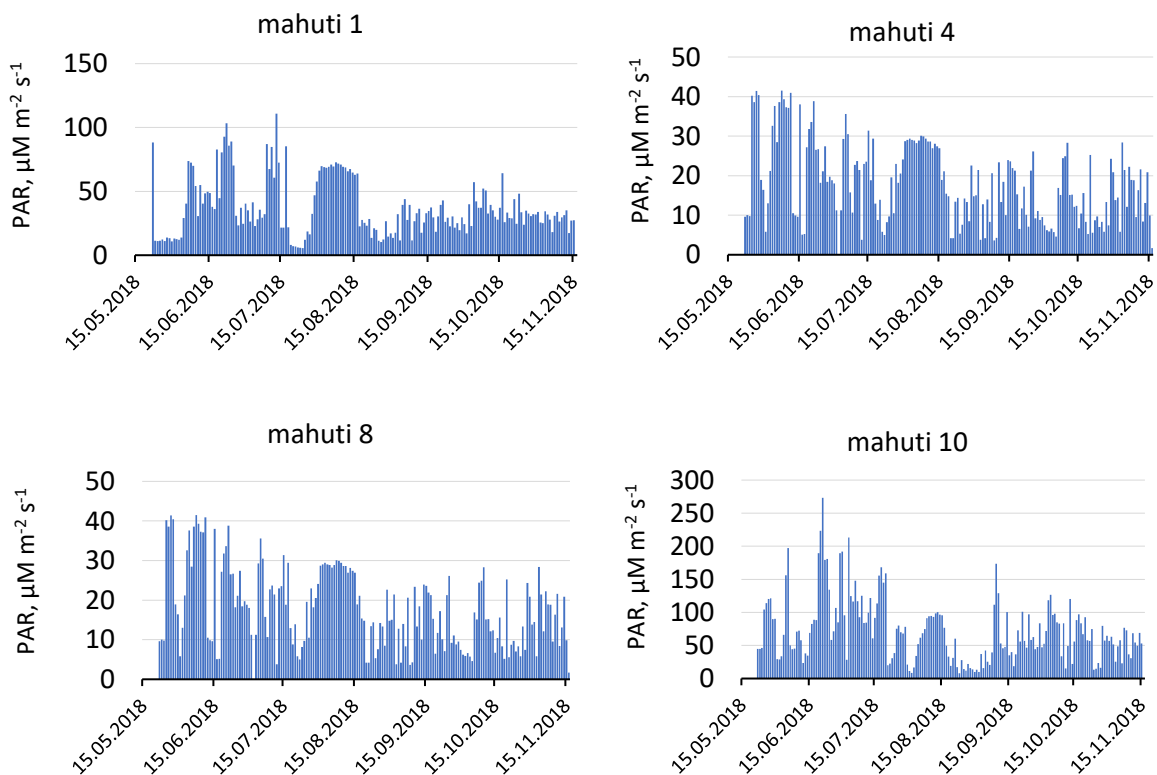
Katseseeria (KS)	mahutid	LED lambid	PAR ($\mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	valge/pime
KS 1	1, 2, 3	valge-sinine	100*	12:12
KS 2	4, 5, 6	valge	50*	12:12
KS 3	7, 8, 9	sinine	50*	12:12
KS 4	10, 11, 12	sinine	250*	12:12

Kogu katseperioodi (09/05/2018 – 15/11/2018) vältel registreeriti vetikate kasvumahutites spetsiaalsete Odyssey meerikute (logger) abil, intervalliga 15 minutit, fotosünteesiliselt aktiivne kiirgus (PAR). Temperatuuri registreerimiseks mahutites ja meres ning angaaris kasutati HOBO temperatuuri meerikuid (mõõtmisagedus 15 min; joonis 3.2.1.1).



Joonis 3.2.1.1. Temperatuuri ja PAR meerikute andmete salvestamine.

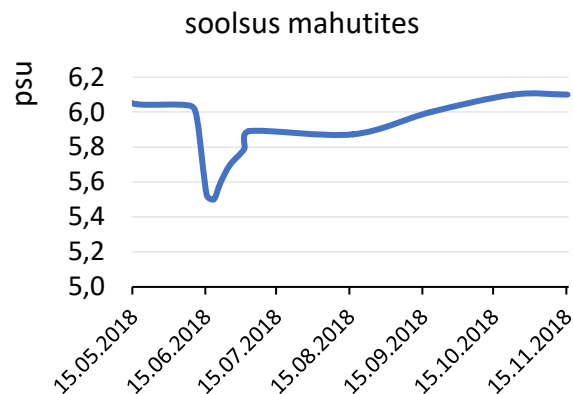
PAR muutused erinevate katseseeriade mahutites on esitatud joonisel 3.2.1.2. Erinevused joonisel 3.2.1.2 ja tabelis 3.2.1.1 esitatud PAR väärtustes on kõigis kultiveerimiskatsetes katsetes tingitud a) kinnitamata valgusmeeriku asukoha muutusest mahutis mahutite õhutamise tagajärjel, st meerik ei paikne alati otse valgusallika all; b) valgusmeerik võib olla osaliselt kaetud vetikaga; c) veekvaliteedist, s.o veevahetuse tagajärjel võib mahutisse sattuda peenhõljumit, nt saviosakesi, mis alandavad vee läbipaistvust.



Joonis

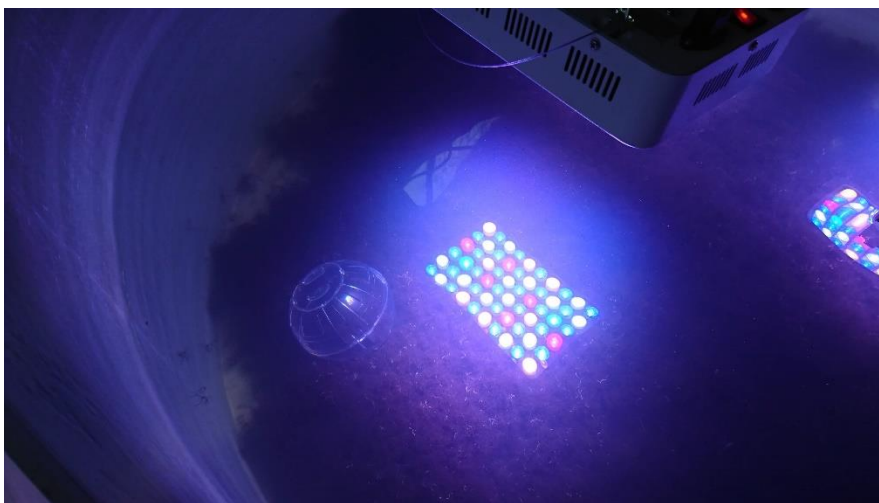
3.2.1.2. Ööpäeva maksimaalsed PAR (fotosünteesiliselt aktiivee kiirguse) väärtused katseseeriade KS1, KS2, KS3 ja KS4 mahutites, mõõdetud katseperioodil 09/05/2018 – 15/11/2018.

Kogu katseperioodi vältel mõõdeti regulaarselt lahustunud hapniku sisalduse ja soolsuse (joonis 3.2.1.3) muutused mahutites ning koguti vee- ja vetikaproovid toitainete ja punaste pigmentide fükobiliproteiinide (fükoerütriini ja allofükotsüaniini) sisalduse laboratoorseks määramiseks vastaval TÜ Eesti mereinstituudi keemia- ja TLÜ loodus- ja terviseteaduste instituudis laboris.



Joonis 3.2.1.3 . Soolsuse muutused kasvumahutites agariku kultiveerimisperioodil.

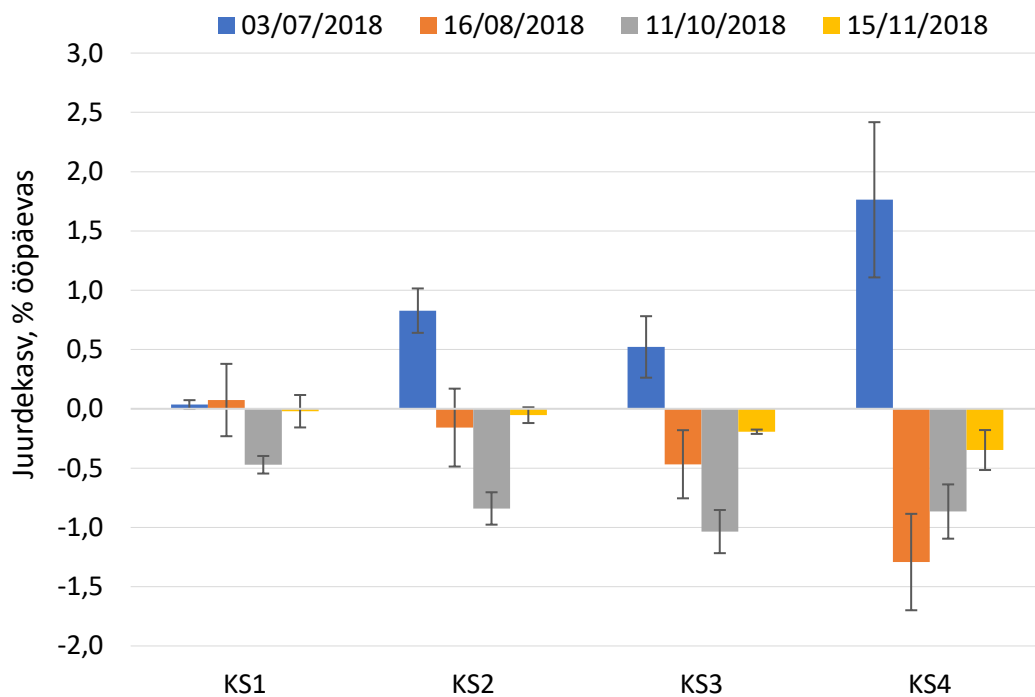
Agariku juurdekasvu määramiseks kaaluti kogu mahutites olev vetikas katseperioodi alguses ja lõpus ning arvutati juurdekasv vastavalt ptk 3.1 toodud valemile. Agariku juurdekasvu leidmiseks erinevatel kasvuperioodi etappidel (16/05/ – 03/07/2018, 03/07/ – 16/08/2018, 16/08/ – 11/10/2018 ja 11/10/ – 15/11/2018) kasutati mahutitesse paigutatud spetsiaalseid metallraamiga (16 × 22 × 12 cm) võrke (võrgusilma $d = 0,6$ cm) või läbipaistvaid plastikust kerasid ($d = 18$ cm), kus inkubeeriti ca 30 g vetikat märgkaalus (joonis 3.2.1.4).



Joonis 3.2.1.4. Agariku juurdekasvu määramine kasvumahutisse paigutatud plastikust keras.

Tulemused

2018. aastal mõõdeti agariku kultiveerimissüsteemi katsetamisel (09/05/2018 – 15/11/2018) positiivsed juurdekasvu väärtused ainult katse algetapis (16. mai – 03. juuli; joonis 3.2.1.5). Juurdekasvu tulemuste statistiline analüüs näitas, et erineva valguskeskkonna mõju juurdekasvule sõltus katseperioodist. Kõrgeim juurdekasv mõõdeti 4ndas katseseerias (KS4; sinine valgus, PAR_{max} $250 \mu M m^{-2} s^{-1}$), kus arvatatud ööpäevase juurdekasvu väärtused erinesid märkimisväärselt teistest katseseeriatest (valguskeskkonnast) saadud tulemustest. Esimesel katseperioodil oli ööpäeva keskmine temperatuur meres $16,6 \text{ }^{\circ}C$, mahutites $16,4 \text{ }^{\circ}C$ ja angaaris $17,3 \text{ }^{\circ}C$.

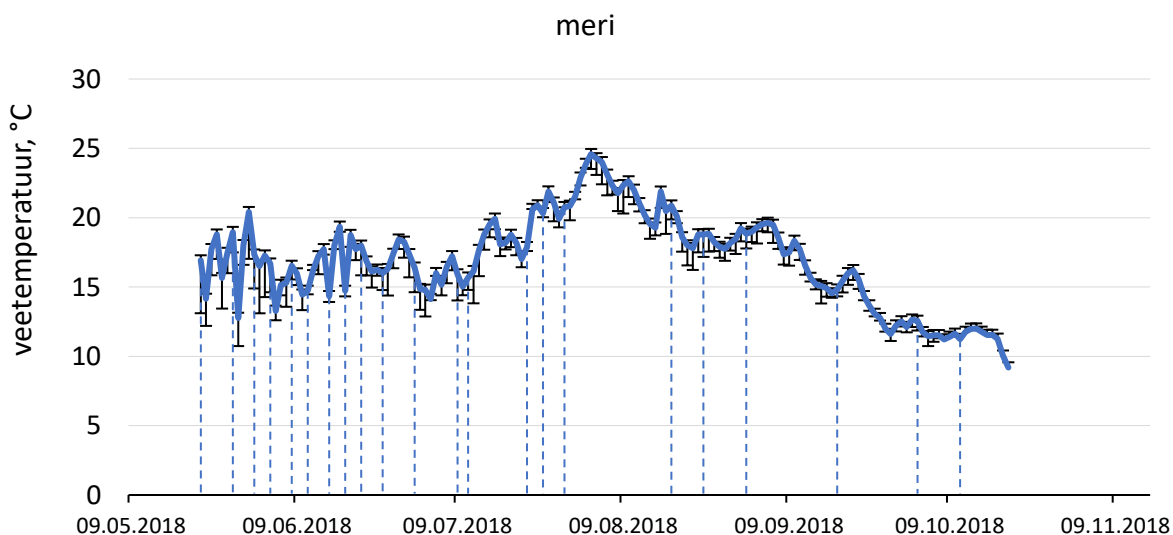
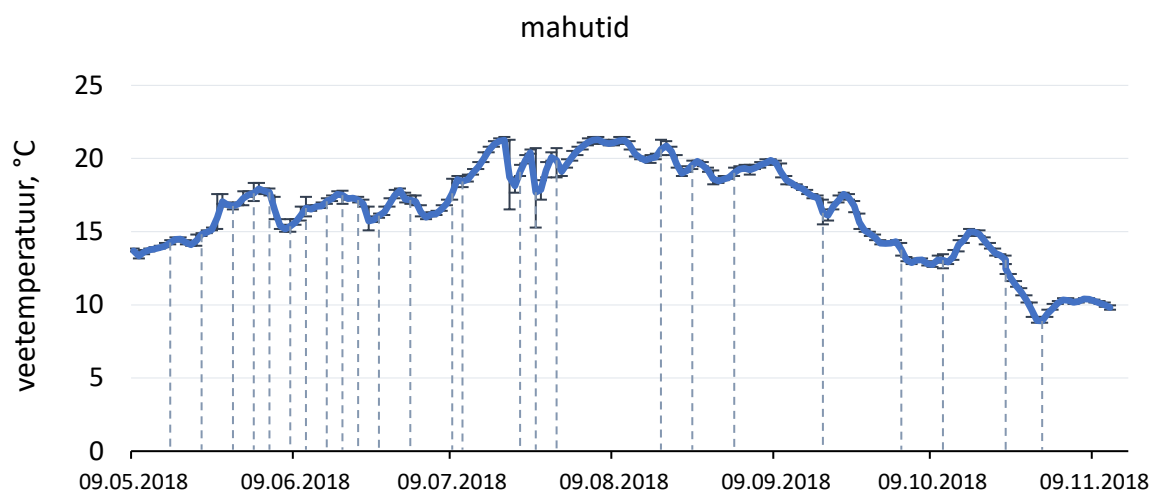


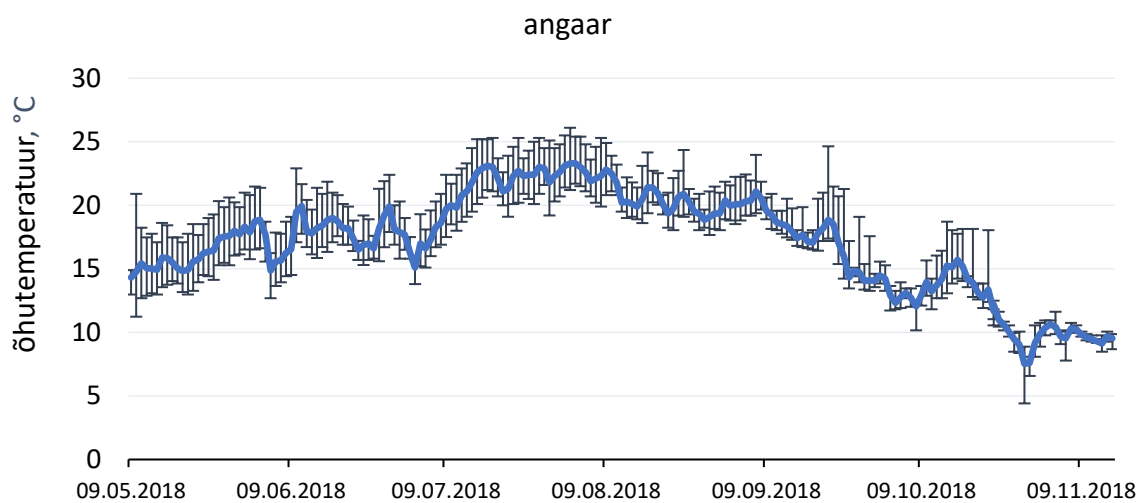
Joonis 3.2.1.5. Agariku ööpäevase juurdekasv erinevates katseseeriates/valguskeskkonnas (KS), mõõdetud katseperioodi (09/05/2018 – 15/11/2018) erinevatel etappidel.

Merevee temperatuuri tõus üle $20 \text{ }^{\circ}C$ (max $24,6 \text{ }^{\circ}C$) ja ilmastikuoludest tingitud suhteliselt kõrge temperatuur angaaris juulis-augustis (keskmise $20,8 \text{ }^{\circ}C$) põhjustas veetemperatuuri tõusu mahutites üle $20 \text{ }^{\circ}C$ (joonis 3.2.1.6), mis viis agariku osalise lagunemiseni.

Temperatuuri tõusu peatamiseks viidi veevahetus läbi sõltuvalt merevee temperatuurist ja reeglina varahommikul. Kui merevee temperatuur oli $>20 \text{ }^{\circ}C$ veevahetust mahutites läbi ei viidud.

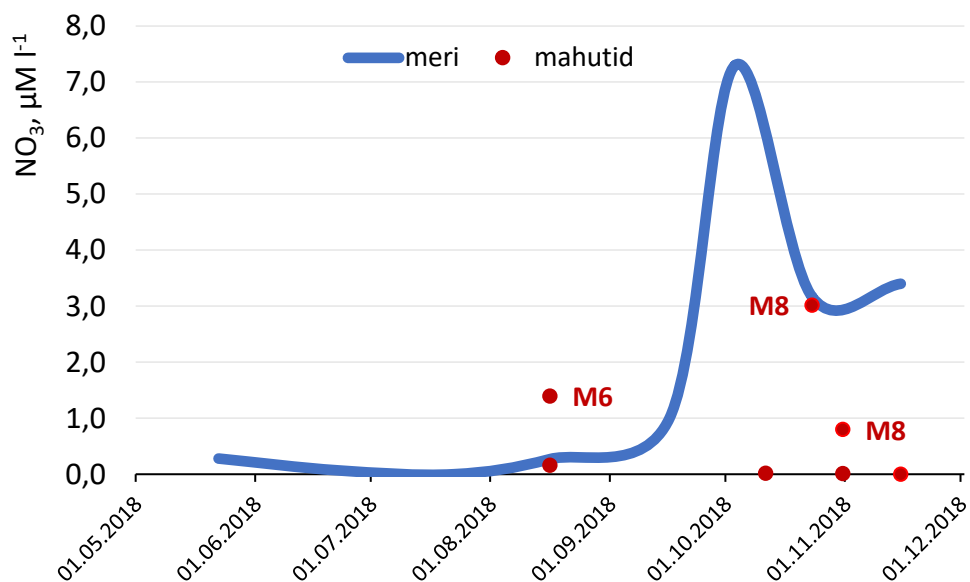
Kuna ka angaaris oli õhutemperatuur suhteliselt kõrge, siis veevahetus võimaldas alandada veetemperatuuri kasvumahutites ainult lühiajaliselt (maksimaalselt 1 – 2 ööpäevaks). Veevahetuse läbi viimise ajad on joonisel 3.2.1.6 märgitud katkendlike vertikaaljoontega. Lisaks mereveetemperatuurile mõjutas veevahetuse sagedust ka merevee kvaliteet (puhtus) – veevahetust ei viidud läbi tormistele ilmadele järgnevatel päevadel, kui vees oli palju peenhõljumit, mida kultiveerimissüsteemi filtrid ei ole võimelised eemaldama.



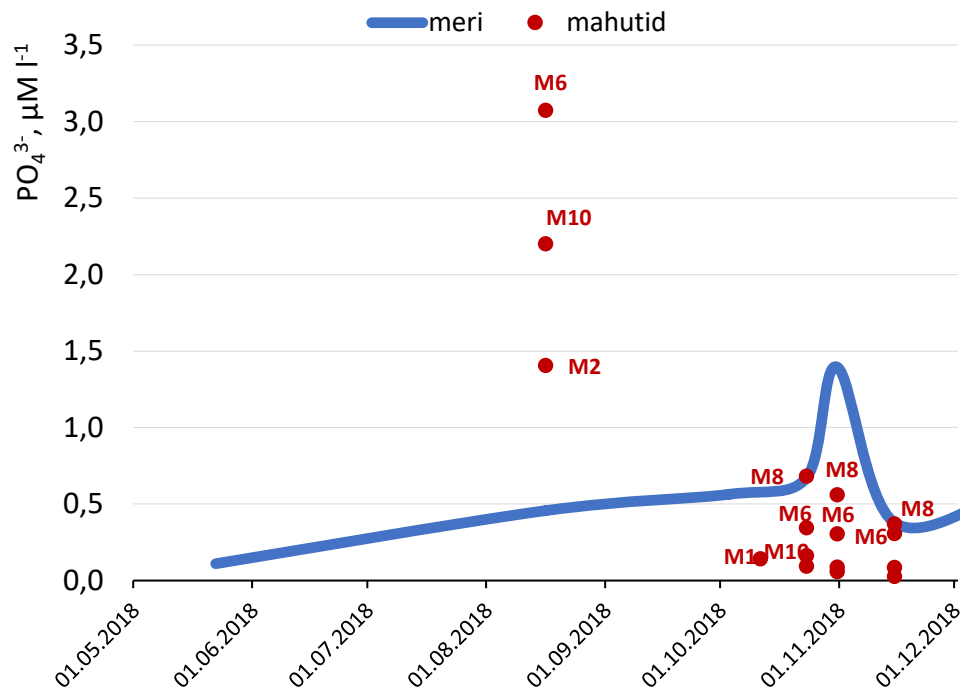


Joonis 3.2.1.6. Katseperioodil (09/05/2018 – 15/11/2018) mõõdetud ööpäeva keskmise, miinimum(L) ja maksimum (T) temperatuuri muutused kasvumahutites, meres ja angaaris. Katkendlike joontega on tähistatud veevahetuse läbiviimise aeg mahutites.

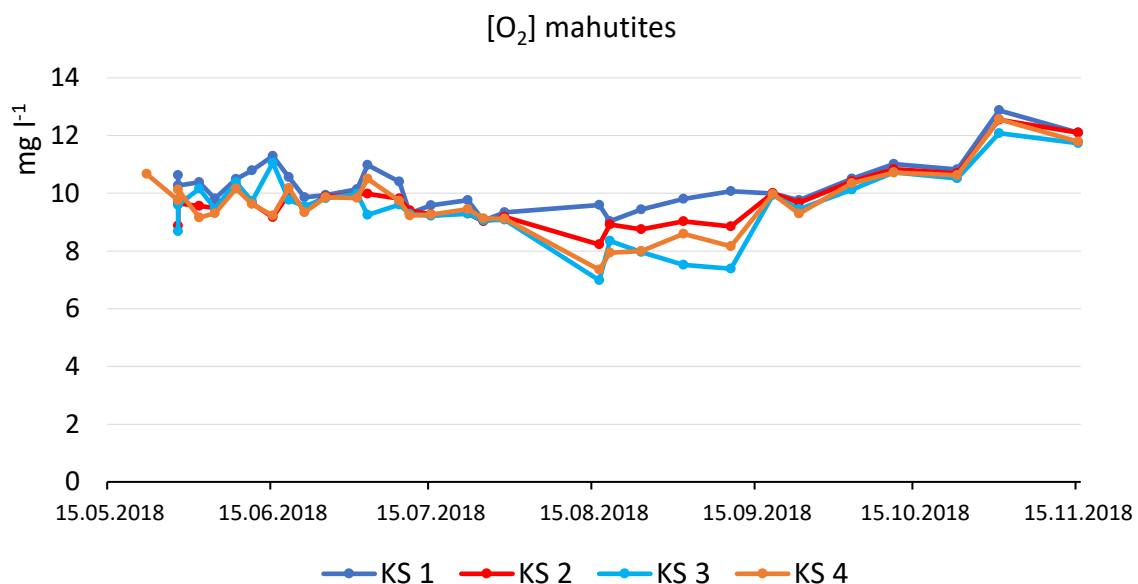
Lagunemisprotsesside intensiivistumisele augusti-septembris viitasid ka nii toitainete (nitraatide ja fosfaatide) sisalduse tõus osades mahutites (joonised 3.2.1.7 ja 3.2.1.8), kui lahustunud hapniku sisalduse langus (joonis 3.2.1.9).



Joonis 3.2.1.7. Nitraatide sisaldus merevees ja kasvumahutites. Mahutid, kus nitraatide sisaldus on kõrgem määramispiirkonnast on tähistatud mahuti numbriaga.

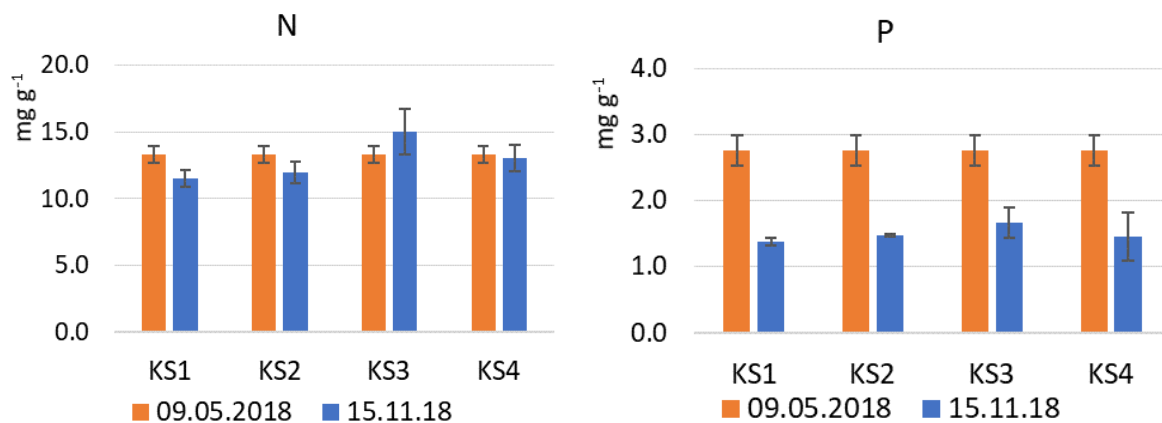


Joonis 3.2.1.8. Fosfaatide sisaldus merevees ja kasvumahutites. Mahutid, kus fosfaatide sisaldus on kõrgem määramispiirkonnast on tähistatud mahuti numbriga.



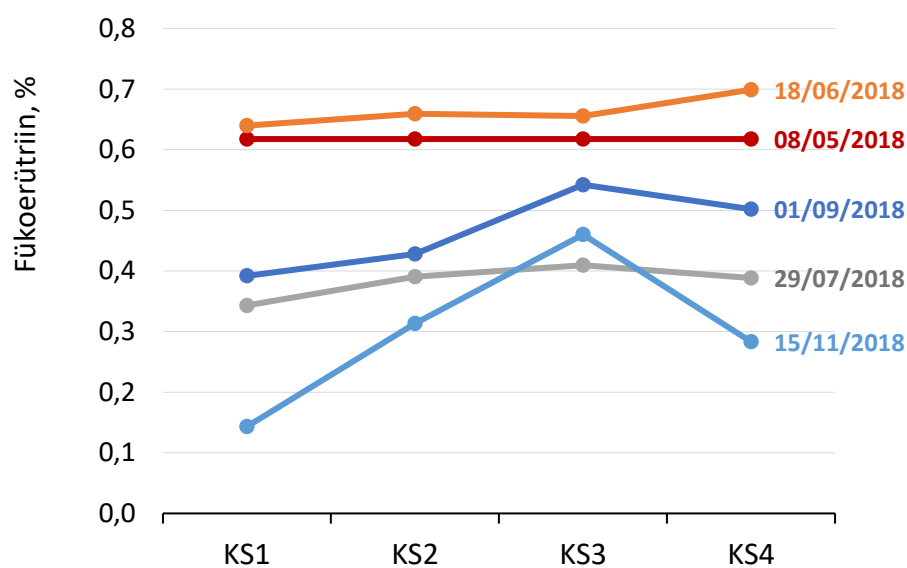
Joonis 3.2.1.9. Muutused lahustunud hapniku sisaldustes erinevates katseseeriates.

Olulisi muutusi agariku lämmastiku sisalduses katseperioodi lõpus võrreldes algmaterjaliga ei tuvastatud, samas langes agarikus fosfori sisaldus ligi 2 korda (joonis 3.2.1.10).

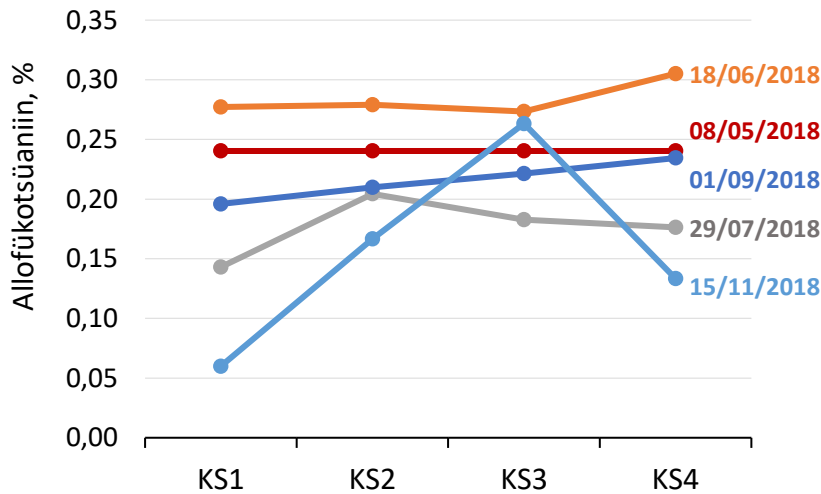


Joonis 3.2.1.10. Lämmastiku (N) ja fosfori (P) sisaldus agarikus katseperioodi alguses ja lõpus.

Punaste pigmentide sisaldus agarikus on esitatud joonistel 3.2.1.11 ja 3.2.1.12. Reeglina määrati nii fükoeütriini kui allofükotsüaniini kõrgeim sisaldus agarikus juunis (saagis vastavalt 0,67 – 0,70% ja 0,28 – 0,31%), s.o perioodil, kui toimus vetika aktiivne juurdekasv. Juuli lõpus oli agarikus mõõdetud pigmentide sisaldus juba märkimisväärselt madalam, mis võib olla seotud nii madala lämmastikühendite (nitraatide) sisaldusega mere- ja mahutite vees kui agariku lagunemisega. Katseperioodi lõpus mõõdeti nii fükoeütriini kui allofükotsüaniini madalaimad sisaldused kõrgemate PAR väärtustega katseseeriates (KS1 ja KS4).



Joonis 3.2.1.11. Fükoeütriini saagise % muutused katseperioodil agarikus erinevates katseseeriates (KS).



Joonis 3.2.1.12. Allofükotsüaniini saagise % muutused katseperioodil agarikus erinevates katseseeriates (KS).

3.2.2 Agariku kultiveerimiskatse II

Eesmärgid:

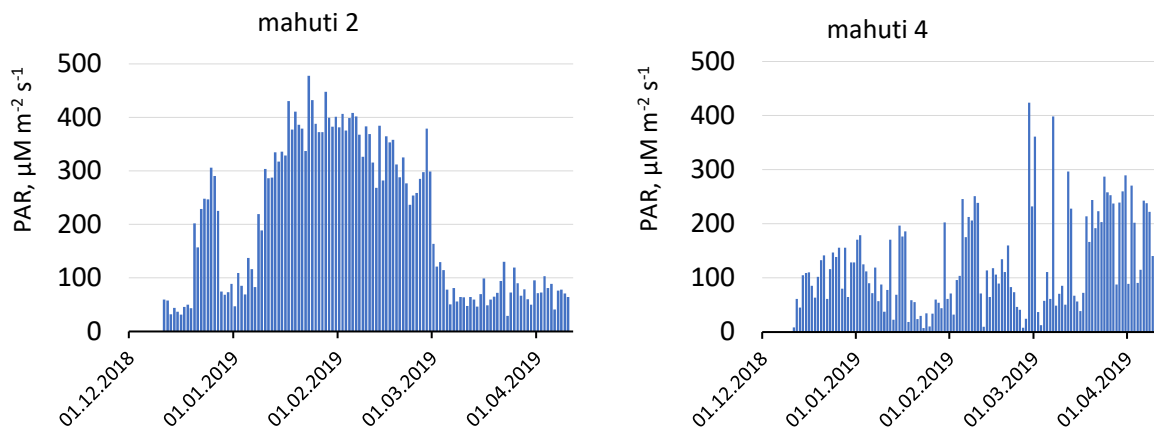
- 1) katsetada, kas kultiveerimissüsteemis on võimalik kasvatada agarikku ka nn talvetingimustes, s.o madalate temperatuuride juures
- 2) selgitada välja agariku asustustiheduse mõju kasvumahutites juurdekasvule
- 3) jälgida veevahetuse sageduse võimalikku mõju toitainete sisaldusele

Katse viidi läbi perioodil 11/12/2018 – 10/04/2019 kultiveerimissüsteemi kuues mahutis kahes erinevas katseseerias (Tabel 3.2.2.1)

Tabel 3.2.2.1. Katsetingimused erinevates katseseeriates; *PAR mõõdetud mahutis otse valgusallika all.

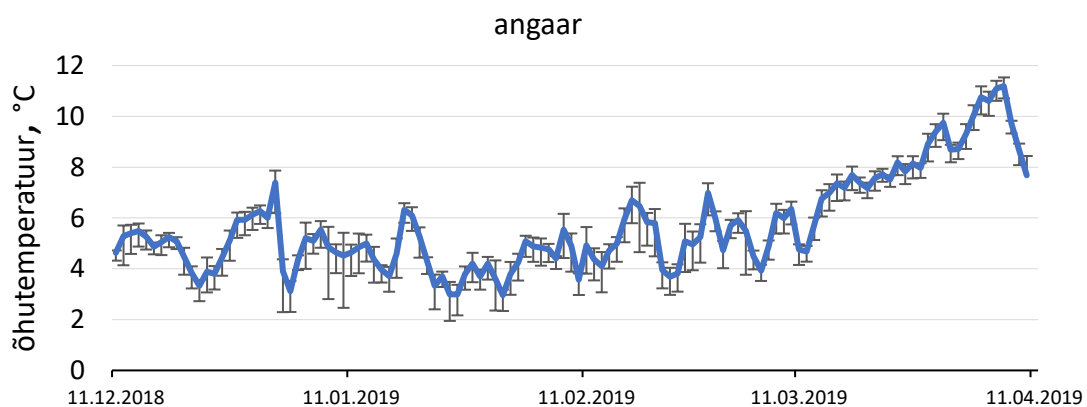
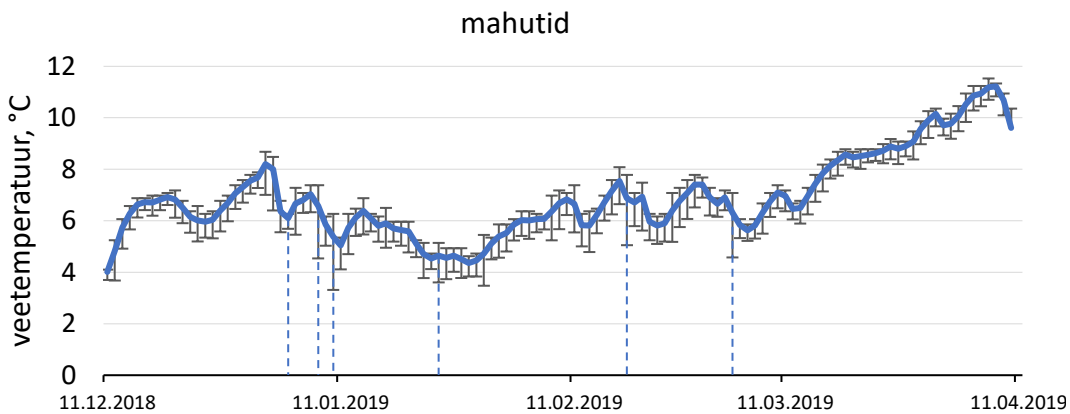
Katseseeria (KS)	mahutid	LED lambid	PAR ($\mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	valge/pime	asustustihedus
KS 1	1, 2, 3	valge-sinine -punane	400*	16:8	2 kg m ⁻²
KS 2	4, 5, 6	valge-sinine-punane	400*	16:8	4 kg m ⁻²

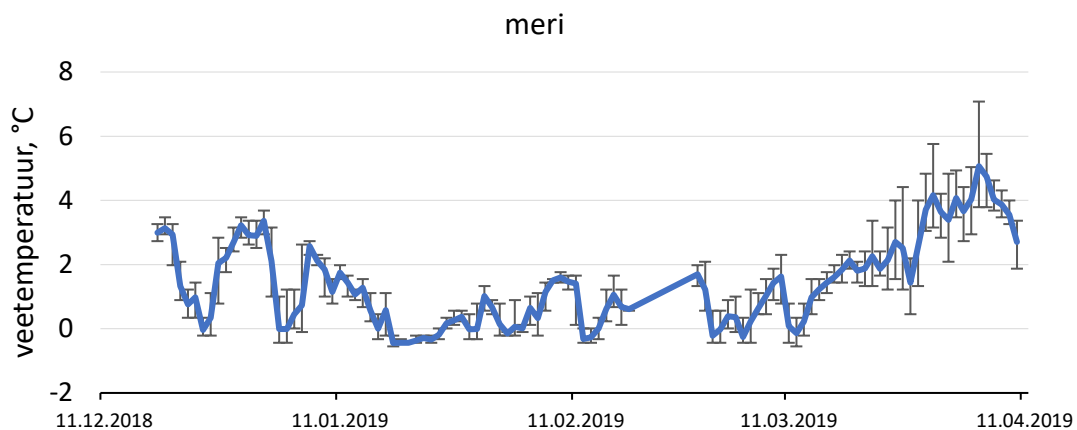
PAR muutused erinevate katseseeriaste (KS1 ja KS2) mahutites on esitatud joonisel 3.2.2.1.



Joonis 3.2.2.1. PAR (fotosünteesiliselt aktiivse kiirguse) väärtused, mõõdetud kasvumahutites kogu katseperioodi (11/12/2018 – 10/04/2019) vältel Odyssey PAR merikutega.

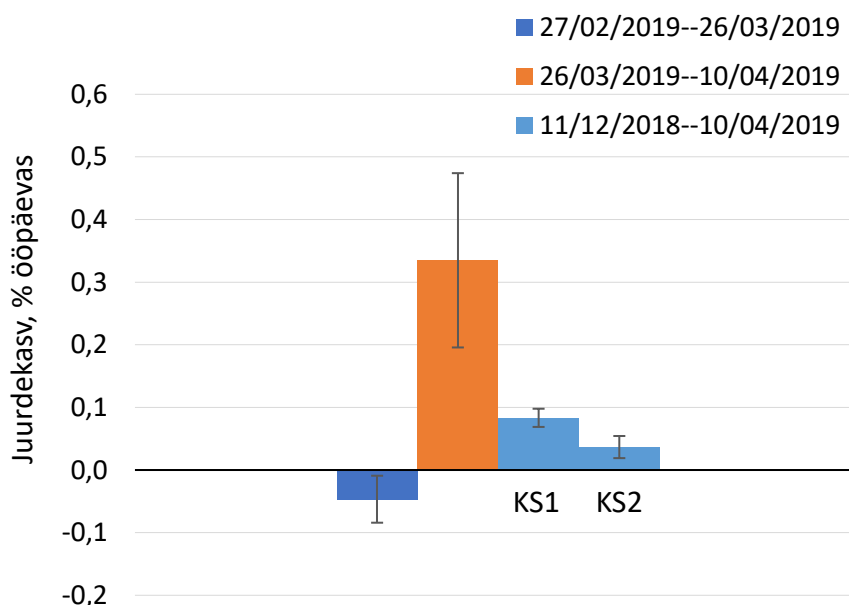
Vaatamata merevee madalale temperatuurile (joonis 3.2.2.2) ei langenud mahutite veetemperatuur kultiveerimiskompleksi kütteta angaaris kogu katseperioodi ajal (11/12/2018 – 10/04/2019) alla 4 °C (joonis 3.2.2.2). Temperatuuri hoidmisest mahutites jaanuaris-veebruaris 4-5 °C juures reguleeriti veevahetuse sagedusega.





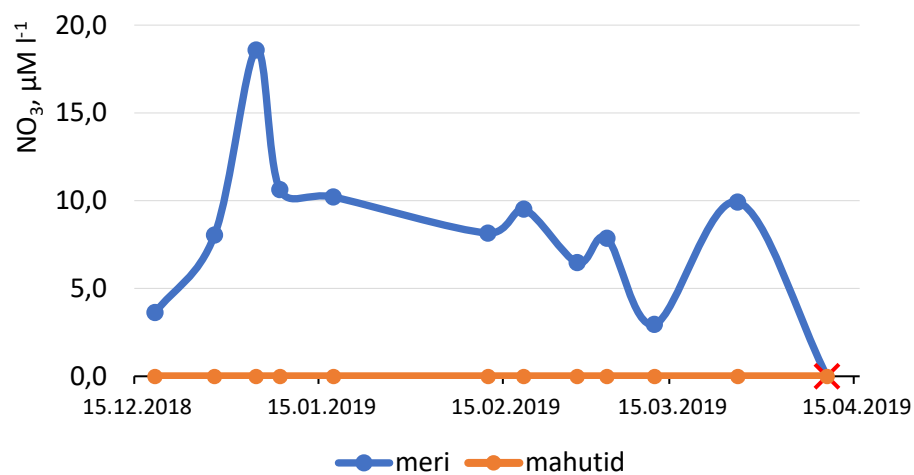
Joonis 3.2.2.2. Katseperioodil (11/12/2018 – 10/04/2019) mõõdetud ööpäeva keskmise, miinimum(L) ja maksimum (T) temperatuuri muutused kasvumahutites, meres ja angaris. Katkendlike joontega on tähistatud veevahetuse läbiviimise aeg mahutites.

Madalatest veetemperatuuridest tingituna oli agariku juurdekasv kogu „talvekatse“ vältel aeglane. Katseperioodil 27/02/ – 26/03/2019 jäid juurdekasvu väärtused negatiivseks. Temperatuuri tõus mahutites üle 8 °C märtsi teisel poolel viis juurdekasvu märkimisväärse tõusuni (joonis 3.2.2.3). Kogu katseperioodi keskmiseks juurdekasvuks saadi 9,9% (max 13,5%) madalama asustustihedusega katseseerias (KS1) ja 4,7% kõrgema asustustihedusega katseseerias (KS2).

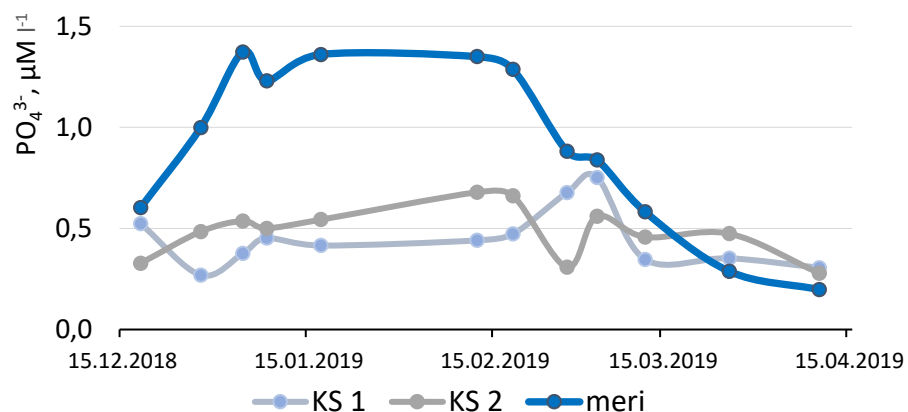


Joonis 3.2.2.3. Agariku ööpäevane juurdekasv mõõdetud 27/02 – 26/03/2019 ja 26/03 – 10/04/2019 plastik kerades ja erinevate agariku asustustihedusega mahutites (KS1 ja KS2).

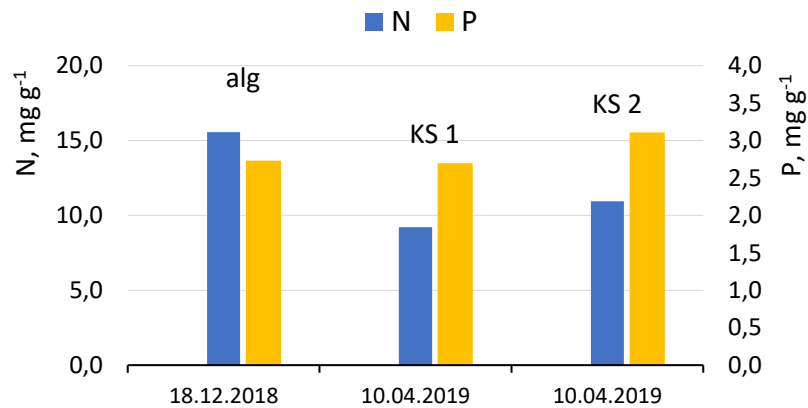
Vaatamata suhteliselt kõrgele merevee toitainete sisaldusele jäid fosfaatide ja nitraatide sisaldused mahutites suhteliselt madalale tasemele (nitraatide puhul alla määramispiiri – 0,86 $\mu\text{mol l}^{-1}$; joonised 3.2.2.4 ja 3.2.2.5). Madal toitainete sisaldus mahutites, mis oli suure tõenäosusega tingitud madalast veevahetuse sagedusest, mõjutab ka lämmastiku ja fosfori sisaldust agarikus. Kui fosfori sisaldus ei muutunud märkimisväärselt katse jooksul, siis lämmastiku sisaldus agarikus langes – 15,6 mg g^{-1} katse algmaterjalis vs 9,2 mg g^{-1} (KS1) ja 11,0 mg g^{-1} (KS2) (joonis 3.2.2.6).



Joonis 3.2.2.4. Nitraatide sisalduse muutused merevees ja kasvumahutites katseperioodil.

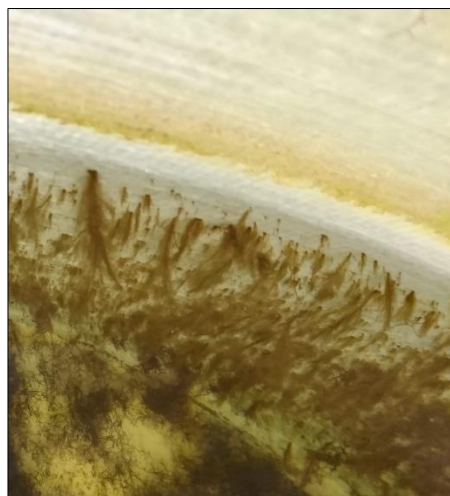


Joonis 3.2.2.5. Fosfaatide sisalduse muutused merevees ja erineva agariku asustustihedusega (KS1 ja KS2) kasvumahutites katseperioodil.



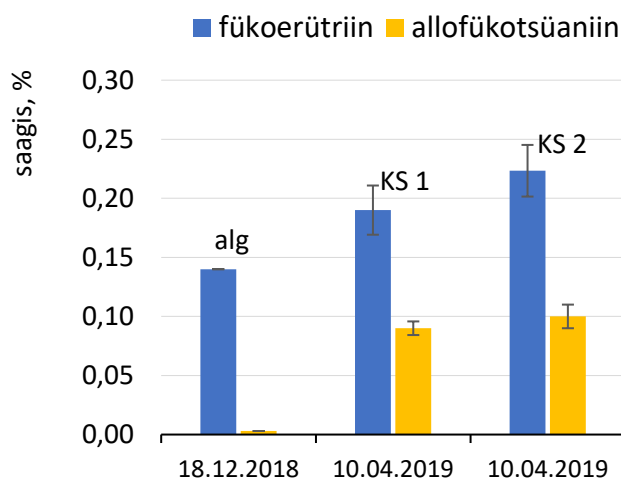
Joonis 3.2.2.6. Lämmastiku (N) ja fosfori (P) sisaldus agarikus kultiveerimiskatse alguses ja lõpus.

Madal lämmastiku sisaldus mahuti vees või kevadperioodil olla osaliselt põhjustatud ka niitjate makrovetikate kasvust mahutite seintel (soodsad valgustingimused, s.o PAR > 300 $\mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$; joonis 3.2.2.7). Niitjad epifüütsed rohe- ja pruunvetikad reageerivad kiiresti toitainete kontsentratsiooni tõusule vees (nt veevahetusest tingitud) ja on võimelised need ka veest kiiresti eemaldama.



Joonis 3.2.2.7. Niitjad epifüütsed makrovetikad kasvumahuti seinal (märts 2019).

Katseperioodi lõpus määratud fükobiliproteiinide sisalduses võis täheldada teatavat tõusu võrreldes detsembris kogutud algmaterjaliga, milles allofükotsüaniini sisaldus jäi alla määramispiiri (Joonis 3.2.2.8).



Joonis 3.2.2.8. Fükoerütriini ja allofükotsüaniini saagis määratud agarikus katseperioodi alguses ja lõpus.

3.2.3 Agariku kultiveerimiskatse III

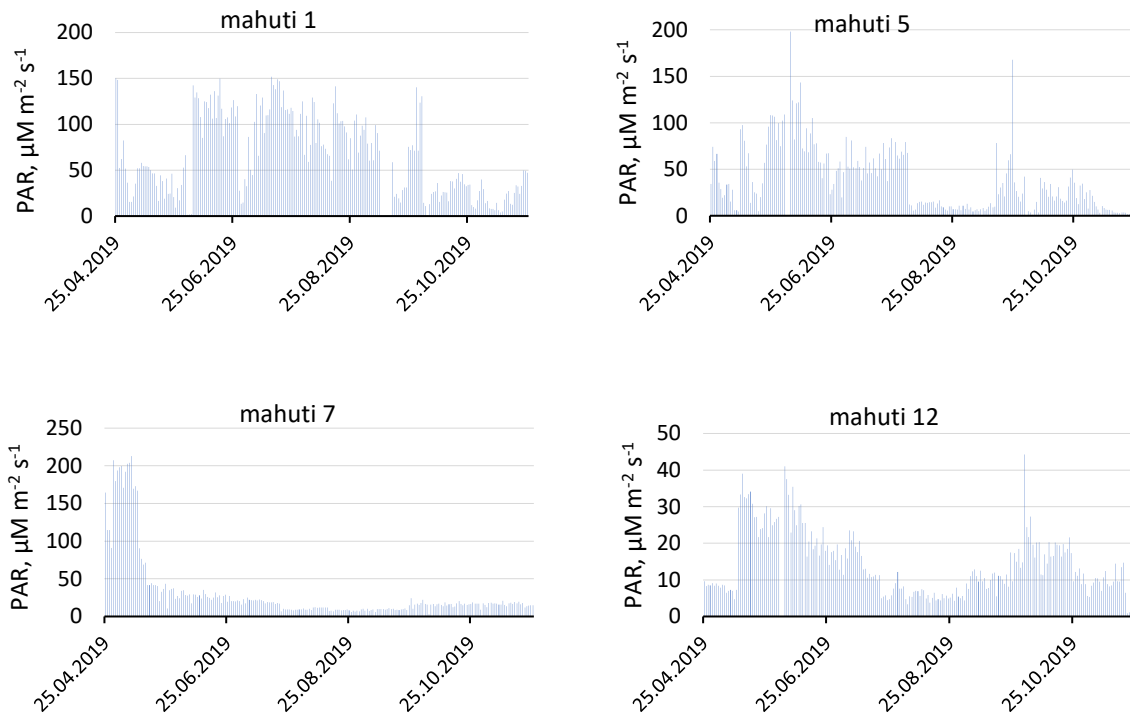
Eesmärgid: 1) uute valgusallikate (luminofoorlampide) katsetamine kultiveerimissüsteemis
2) selgitada välja valguspäeva pikkuse (12 vs 16 tundi) mõju agariku juurdekasvule

Agarikku kasvatati kultiveerimissüsteemi 12 mahutis neljas erinevas katseseerias (Tabel 3.2.3.1) ajavahemikus 18/04/2019 – 25/11/2019.

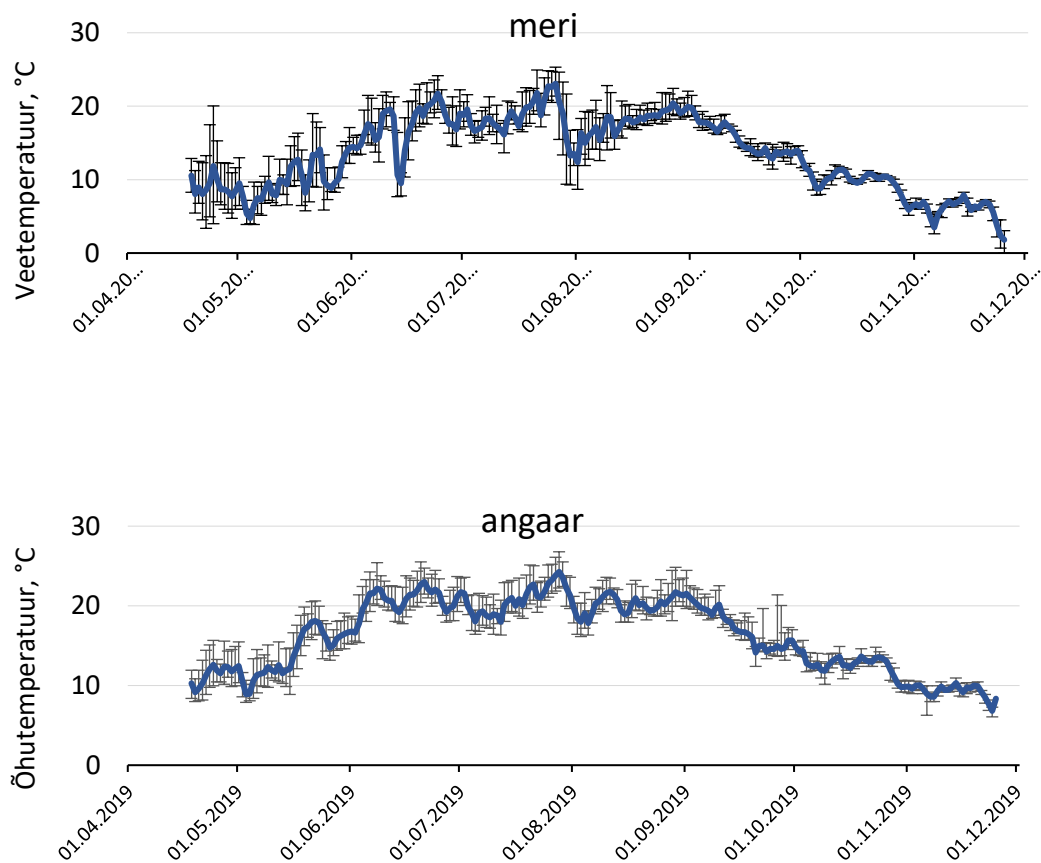
Tabel 3.2.3.1. Katsetingimused erinevates katseseeriates (KS); *PAR mõõdetud mahutis otse valgusallika all; **PAR katse alguses (18. aprill kuni 21.juuli) ja 23.september kuni katse lõpuni.

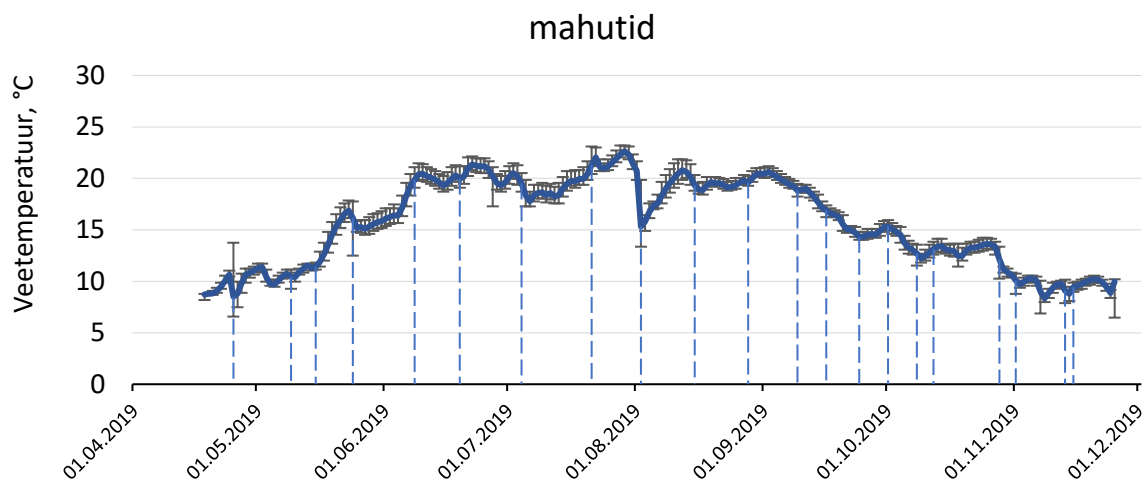
KS	mahutid	valgusallikas	PAR ($\mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	valge:pime	asustustihedus
KS 1	1, 2, 3	LED valge-sinine-punane	200*	12:12	2,9 kg m ⁻²
KS 2	4, 5, 6	LED valge-sinine-punane	200*	16:8	2,8 kg m ⁻²
KS 3	7, 8, 9	LUM soe valge	50* – 200**	16:8	2,8 kg m ⁻²
KS 4	10, 11, 12	LUM külm sinine	50* – 150**	16:8	2,4 kg m ⁻²

PAR muutused erinevate katseseeriaste mahutites on esitatud joonisel 3.2.3.1.



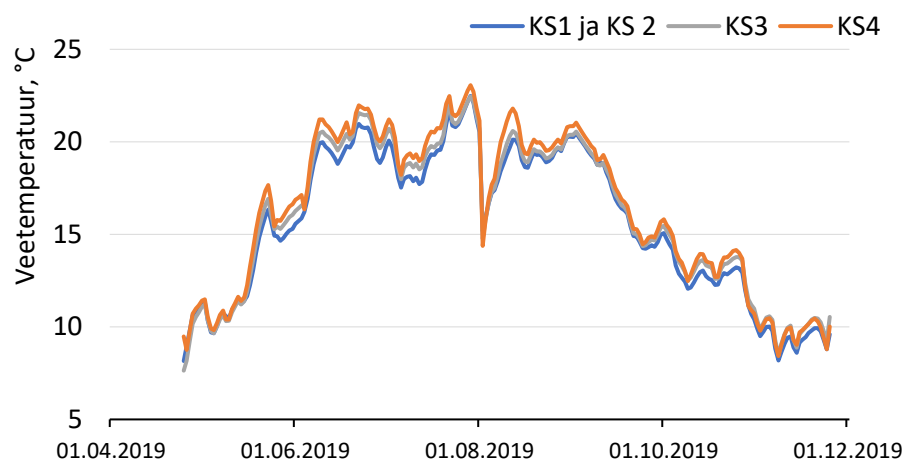
Joonis 3.2.3.1. PAR (fotosünteesiliselt aktiivse kiirguse) väärtused, mõõdetud kasvumahutites kogu katseperioodi vältel Odyssey PAR meerikutega.





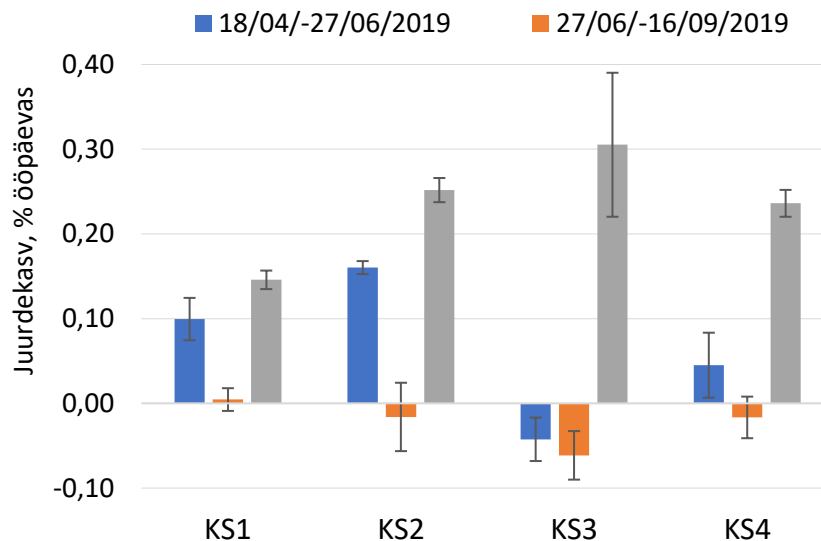
Joonis 3.2.3.2. Katseperioodil (18/04/2019 – 25/11/2019) mõõdetud ööpäeva keskmise-, minimum-(L) ja maksimum (T) temperatuuri muutused kasvumahutites, meres ja angaaris. Katkendlike joontega on tähistatud veevahetuse läbiviimise aeg mahutites.

Luminofoorlampide kasutamine kultiveerimissüsteemis valgusallikatena ja suhteliselt kõrge veetemperatuur mahutites (joonis 3.2.3.2) juuli teises pooles initsieeris mahuti seintel niitjate epifüütsete makrovetikate kasvu, mille vältimiseks vähendati katseseeriates KS 3 ja KS 4 valgusintensiivsust, mis peatas epifüütide edasine kasvu. Praktiliselt kogu katseperioodi vältel mõõdeti eelpool nimetatud katseseeriade mahutites ka märkimisväärselt kõrgemad veetemperatuuri ööpäeva keskmised väärtused võrreldes katseseeriade SK1 ja SK2 mahutitega (joonis 3.2.3.3), mis viitab luminofoorlampide põlemisega kaasnevale suuremale soojuse eraldumisele võrreldes LED lampidega.



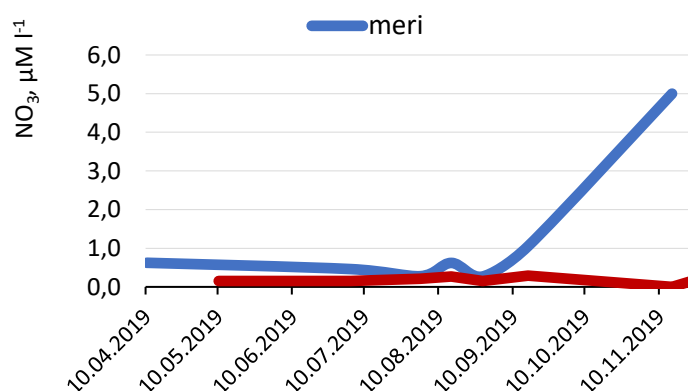
Joonis 3.2.3.3. Ööpäeva keskmised veetemperatuurid mõõdetud erinevate katseseeriade mahutites.

Juurdekasvu määramiseks kaaluti kogu mahutites olev agariku biomass 27/06/2019, 16/09/2019 ja katseperioodi lõpus 25/11/2019. Tulemuste põhjal arvutati agariku juurdekasv kasvuperioodi erinevatel etappidel on esitatud joonisel 3.2.3.4. Agariku ööpäevase juurdekasvu statistiline analüüs näitas, et juurdekasv on mõjutatud eelkõige kasvuperioodist ja erinevate katsetingimuste (valgusallikas, valguspäeva pikkus) mõju sõltub katseperioodist. Esimesel katseperioodil (18/04 – 27/06) määrati kõrgeimad juurdekasvu väärtused katseseeria KS2 (LED 16:8) mahutites, mis erines märkimisväärselt katseseeriastest KS3 ja KS4, kus mahutite valgustamiseks kasutati luminofoorlampe.

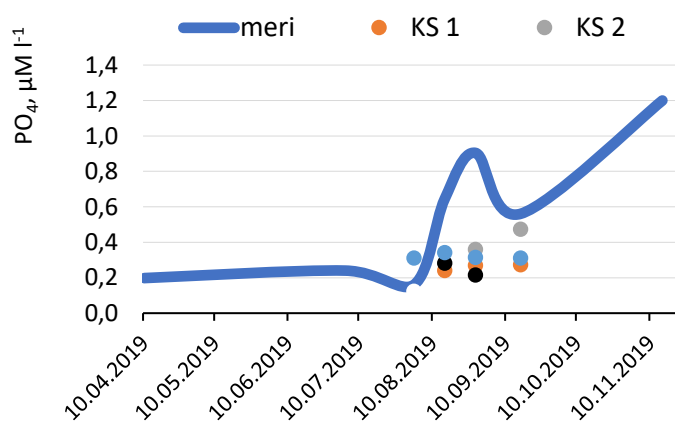


Joonis 3.2.3.4. Agariku ööpäevane juurdekasv mõõdetud kolmel katseperioodil erinevates katseseeriates (KS).

Teisel katseperioodil (27/06/ – 16/09/2019) mõõdetud ööpäevase juurdekasvu väärtused olid reeglina negatiivsed (joonis 3.2.3.4). Veetemperatuuri ööpäeva keskmine väärtus mahutites oli märkimisväärselt kõrgem kui esimesel katseperioodil: 14,9 °C vs 19,5 °C (päevased maksimumid >23 °C), mis suure tõenäosusega soodustas agariku osalist lagunemist ja/või fragmenteerumist. Sama ajal ei täheldatud agariku massilist lagunemist nagu 2018. a suvel (kultiveerimiskatses I), kui vetikate lagunemisega kaasnes toitainete sisalduse märkimisväärne tõus mahutites. Teisel katseperioodil (27/06 – 16/09/2019) mõõdetud nitraatide sisaldus mahutites jäi alla määramispiiri (0,35 $\mu\text{mol l}^{-1}$), olles kogu katseperioodi vältel madalam merevees määratud väärtustest (joonis 3.2.3.5). Ka mahutites määratud fosfaatide sisaldused olid sel perioodil kõigis katseseeriates reeglina madalamad kui vastavad väärtused merevees (joonis 3.2.3.6).



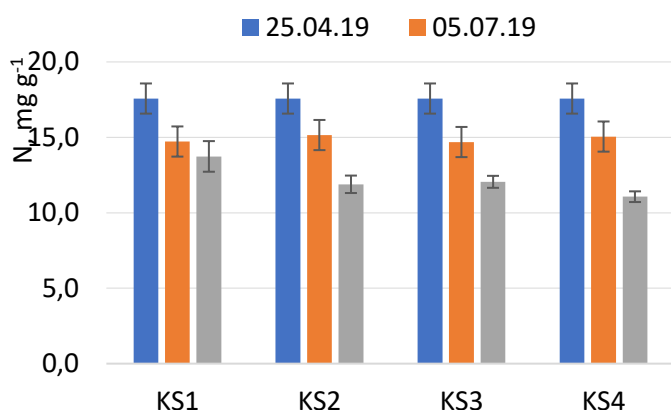
Joonis 3.2.3.5. Nitraatide sisalduse muutused merevees ja kasvumahutites.



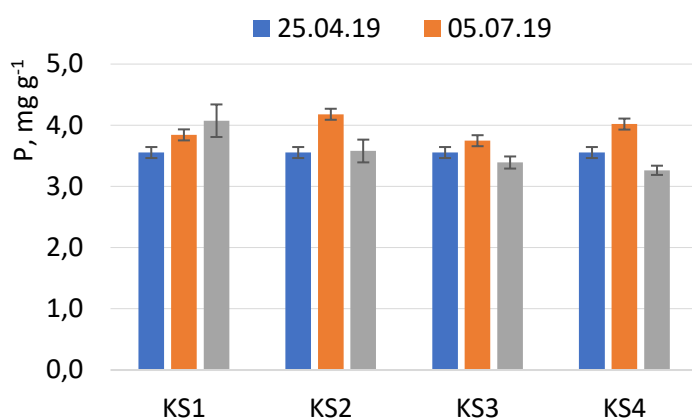
Joonis 3.2.3.6. Fosfaatide sisalduse muutused merevees ja kasvumahutites.

Kolmandal katseperioodil (ööpäeva keskmine veetemperatuur mahutites 12,3 °C) oli juurdekasv kõikides katseseeriates positiivne (joonis 3.2.3.4). Kõrgemad juurdekasvu ööpäevased väärtused arvutati katseseeriates, kus valguspäeva pikkuseks oli 18 tundi, kusjuures statistiliselt olulisi erinevusi sõltuvalt erineva valgusallika kasutamisest ei leitud. Summaarseks juurdekasvuks arvestatuna kogu katseperioodi (18/04/ – 25/11/) kohta saadi katseseerias KS1 18,3%, KS2 29,0%, KS3 11,9% ja KS4 18,5%, kusjuures statistiliselt oluline erinevus juurdekasvu väärtustes leiti suure varieeruvuse tõttu sama katseseeria erinevates mahutites inkubeeritud agariku juurdekasvudes ainult KS3 ja KS4 vahel.

Agariku toitainete sisalduses täheldati statistiliselt olulisi ajalisi muutusi ainult lämmastiku puhul, mille sisaldused vetikates langesid märkimisväärselt võrreldes algmaterjaliga (11,1 – 13,7 mg g⁻¹ vs 17,6 mg g⁻¹) (joonis 3.2.3.7). Agariku fosforisisaldus katse lõpus jäi kõigis katseseeriates praktiliselt samale tasemele algmaterjaliga (3,6 mg g⁻¹), varieerudes 3,6 ja 4,1 mg g⁻¹ vahel (joonis 3.2.3.8).

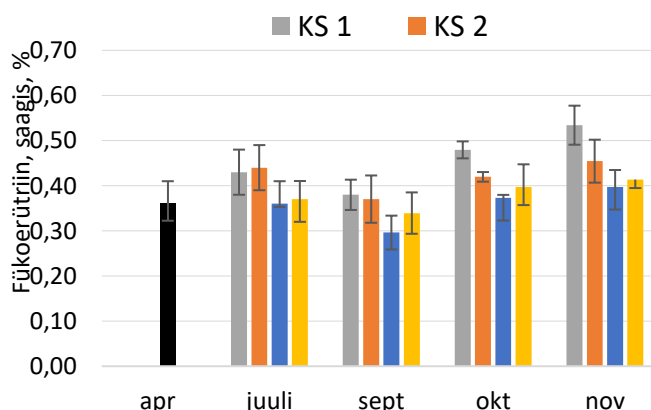


Joonis 3.2.3.7. Lämmastiku (N) sisaldus agarikus erinevates katseeriates.

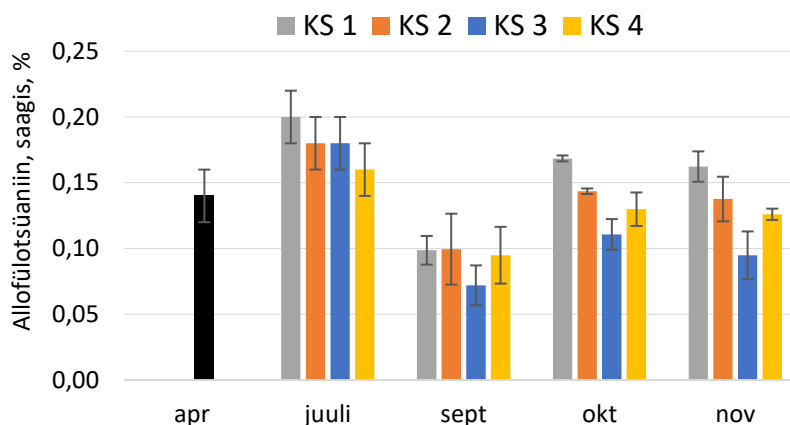


Joonis 3.2.3.8. Fosfori (P) sisaldus agarikus erinevates katseeriates.

Punaste pigmentide, fükoerütriini ja allofükotsüaniini, sisalduse (saagise % kuivaines) muutused katseperioodil erinevates katseeriates on esitatud joonistel 3.2.3.9 ja 3.2.3.10. Mõlema pigmendi puhul osutus statistiliselt oluliseks ajafaktor ning katseeriast (kasvukeskkonnast) tingitud muutused pigmentide sisaldustes olid vähem olulised. Samas fükoerütriini kõrgemad saagised määrati katseeriates KS1 ja KS2, kus valgusallikana kasutati LED lampe ja allofükotsüaniini kõrgemad saagised katseerias KS1, kus valguspäeva pikkuseks oli 12 tundi (teistes katseeriates 16 tundi).



Joonis 3.2.3.9. Fükoerütriini saagise % muutused katseperioodi jooksul agarikus erinevates katseeriates (KS).



Joonis 3.2.3.10. Allofükotsüaniini saagise % muutused katseperioodi jooksul agarikus erinevates katseeriates (KS).

Katseperioodi lõpus agarikus määratud tardaine furtsellaraani saagistes ei leitud katseeriatega vahel märkimisväärseid erinevusi: KS1 – 21,6%, KS2 – 20,9%, KS3 – 19,4% ja KS4 – 22,4% (arvutatud vetika kuivaine kohta)

3.3. Metoodilised soovitused agariku kultiveerimiseks

Võttes aluseks eelpool esitatud kolme, spetsiaalses vetikate kultiveerimise süsteemis (vt tehniline kirjeldus ptk 2.2) läbi viidud kultiveerimiskatsete tulemused ja tähelepanekud, esitame allpool mõned metoodilised soovitused, mida peaks agariku kasvatamise planeerimisel kunstlikes tingimustes arvesse võtma.

- 1) Lähtudes lämmastiku ja fosfori sisalduse suurtest ajalistest muutustest agarikus ($17,6 \text{ mg g}^{-1} \text{ N}$ ja $3,6 \text{ mg g}^{-1} \text{ P}$ vs $13,1 \text{ mg g}^{-1} \text{ N}$ ja $2,7 \text{ mg g}^{-1} \text{ P}$ määratud vastavalt aprillis ja maisagariku looduslikust kooslusest Kassari lahes kogutud materjalis, planeerida kultiveerimisperioodi algus võimalikult varakevadisele ajale, kui toitainete sisaldus vetikas on kõrge, s.o märtsi lõpp/aprilli algus
- 2) Kuna agariku juurdekasv meie poolt läbi viidud katsetes peatus reeglina juuli lõpus/augustis, mille üheks põhjuseks oli suure tõenäosusega merevee temperatuuri tõus, mis koos suhteliselt kõrge angaari õhutemperatuuriga viis mahutites veetemperatuuri üle $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ja initsieeris/soodustas agariku osalist lagunemist, siis valida kultiveerimisperioodi pikkuseks 4 kuud (aprill – juuli). Kui kasvumahutite temperatuuri on võimalik hoida alla $18 \text{ }^{\circ}\text{C}$ võib kasvuperioodi pikendada (nt kolme kuu võrra)
- 3) Põhimõtteliselt on agarikku võimalik kasvatada/säilitada ka nn talvetingimustes, kuid nõuab lisakulutusi, et tagada nt pidev veevahetus merega. Samas tuleb arvestada, et



sügisel agariku looduslikust kooslusest kogutud algmaterjali toitainete sisaldus on madal.

- 4) Valguspäeva pikkuse valikul arvestada, et lühike valguspäeva pikkus (nt 12 h) võib mõnevõrra soodustada nt fükobiliproteiinide (punaste pigmentide) sünteesi, samas juurdekasv on kiirem pikema valguspäeva juures (nt 16 h)
- 5) Kuna toitainete sisaldus merevees agariku aktiivsel kasvuperioodil kevadel ja varasuvel on reeglina madal (eriti vetikate kasvuks elulise tähtsusega nitraatide sisaldus), mis viib lämmastiku ja fosfori varude ärakasutamisele vetikas. Madal lämmastiku sisaldus agarikus pidurdab nt punaste pigmentide sünteesi. Seega võiks edaspidi kaaluda kasutada nt kalafarmide heitvett agariku kasvukeskkonna toitainetega rikastamiseks
- 6) Epifüütsete vetikate kasvamise vältimiseks kasvumahutite seintel soovitame kasutada valgustussüsteemis LED lampe, mille valgusspektrit ja valgusintensiivsust ($PAR < 200 \mu M^{-2} s^{-1}$) on võimalik kontrollida.
- 7) Agariku asustustiheduseks kasvumahutites $2-3 \text{ kg m}^{-2}$
- 8) Veekvaliteedi (läbipaistvuse) tagamiseks kasutada igas mahutis individuaalset veefiltrit

3.4. Hinnang välja töötatud kultiveerimistehnoloogiale

Projekti raames välja töötatud kultiveerimistehnoloogia rakendamine/katsetamine agariku kunstlikuks kasvatamiseks näitas, et kultiveerimissüsteemis on võimalik saavutada agariku loodusliku kooslusega sarnane biomassi juurdekasv. Samuti on põhimõtteliselt võimalik manipuleerides valguskeskkonnaga mõjutada punaste pigmentide sisaldust agarikus. Agariku juurdekasvu kiirust oleks kindlasti võimalik tõsta, kuid meetodika lõplikuks välja töötamiseks, katsetamiseks ja edasiarendamiseks on vajalikud jätku-uuringud. Kuna agariku puhul on tegemist aeglase kasvuga liigiga, siis jääb kahe aastase kestvusega projekt liiga lühikeseks, et selgitada välja kõige sobivamad/optimaalsed kultiveerimistingimused. Kindlasti vajaks täiustamist ja uute valgusallikate katsetamist mahutite valgustussüsteem, et tagada valguse ühtlasem jaotus kasvumahutites. Lahendust vajaks ka mahutite võimalik jahutamine kesksuvisel perioodil, kuna kõrge veetemperatuur osutus suurimaks biomassi juurdekasvu alandavaks teguriks. Agariku kasvatamiseks kunstlikes tingimustes kasvatamise tehnoloogiat võiks kasutada ka integreeritult nt maismaa kalakasvandustega, kasutades nende toitainete rikast vett agariku biomassi juurdekasvu kiirendamiseks. Perspektiivis on kultiveerimistehnoloogiat võimalik edasi arendada ja rakendada ka teiste tööduslikku väärtust omavate suurvetikate (nt agariku kinnitunud vormi ja punavetikas *Ceramium tenuicorne*) kasvatamiseks.



4. Agariku ja teiste suurvetikaliikide kultiveerimise perspektiivid Eestis

Kuna Eestis on vesiviljelussektor alles arenemas ja välja kujunemas, siis viidi vetikakasvatusega, kas otseselt või kaudselt seotud firmade ja asutuste (Nordic Seaweed Solutions OÜ, Vetik OÜ, AS EstAgar, TLÜ loodus- ja terviseteaduste instituut) esindajate seas läbi küsitlus selgitamaks välja kas vetikakasvatusel, sh agariku *F. lumbricalis* kultiveerimisel on Eestis perspektiivi. Selleks esitati järgmised küsimused:

- 1) Kas punavetikast *F. lumbricalis* eraldatud pigmentidel (punased fükooerütriinid ja sinised fükotsüaniinid) võiks olla turgu Eestis või välismaal ja kes oleksid selle kõige potentsiaalsemad tarbijad?
- 2) Millistel Eesti rannikumeres kasvavates vetikates sisalduvatel ühenditel oleks Teie arvates veel turgu Eestis või välismaal ja potentsiaali tulevikus töenduslikuks tootmiseks?
- 3) Kas peate vajalikuks, näeksite perspektiivi, et jätkataks kultiveerimismeetodite arendamist ja väljatöötamist, mis võimaldaks kasvatada makrovetikaid (sh agarikku *F. lumbricalis*) kasvatada a) Eesti rannikumeres väljaspool tema looduslike koosluste levikuala ja/või b) maismaal paiknevates kasvandustes, mis võimaldaks kontrollida/optimeerida nende kasvutingimusi (juurdekasvu) ning reguleerida erinevate ühendite, nt pigmentide sisaldust vetikas?
- 4) Kas oskate nimetada makrovetika liiki, mille kasvatamise vastu kontrollitud tingimustes või kunstlikes tingimustes meres oleks teil huvi?
- 5) Millised on Teie arvates põhilised vetikate kasvatamise, kogumise ja kasutamise seotud probleemid Eestis, mis vajaksid edaspidi teaduspõhist uurimist/lahendamist?

Vastustest selgus, et

- 1) Valdavalt nähti agarikust eraldatud pigmentidel potentsiaali kosmeetikas (sh naturaalkosmeetika ja kehahooldustooted). Toiduainetetööstuses nimetatud pigmentide värvainena kasutamise miinuseks peeti konkureerivate toiduvärvide odavat hinda ja meditsiinis kasutamise miinuseks värvaine puhastamise hinda meditsiinilisele puhtusele, konkureerivate kemikaalide odavat hinda ja nende stabiilust võrreldes loodusliku materjaliga.



Fükoerütriinide ja fükotsüaniinide turg on lai ainult sellisel juhul, kui õnnestub need pigmendid väga puhtaks saada. Siis saab neid kasutada meditsiinidiagnostikas fluorestseeruvate värvainetena (sh Eesti haiglates olev diagnostika aparaat, mis vajab rutiinseks töötamiseks fükoerütriini kulutarvikuna). Hetkel ei ole aga veel väga head meetodikat, et agarikust pärinevaid pigmente kõrgpuhtaks saada – TLÜ-s uuritakse võimalusi sellise tehnoloogia arendamiseks. Kõrgpuhtad preparaadid on hinnaga suurusjärgus 100 EUR/mg.

- 2) Potentsiaalseteks liikideks agariku kõrval peeti punavetika prk *Ceramium* (pigmentide eraldamiseks) ja pruunvetikat *Fucus vesiculosus*, millest saadaval valgendava toimega pigmenti kasutatakse kosmeetikas ja sellist pigmenti sisaldavatel kreemidel oleks turgu Aasias.
- 3) Kultiveerimismeetodite arendamise ja väljatöötamise jätkamises nähti perspektiivi nii rannikumeres kui maismaal. Leiti, et vetikates saadavate kõrgema lisandväärtusega produktide jaoks oleks vaja kasvatada vetikaid maismaal ja vähem väärtuslike jaoks meres. Samas peeti vetikate maismaal kasvatamist huvitavamaks, kui oleks võimalik kiirendada juurdekasvu ja/või reguleerida nt pigmentide sisaldust.
- 4) Kõige suurem huvi oli vastanute seas punavetika liigi *Ceramium tenuicorne* kasvatamise vastu kunstlikes tingimustes, millest oleks võimalik eraldada kõrgpuhast fükoerütriini. Kunstlikes tingimustes kasvatamine võimaldaks optimeerida valgust, toitaineid ja soolsust, mis avaldavad pigmentide saagikusele olulist mõju. Ka *Fucus vesiculosus* kasvatamises nähakse perspektiivi nii tema kasutamiseks söögiks kui kosmeetikas.
- 5) Vetikakasvatuse põhiliseks probleemiks peeti kohalike liikide aeglast kasvukiirust. Sellega seoses peeti vajalikuks uurida võimalusi kasvu kiirendamiseks vetikate kultiveerimisel tehistingimustes ja leida uusi nn kõrgema lisandväärtusegaprodukte vetikates, mis kompenseeriks aeglasest kasvust tuleneva kalli hinna. Tähtsaks peeti ka välja selgitada, kuidas erinevate vetikas sisalduvate nn kasulike ainete sisaldus sõltub nende kogumise ajast (sesoonsusest). Tegelema peaks ka bioseleksiooniga, mis võimaldaks välja valida paremate omadustega vetikad, mille kultiveerimine võimaldaks saada mitmeid kordi suuremaid saagiseid mõne huvipakkuva komponendi osas.



5. Summary

The project „Development, testing and evaluation of intensive cultivation technology for production of unattached form of *Furcellaria lumbricalis*” (07/2017 – 31/12/2019) was funded by European Maritime and Fisheries Fund.

Main goal of the project was to develop intensive cultivation technology suitable for unattached form of red alga *F. lumbricalis*, which is characterized by relatively slow growth in its natural habitat in West Estonian Archipelago Sea area. Up to the present *F. lumbricalis* has remained the only seaweed species in the Baltic Sea that is harvested on a commercial scale for extraction of furcellaran, which is widely used as a stabilizing, thickening and gelling agent in the food, pharmaceutical, cosmetics and agriculture industries. At present, there is an increasing interest in a new potential biotechnological application of unattached *F. lumbricalis* biomass as a raw material for extraction of the red pigment R-phycoerythrin.

The cultivation of *F. lumbricalis* was carried out in land based cultivation system with artificial, controlled light environment but with use of natural seawater. During different cultivation experiments *F. lumbricalis* was cultivated at different light conditions (irradiance, spectral composition, day length) to find optimal growth conditions and enhance the growth rate of the alga as well the content of phycobiliproteins in algal thallus.

Growth rate obtained for *F. lumbricalis* in cultivation system remained within the same range of values measured for the alga in its natural population. High water temperature in cultivation tanks in midsummer hindered the growth and initialised decomposition and fragmentation of algal material.

The cultivation technology needs further development and evaluation at different growth conditions. There is a growing interest to cultivate red algae *Ceramium tenuicorne* for extraction of phycoerythrin. The cultivation technology developed for *F. lumbricalis* could be accommodated for *C. tenuicorne*.



6. Kasutatud kirjandus

- Buchholz, C. M., Krause, G., Buck, B. H. 2012. Seaweed and Man. In Wiencke, C., and K. Bischof (eds.), *Seaweed Biology, Ecological Studies 219*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Chopin, T., Sharp, G., Belyea, E. et al. 1999. Open_Water Aquaculture of the Red Alga *Chondrus crispus* in Prince Edward Island, Canada, *Hydrobiologia*, 398/399, 417–425.
- Haglund, K., Pedersen, M. 1993. Outdoor Pond Cultivation of the Subtropical Marine Red Alga *Gracilaria tenuistipitata* in Brackish Water in Sweden. Growth, Nutrients Uptake, Co Cultivation with Rainbow Trout and Epiphyte Control, *J. Appl. Phycol.*, 5, 271–284.
- Israel, A., Levy, I., Friedlander, M. 2006. Experimental Tank Cultivation of *Porphyra* in Israel, *J. Appl. Phycol.*, 18, 235–240.
- Johansson, G., Snoeijs, P. 2002. Macroalgal photosynthetic responses to light in relation to thallus morphology and depth zonation. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 244, 63–72
- Kotta J., Paalme T., Kersen P., Martin G., Herkül K., Möller, T. 2008 Density dependent growth of the red algae *Furcellaria lumbricalis* and *Coccotylus truncatus* in the West Estonian Archipelago Sea, northern Baltic Sea. *Oceanologia* 50, 4, 577-585.
- Kruk-Dowgiałło, L., 1991. Long-term changes in the structure of underwater meadows of the Puck lagoon. *Acta ichthyologica et piscatoria*, 21, 77-84
- Kruk-Dowgiałło, L., Szaniawska, A., 2008. Gulf of Gdańsk and Buck Bay. Ecology of Baltic Coastal Waters, *Ecological studies*, 197, 139-165.
- Lüning, K., Pang, S. 2003. Mass cultivation of seaweeds: current aspects and approaches. *J. Appl. Phycol.*, 15, 115–119.
- Martin, G., Paalme, T., Torn, K. 2006a. Growth and production rates of the loose-lying and attached forms of the red algae *Furcellaria lumbricalis* and *Coccotylus truncatus* in Kassari Bay, the West Estonian Archipelago Sea. *Hydrobiologia* 554, 107-115.
- Martin, G., Paalme, T., Torn, K. 2006b. Seasonality pattern of biomass accumulation in drifting *Furcellaria lumbricalis* community in waters of the West Estonian Archipelago, Baltic Sea. *J. Appl. Phyc.*, 18, 557-563.
- Paalme, T., Kotta, J., Kersen, P., Martin, G., Kuk, H., Torn, K. 2011. Inter-annual variations in biomass of loose lying algae *Furcellaria-Coccotylus* community: the relative importance of local



versus regional environmental factors in the West Estonian Archipelago. *Aquat. Bot.*, 95, 2, 146-152.

Paalme, T., Kotta, J., Kersen, P. 2013. Does the growth rate of drifting *Furcellaria lumbricalis* and *Coccotylus truncatus* depend on algal density and shares? *Proc. Est. Acad. Scie.*, 62, 2, 141-147.

Paalme, T. 2013. Kassari lahe tööndusliku punavetikavaru uuringud. Aruanne. TÜ Eesti Mereinstituut, Tallinn.

Pedersen, M., Snoeijs, P., 2001. Patterns of macroalgal diversity, community composition and long-term changes along the Swedish west coast. *Hydrobiologia*, 459, 83-102.

Titlyanov, E. A., Titlyanova. T. V. 2010. Seaweed Cultivation: Methods and Problems *Russian Journal of Marine Biology*, 36, 227–242.

Titlyanov, E. A., Novozhilov, A. V., Cherbadzhi, I. I. 1993. *Anfelt-siya tobuchinskaya*, Moscow: Nauka.

Trei, T., 1978. The physiognomy and structure of the sublittoral macrophyte communities in Kassary Bay (an area between the Isles of Hiiumaa and Saaremaa). *Kiel Meeresforschungsinstitut*,

4, 117-121. Turan, G., Neori, A. 2010. Intensive seaweed aquaculture: a potent solution against global warming, In: Israel, A. et al. (eds.), *Seaweeds and their Role in Globally Changing Environments*, Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology 15, 357–372.

Tuvikene, R. & Robal, M., 2015. Valgulised pigmendid Läänemere punavetikast *Furcellaria lumbricalis*: sisaldus ja eraldamisvõimalused. Tallinna Ülikool, aruanne, 36 lk.

Ugarte, R., Santelices, B. 1992. Experimental Tank Cultivation of *Gracilaria chilensis* in Central Chile, *Aquaculture*, 101, 7–16.