

**ОСОБЕННОСТИ ИНТЕНСИВНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ
DUNALIELLA SALINA (ОБЗОР)**

Дан обзор литературы по мировому опыту выращивания зеленой водоросли *Dunaliella salina* Teod. Представленные в обзоре материалы дают фактически первую в Украине (по состоянию на 2005 г.) соответствующую обобщенную информацию за период 1960 – 2004 гг.

Наиболее полные сведения по морфологии, систематике, экологии и географическому распространению рода *Dunaliella* Teod. приводятся в монографии Н. П. Масюк [15]. Автор излагает также информацию по методам исследования, сбора и обработки материала, особенностям лабораторного культивирования. Уделяется внимание и вопросам изоляции чистых культур, учету их продуктивности, анализу пигментов, в том числе и β -каротина. Особый интерес представляют материалы Н. П. Масюк по вопросам перспективы практического использования дуналиелы солоноводной, которая содержит 1100 мг % β -каротина в расчете на воздушно-сухой вес водоросли [8 - 12] и является наиболее богатым растительным источником каротина. Однако извлечение последнего – процесс достаточно сложный и трудоемкий.

Питательные среды для культивирования зеленой водоросли *Dunaliella salina*: при использовании пресной воды хорошо развивается на 3-х питательных средах: ОПС – основная питательная смесь [15]; среда Артари и ее модификации [1, 2, 3].

При использовании морской воды основную роль играют ее соленость, наличие необходимых минеральных элементов и отсутствие токсических компонентов.

Наиболее проста по составу среда ОПС. Она поддерживает рост гипергалобного вида *Dunaliella* в течение нескольких месяцев и включает всего 4 соли (г/л): $\text{NaCl} - 116,0$; $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O} - 50,0$; $\text{KNO}_3 - 2,5$; $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 0,2$.

Удельный вес среды – 1,1; pH 6 - 7 (регулируют его с помощью концентрированной щелочи). В состав этой среды входят все необходимые для роста водоросли биогенные элементы. Углерод поглощается из воздуха в виде CO_2 , но может подаваться и дополнительно при интенсификации роста культуры. Микроэлементы поступают в виде примесей, имеющихся даже в химически чистых солях, а также с водопроводной водой. Хлористый натрий и сернокислый магний несут в среде двойную нагрузку, являясь одновременно источниками биогенных элементов и осмотически действующими агентами. Наличие последних играет чрезвычайно важную роль в процессах роста, развития гипергалобной водоросли и синтезе ею β -каротина. В связи с этим осмотичность питательных сред в процессе культивирования должна тщательно контролироваться и поддерживаться на оптимальном уровне.

Питательную среду этого же состава, что и ОПС, но менее концентрированную, Н. П. Масюк использовала для выращивания и других морских видов *Dunaliella* (г/л): $\text{NaCl} - 29$; $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O} - 12,5$; $\text{KNO}_3 - 0,625$; $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 0,033$.

Среду готовят из ОПС разведением водой до удельного веса 1,02. Эти среды, как жидкие, так и агаризованные (0,6 % агар-агара), используют в Институте ботаники НАН Украины [15], выдерживая водоросль на рассеянном свете при температуре 20 - 25°C. Пересев осуществляют раз в 2 - 3 месяца.

Из других сред используют среду Артари (например, в Институте физиологии растений РАН). Среда Артари (в г/л) содержит: $\text{NaCl} - 116$; $\text{MgSO}_4 \times \text{H}_2\text{O} - 50,0$; $\text{KNO}_3 - 2,5$; $\text{KH}_2\text{PO}_4 - 0,2$ (соль растворяется отдельно и потом добавляется в среду); $\text{NaHCO}_3 - 1,0$ (растворяется отдельно и добавляется в среду); железо-аммиачные квасцы – 0,014 (также как предыдущая); микроэлементы – 1,0 мл те же, что и для среды Тамия [13].

Поскольку пропись среды Артари весьма стара [2, 3], в литературе встречается ряд ее модификаций, возникающих в процессе изучения биологии водоросли. Некоторые из них приведены ниже.

Среда А. А. Абдуллаева, В. Е. Семененко по прописи этих же авторов [1] (С. 1145 - 1153). Позднее для условий интенсивного культивирования В. Е. Семененко и А. А. Абдуллаев [33] использовали среду с высоким содержанием азота. Она имела следующий состав (г/л):

KNO_3 – 5,0; KH_2PO_4 – 1,25; MgSO_4 – 50; $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0,009; NaCl – 116; EDTA – 0,037; 2 мл раствора микроэлементов из ранее приготовленного состава указанных солей (H_3BO_3 – 2,86; $\text{MnCl}_2 \times 4 \text{H}_2\text{O}$ – 1,81; ZnSO_4 – 0,222 г/л; MoO_3 – 176,4; NH_4VO_3 – 229,6 мг / 10 л). После приготовления и стерилизации среды ее pH доводят до 7,5 с помощью 0,1 N NaOH.

Для поддержания штамма дуналиеллы в комнатных условиях, т.е. без стабилизации оптимальной температуры и освещенности, используют также среду с добавлением почвенного экстракта. Поскольку при обычном комнатном режиме трудно стабилизировать факторы поддержания культуры, зависящие от погодных условий, температурного режима помещения, его естественного освещения, можно использовать среду следующего состава:

KNO_3 – 1,0 г / 100 мл; K_2HPO_4 – 0,1 г/л; почвенный экстракт (приготовление описано ниже) – 30 мл; искусственная морская вода – 930 мл

Приготовление почвенного экстракта. Колбу объемом 0,5 л на 1/3 заполняют почвой (плодородной, чистой, например, садовой или огородной, без пестицидов, гербицидов и др. токсикантов) и заливают дистиллированной водой так, чтобы уровень последней был выше на 5 см слоя почвы. Прогревают смесь на водяной бане до вскипания дважды в течение 20 мин с интервалом в одни сутки. Используют экстракт для приготовления среды после декантации. По составу эта среда соответствует прописи N 14 из материалов [46].

Для приготовления указанной среды применяют искусственную морскую воду. Последнюю готовят следующим образом. В 1000 мл дистиллированной воды растворяют последовательно 60 г поваренной соли (NaCl), 10 г $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$; 1,5 г KCl ; 2,0 г CaSO_4 . Далее смешивают растворы в следующем соотношении: 930 мл искусственной морской воды + 20 мл раствора калия азотнокислого + 20 мл раствора калия фосфорнокислого двухзамещенного + 30 мл почвенного экстракта. Приготовленную среду стерилизуют перед посевом культуры, охлаждают, разливают в боксе в стерильную посуду.

На приведенных выше прописях питательной среды дуналиелла развивается по-разному, так как это зависит не только от состава среды и штамма, но и условий (температура, освещенность, их сочетание). По своим биологическим особенностям водоросль термофильна и светолюбива.

Культивирование. На сегодняшний день разработаны и применяются в промышленных условиях выращивания *D. salina* следующие типы культиваторов [45, 47, 58]:

1. Открытые бассейны с искусственным и конвекционным перемешиванием;
2. Кольцевые бассейны с лопастными роторами;
3. Полиэтиленовые мешки с барботажом воздухом;
4. Закрытые фотобиореакторы.

Показатель производства морских водорослей в аквакультуре в 2003 г. составил 10×10^6 т сырого веса. Главным сдерживающим фактором в процессе развития аквакультуры является ценовой параметр. Так, скажем, от 40 до 70 % затрат австралийских рыбозаводов составляют расходы на выращивание микроводорослей, являющихся кормом для рыб.

Наряду с культурами *Arthrospira platensis* и *Chlorella vulgaris* культура *D. salina* является одной из наиболее широко используемой в мировой практике водорослевой

аквакультуры [54]. Особенность культивирования трех данных видов заключается в специфичности питательных сред для них, а именно: в высоких концентрациях биогенов для *Chlorella*, бикарбоната натрия (и pH) для *Arthrospira*, и хлорида натрия для *Dunaliella*. При таких условиях клетки других видов микроводорослей не в состоянии проводить нормальные процессы жизнедеятельности и погибают. Данный факт позволяет использовать открытые системы культивирования для этих трех видов, что упрощает процесс производства и, главное, удешевляет его. Использование в промышленных масштабах других видов микроводорослей ограничено из-за применения закрытых культиваторных систем, предотвращающих внесение посторонних видов водорослей. Непропорционально-проточная система культивирования в промышленности не применяется, несмотря на то, что обеспечивает поддержку культивируемого вида на уровне альгологически чистого, из-за ряда технических или теоретических сложностей.

Технологический процесс выращивания *D. salina* еще очень далек от идеального, даже если сравнивать с технологией выращивания *A. platensis*. Для последней разработаны режимы, среды и так далее, позволяющие получать в сутки с 1 м² 10 г сухой биомассы. Для *D. salina* продуктивность составляет 1 - 2 г / м²·сутки. И если австралийцы могут позволить себе выращивать *D. salina* в естественных водоемах площадью в сотни гектар, то США, Израиль, Испания, Украина гиперсолеными водоемами такой площади не обладают. Кроме того, если вести речь об искусственных бассейнах (культиваторах), то найти для них территорию в сотни гектаров проблематично. Поэтому для этих стран более остро стоит проблема выбора между экстенсивной (низко производительные системы, занимающие большие площади) и интенсивной культурами (высоко производительные и компактные системы). В связи с этим, в Израиле и Японии развивают технологию закрытых трубчатых фотобиореакторов с искусственным освещением культуры клеток [58]. Они позволяют получать гораздо большую продуктивность, чем в открытых системах, и на небольших территориях. К сожалению, данные преимущества нивелируются высокой стоимостью получаемой биомассы. В Испании разрабатываются закрытые трубчатые фотобиореакторы с естественным солнечным освещением суспензии клеток [51]. Данная конструкция требует больше используемой площади, но себестоимость продукции ожидается меньшей, чем в предыдущем случае. Эта система культивирования пока находится только на стадии лабораторных исследований. Параллельно разрабатывается и уже внедрена на юге Испании в полупромышленное производство система открытого культивирования, схожая с системой, разрабатываемой в Украине. Производство состоит из системы бассейнов по 20 м², каждый. Скорость перемешивания - 0,55 м/с, рабочая глубина - 10 см. При двухдневном цикле квазинепрерывной культуры, продуктивность составляет 1,6 г/м²·сут [49]. В Украине при ежесуточном обмене 10 % в квазинепрерывной культуре продуктивность системы составляет 2 г/м²·сутки. Разница в урожае, возможно, определяется различиями в используемых питательных средах.

Схема препаративного выделения б-каротина из клеток *Dunaliella salina*.

Известно несколько схем экстракции и препаративного выделения каротина из клеток водорослей. Рассмотрим их в хронологическом порядке.

Оригинальные методы извлечения пигментов и получения препаратов каротина из дуналиеллы предложены В. П. Вендом и др. [4], а также Ю. Ф. Гелескулом [6]. Предлагаемая биохимиками технология получения каротина состояла из таких основных этапов:

1. Механического разрушения клеток водорослей;
2. Флотации клеточных осколков с каротином;
3. Соосаждения последних гидратом окиси железа и отделения осадка от рапы;
4. Экстрагирование пигмента органическими растворителями и получение препаратов каротина.



Рисунок 1. Схема производства каротина из рапы, содержащей клетки *D. salina* (по Гелескулу)

Figure 1. Scheme of carotinum production from natural brine keeping cells *D. salina* (on Geleskul)

К сожалению, технология получения каротина по данной схеме не стала общепринятой в практике. По-видимому, этому мешали ее определенная сложность, дороговизна, а в основном сравнительно невысокие уровни выхода β -каротина. Последние, на наш взгляд, определялись не методом выделения, а низкой концентрацией конечного продукта в неинтенсивной культуре.

Вместе с тем важность получения каротина за счет индустриализации фотосинтеза водоросли не вызывала сомнения, и работы по изучению задач промышленного культивирования и переработки биомассы дуналиеллы солонowodной продолжались в лабораториях различных организаций Украины (Киевский национальный университет, Институт ботаники НАН Украины, Институт биохимии НАН Украины и др.). Глубокие физиологические исследования в этом направлении были развернуты в Москве (Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН), Красноярске (Институт биофизики СО РАН), и других организациях. Однако изучались в основном вопросы биологии (в том числе особенности физиолого-биохимических процессов водоросли, определялись факторы, влияющие на рост водоросли и синтез β -каротина, использование водоросли в качестве биотеста и др. До промышленной реализации технологий разработки в различных республиках СССР в большинстве случаев не доходили.

За рубежом (например, в Германии, Израиле, Италии, Испании, ЮАР и др. странах) также выполнялся широкий фронт работ. Насколько нам известно, определенные успехи в этом направлении имеются в Германии, Японии, были в Таиланде. Интерес к проблеме по-прежнему имеется в разных странах, но публикаций по данному вопросу немного, поскольку секреты новых и достаточно сложных биотехнологий обычно не распространяются, особенно если они касаются новых промышленных аспектов. В данном случае речь идет о продаже лицензий.

Одной из основных причин ограничения масштабов промышленного культивирования дуналиеллы, на наш взгляд, является физиолого-биохимическая сложность метаболизма водоросли и его слабая изученность с точки зрения регуляции синтеза каротина в условиях промышленного процесса. По имеющейся информации, в настоящее время технологический процесс достаточно сложен, а продуктивность выхода конечного продукта – β -каротина невысока и зависит от многих факторов. К их числу относят и технологию препаративного выделения из суспензии водоросли β -каротина. Кроме ранее приведенной технологической схемы (см. рис. 1), в лабораторных масштабах разработаны и другие технологии. Одна из них рассмотрена на рис. 2.

Специфичность метаболизма водоросли. Дуналиелла представляет большой интерес не только как продуцент β -каротина, но и как весьма специфический организм с точки зрения физиолого-биохимических особенностей. Считают [1], что организм важен как оригинальная физиолого-биохимическая модель по следующим аспектам.

Во-первых, как галофильная водоросль с точки зрения проблемы солеустойчивости растительных клеток и механизмов их осморегуляции.

Во-вторых, в связи с механизмами биосинтеза и функциональной ролью β -каротина, гиперсинтез которого происходит в клетках *D. salina* как своеобразная адаптивная реакция на экстремальные воздействия.

В-третьих, для познания механизмов транспорта ионов и органических веществ через перипласт, который является единственным барьером на пути экзогенных веществ в клетку водоросли.

В-четвертых, отсутствие у *D. salina* жесткой целлюлозной оболочки в сочетании с жизнедеятельностью в высококонцентрированных солевых растворах делает водоросль практически уникальным объектом для препаративного выделения оргanelл (ядер, хлоропластов и др.) из фотосинтезирующих клеток посредством простых приемов - ресуспензирования клеток в физиологические растворы с различной тоничностью и дифференциального центрифугирования.

В-пятых, как фотосинтезирующий организм, характеризующийся специфическим распределением ферментов карбоангидразного комплекса. Доказаны [30] новые представления о существовании в фотосинтезирующих клетках карбоангидразной системы, включающей растворимые и мембраносвязанные формы фермента. Это позволяет говорить о наличии в клетках микроводорослей конститутивных и индуцибельных форм карбоангидразы. Последнее в свою очередь дает новые представления об организации CO_2 концентрирующего механизма и доказывает необходимость полностью сформированной карбоангидразной системы, включающей мембраносвязанные (мсКА) и растворимые (рКА) формы фермента, для функционирования процессов накопления неорганического углерода в фотосинтезирующих клетках, а также для превращения этого пула в форму, необходимую для карбоксилирования.

Становится ясным, что механизм концентрирования CO_2 , включающий метаболические пути неорганического углерода до включения его в органические продукты, является важным регуляторным звеном жизнедеятельности фотосинтезирующей клетки, сохранения ее гомеостаза и адаптации к условиям углекислотного обеспечения. Практически это позволяет использовать новые способы культивирования микроводорослей в условиях углекислотного ограничения, а также на бикарбонатсодержащих средах, что значительно снижает себестоимость биомассы и является новой ресурсосберегающей технологией, получившей название “бикарбонатный эффект”.

Таким образом установлено, что карбоангидраза является необходимым звеном утилизации низких концентраций CO_2 атмосферы и участвует в механизме концентрирования углекислоты. Необходимыми условиями для увеличения активности карбоангидразы, также как и для индукции CO_2 концентрирования, являются низкая концентрация CO_2 и свет. Решающее значение для синтеза фермента имеет даже не концентрация CO_2 , а соотношение CO_2 / O_2 в газо-воздушной среде [32].

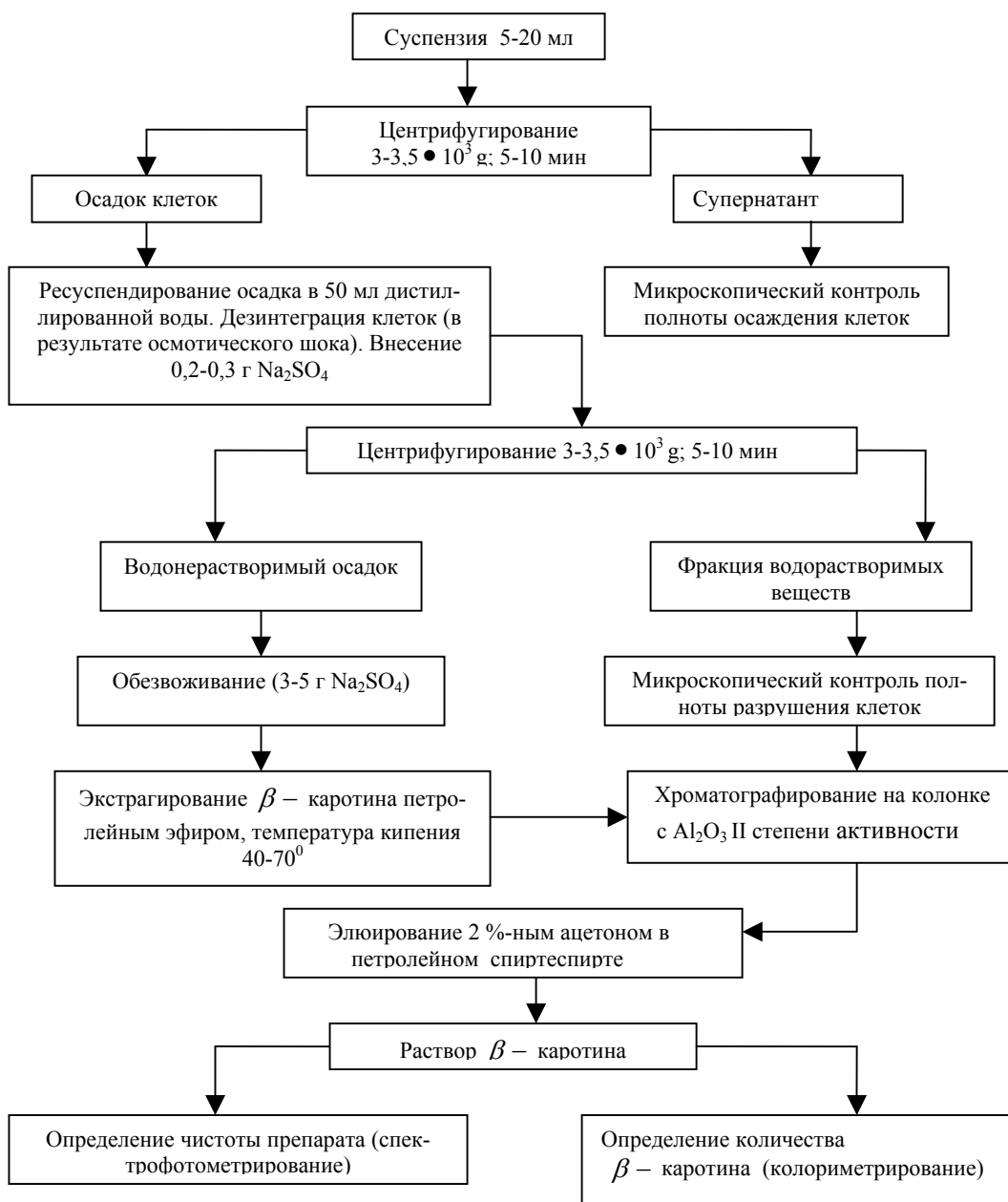


Рисунок 2. Схема препаративного выделения β-каротина из клеток *D. salina*
Figure 2. Scheme of preparative separation of β-carotene from *D. salina*'s cells

У дуналиеллы, как и у других, способных к активному движению видов зеленых водорослей (например, *Chlamydomonas*), а также у хлореллы карбоангидразная активность определяется не только в растворимых, но и в нерастворимых компонентах клетки.

Учитывая тот факт, что полностью сформированная карбоангидразная система обеспечивает утилизацию низких концентраций углекислоты, можно говорить о высо-

ких адаптационных возможностях дуналиеллы к осуществлению фотосинтеза в осмотически активной среде солевых растворов.

Следовательно, энергетика дуналиеллы достаточно надежно защищена, что и позволяет организму осуществлять синтез каротина и липидов, как максимально восстановленных продуктов. Однако об этих физиолого-биохимических механизмах организма мы знаем еще очень мало. Хотя показано [30], что карбоангидразная система включает конститутивные и индуцибельные формы фермента, которые различаются состоянием (мембранносвязанная и растворимая формы карбоангидразы), локализацией в клеточных компартментах, адаптивными и молекулярными свойствами, а также функциональной ролью в клетке.

Вместе с тем применяемые для выращивания *D. salina* методы культивирования и получаемая при этом продуктивность – 1 - 4 млн. клеток/мл за 30 дней, т.е. 0,03 - 0,1 млн. кл./мл в сутки весьма малы для промышленного использования. Это затрудняет не только практическое применение этих водорослей, как продуцентов β -каротина, но и проведение исследований, в особенности биохимических. Поэтому для усиления темпов роста водоросли и синтеза каротина проверялись разные факторы. Одним из наиболее важных факторов являлась интенсивность освещения и его спектральная характеристика. С этой целью были проверены различные источники света при круглосуточном режиме освещения. Это лампы люминесцентные типа ЛБЦ-30, ЛБ-80 (интенсивность света соответственно 40 и 60 тыс. эрг/(см² x сек), а также 6-киловаттные ксеноновые ДКСТВ-6000 с освещенностью в пределах от 10 до 430 тыс. эрг/(см² x сек). Одновременно удерживалась стабильная температура и круглосуточно продувалась газо-воздушная смесь с 1,7 % CO₂.

В качестве питательной среды использовали среду Артари и среду, состав которой приведен в тексте. Культуральные сосуды, питательные среды, системы разводки газо-воздушной смеси, увлажнители и бактериальный фильтр стерилизовали автоклавированием. Учет скорости роста культур проводили путем счета количества клеток и нефелометрически – по изменению оптической плотности на фотоэлектроколориметре ФЭКМ-56 с зеленым светофильтром.

Сложность подсчета клеток определялась их различными размерами, а также отличиями в устойчивости к осмотическому шоку в зависимости от возраста. При разведении водой они по-разному набухали. Это приводило к их разрушению, а также к увеличению мутности раствора и завышению данных оптической плотности, которая возрастала по мере старения культуры и различалась у разных штаммов. Поэтому для разведения культуры нужно применять не дистиллированную воду, а изотонический физиологический раствор. Относительно модификации среды Артари, которая проводилась, дают представление приведенные ниже данные (табл. 2).

Таблица 2. Состав питательных сред для культивирования *D. salina*
Table 2. Compound of mediums for *D. salina* cultivation

Реактивы	Среда Артари, г/л	Оригинальная среда Абдуллаева и Семененко, г/л
NaCl	116	116
MgSO ₄ × 7 H ₂ O	50	50
K ₂ HPO ₄	0,2	-
KH ₂ PO ₄	-	1,250
FeSO ₄ × 7 H ₂ O	-	0,009
ЭДТА	-	0,037
Ca(NO ₃) ₂	-	Следы
Почвенная вытяжка	Следы	-

В среду вносится раствор микроэлементов: (1 мл на 1 л среды следующего состава: H_3BO_3 – 2,86; $\text{MnCl}_2 \times 4 \text{H}_2\text{O}$ – 1,81; $\text{ZnSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0,222 г/л; MoO_3 – 176,4; NH_4VO_3 – 229,6 мг/10 л. После приготовления и стерилизации среды ее pH доводят до 7,5 с помощью 0,1 N NaOH. В этих условия рост водоросли усиливается без соответствующего лаг-периода, давая при двустороннем освещении 40 тыс. эрг/(см² x сек) ежесуточные приросты порядка 5 - 6 млн. клеток на 1 мл. Однако корректировка pH до 7,5 при этом обязательна.

Зависимость роста интенсивной культуры от концентрации хлористого натрия. Дуналиела нормально развивается только в высококонцентрированных солевых растворах, содержащих 11 % хлористого натрия, и сохраняет жизнеспособность в 20 - 25 %, т.е. почти насыщенном растворе. В экстенсивной культуре оптимальным для роста водоросли является 2 М раствор NaCl. При его более высоких концентрациях наблюдается некоторое угнетение роста, а при 1 М и 0,5 М концентрациях – гибель водорослей.

Галобность водоросли наиболее ярко выражена в природных условиях на примере карт, заполненных морской водой. На поверхности этих водных объектов вследствие испарения воды формируется солевая пластинка (до 0,5 см толщины). Цвет этой пластинки красноватый от большой концентрации клеток водоросли. Подстилающая пластинки вода имеет значительно меньшую концентрацию клеток, несмотря на то, что жидкость в картах хорошо прогревается (до 35 - 40°C и выше), а солевая пластинка формируется из-за испарения соленой морской воды.

Зависимость роста интенсивной культуры *D. salina* от температуры. Зависимость роста от температуры выражена четко, но по данным разных авторов, уровень оптимума различен. Это можно объяснить сопряжением температуры и освещенности. Так, Джайбор [15] нашел температурный оптимум роста при 30° С, Милько [16] – в пределах 20 - 32° С, а Г. Юркова [42] описала одинаковую скорость роста в пределах 20 - 32°С. Различаются по температурным оптимумам и разные штаммы. Например, для выращивания другого штамма дуналиеллы солоноводной при освещенности 60, 160 и 370 эрг/(см² x сек) температурный оптимум находился при 32 - 34° С.

Установлено, что при освещенности 20 тыс. эрг/(см² x сек) концентрация клеток водоросли достигает 35 млн./мл на 6-е сутки культивирования. При освещенности 40 тыс. эрг/(см² x сек) численность клеток водоросли за этот же период достигает 60 млн./мл, при освещенности 60 тыс. эрг/(см² x сек) превышает 100 млн./мл, т.е. клетки водоросли очень чувствительны к уровню освещенности.

Более того, при высокой освещенности клетки около 3 суток находятся в лаг-периоде в случае небольших плотностей засева (2 млн./мл при толщине слоя суспензии 3 см). Это отличает их от низких освещенностей, когда рост культуры при такой плотности засева протекает без заметного лаг-периода.

Световые кривые роста дуналиеллы, снятые в условиях интенсивной культуры при различных температурах, показали, что полунасыщающие интенсивности света находятся в области 50 - 80 тыс. эрг/(см² x сек). При этом установлено, что для разных штаммов при определенном сочетании освещенности и температуры суточные приросты численности клеток дуналиеллы достигают 18 - 20 млн. на 1 мл суспензии, что более чем в 200 раз превышает описанные в литературе продуктивности этой культуры.

Применение метода периодических разбавлений культуры (квазинепрерывное выращивание) с поддержанием оптической плотности в пределах линейного участка кривой роста показывает возможность длительного культивирования дуналиеллы с высокой и стабильной продуктивностью. При этом следует отметить, что в условиях интенсивной культуры клетки дуналиеллы сохраняют близкие к описанным Н. П. Масюк размеры, высокую подвижность, а их размножение происходит в основном посредством вегетативного деления.

Подводя итоги сказанному выше, можно отметить, что выращивание дуналиеллы в интенсивной культуре возможно. Это обеспечивает существенное повышение ростовых характеристик и фотосинтетической продуктивности водорослей. На световую и температурную зависимость роста водоросли большое влияние оказывает оптическая мутность культуры. Это очень важно, так как рост в разбавленных культурах имеет очень длительный лаг-период, что искажает температурную зависимость.

Обращает на себя внимание факт роста культур и сужения зоны оптимальных температур по мере увеличения освещенности и старения культуры. При одной и той же температуре, но более высокой освещенности рост культуры значительно усиливается, что отмечено и у хлореллы [5]. Это указывает на возможность фотоингибирования клеток при неблагоприятной температуре. Поэтому важное значение имеет сопряженность освещенности и температуры.

Влияние на рост водоросли и каротиногенез различных химических факторов. Этот вопрос привлекал внимание многих специалистов в связи с попытками повышения темпов роста водоросли и выходов β -каротина. Однако полученная информация весьма ограничена и разнопланова, хотя многие авторы приходят к выводу о возможности введения водоросли в интенсивную культуру, что обеспечивает существенное повышение ее ростовых характеристик и фотосинтетической продуктивности. В связи с этим большое внимание было уделено изучению ферментных систем водоросли и подбору химических факторов ее регуляции, а также цитохромов дуналиеллы.

Установлено [40, 41], что у галофильной водоросли дуналиеллы при определенных условиях обработки обнаруживается достаточно высокий уровень активности фермента цитохромоксидазы. Однако ее активность очень вариабельна и зависит от многих факторов. В связи с этим в одном случае для обнаружения ее активности гомогенат разрушенных клеток водоросли необходимо было пропускать через сефадекс G-50, в другом требовалось разрушение клеток растиранием с кварцевым песком без пропускания через сефадекс и без комплексообразователя ЭДТА.

Влияла на активность цитохромоксидазы и соленость, а также окраска клеток (зеленая или желтая). Установлено, что цитохромоксидазная активность (рассчитанная на 1 мг белка по разности в поглощении кислорода образцом с цитохромом и без него) в желтых клетках в одинаковых условиях эксперимента была почти в 2 раза выше, чем в зеленых. Соответственно этот показатель составлял 0,8 (зеленая форма) и 1,4 (желтая). Следовательно, при культивировании водоросли, учитывая сложности ее физиолого-биохимических механизмов и их недостаточную изученность, нельзя допускать позеленения клеток, так как это существенно снижает выход каротина.

Факт усиления активности цитохромоксидазы при повышении солености среды можно объяснить уменьшением концентрации кислорода в среде. В этих условиях *D. salina* отвечает на ухудшение кислородного режима в среде усилением активности цитохромоксидазы, которая имеет из оксидаз максимальное сродство к кислороду.

Затрагивая фермент цитохромоксидазу, нельзя забывать о цитохромах водоросли. Как свидетельствуют имеющиеся данные [41], у галофильной водоросли дуналиеллы обнаружено наличие, по меньшей мере, 5 цитохромов с максимумами поглощения при 550, 552, 554 - 555, 558 - 559 и 561 - 562 мкм. Предполагается также существование более двух цитохромных компонентов с α -максимумами между 558 - 562 мкм. Однако это пока не доказано. В исследованиях с суспензией живых клеток надежно выявляются только цитохромы, поглощающие при 555, 558 и 562 мкм. В хлоропластах высших растений и хроматофорах водорослей для протекания фотосинтеза показана необходимость наличия цитохромов *f* (555), *b6* (561), *b3* (558 - 559). Считают, что у дуналиеллы все эти компоненты обнаружены.

Обнаружение у *D. salina* цитохрома-550, восстанавливаемого гидросульфитом, делает почти очевидным наличие у этой водоросли цитохромов *a* + *a3*. Можно почти с полной уверенностью связать цитохром 554 - 555 с электронно-транспортной цепью при

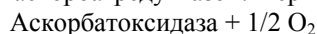
фотосинтезе по аналогии с цитохромом *f* из высших растений и из хлореллы. Последнее относится также к цитохромам – 558 - 559 и 561 - 568.

Таким образом, для галофильной зеленой водоросли *D. salina* характерно наличие весьма широкого набора компонентов цитохромной системы. Преобладает над остальными цитохром 555 и особенно цитохромы 558 и 562.

Поскольку дуналиелла привлекает внимание исследователей своей необычной способностью накапливать β -каротин в неблагоприятных для своего развития условиях [8, 55], значительное внимание уделялось также редуктазо-аскорбатооксидазной характеристике водоросли [24].

Установлено, что у *D. salina* в процессе терминальной оксидации определенное место занимает система окисления и восстановления аскорбиновой кислоты. Окисление последней осуществляется с помощью аскорбатооксидазы и других оксидаз. Восстановление дегидроаскорбиновой кислоты происходит с помощью аскорбатредуктазы. Донором водорода в этой реакции может выступать восстановленный глутатион.

Следовательно, *D. salina* принадлежит к организмам с наличной аскорбатооксидазой и аскорбатредуктазой. Ферменты действуют по схеме:



АК -- <-----

-----> ДАК

Аскорбатооксидаза + Восстановленный глутатион

Таким образом, клетка дуналиеллы солоноводной является сложной биохимической системой, для которой характерен активный редуктазо-аскорбатооксидазный комплекс ферментов, присутствие аскорбиновой кислоты и соединений, способствующих ее восстановлению. Это свидетельствует об активном окислительно-восстановительном потенциале клеток и высоком уровне ее метаболических процессов. Сформировавшиеся в процессе эволюции системы синтеза каротина представляют большой научный и практический интерес, поскольку могут открыть действующие механизмы и новые аспекты биологического синтеза β -каротина.

Сравнительная оценка влияния рН и некоторых ингибиторов на активность каталазы олиго- и гипергалофильных водорослей [20] позволила определить пределы изменения рН, при которых проявляется ферментативная активность каталазы у водорослей различных экологических групп.

Как известно, максимальная активность большинства ферментов отмечается при определенной величине рН. В большинстве случаев исследованные ферменты проявляли максимальную активность в интервале рН 5,0 - 9,0. Лишь у отдельных ферментов оптимальные для каталитического действия значения рН выходили за эти пределы. Например, аргиназа, щелочная фосфатаза и отдельные изоформы лактатдегидрогеназы животных клеток максимальную активность проявляли при рН 9,5 - 10,7. Относительно каталазы установлено [29], что ее препараты из животных, бактериальных клеток и клеток высших растений характеризуются достаточно узким рН-оптимумом 7 - 8,0 [7].

Установлено [22], что у *D. salina* и *D. minuta* резкое повышение активности фермента каталазы отмечается при рН 7,0 - 9,9. Скорость реакции при этом возрастает почти в 3 раза. Известно, что у зеленой водоросли *Chlamydomonas pluristigma* Bristol. (штамм 449) границы рН для проявления ферментативной активности каталазы шире (4,2 - 11,0), чем у дуналиелл. Наиболее высокий уровень активности каталазы у хламидомонасы отмечается при рН в пределах 6,0 - 8,0. При дальнейшем подщелачивании среды активность фермента падает. Ниже представлены концентрации ингибиторов (М), которые подавляют активность каталазы на 50 % (табл. 3).

По характеру ингибирующей активности указанные выше соединения образуют следующий ряд: гидроксилламин > цианид > азид > фторид.

Таблица 3. Сравнительная активность каталазы водорослей при ее ингибировании различными химическими соединениями в молярной перекиси водорода

Table 3. Comparative activity of algae catalase at its inhibition by various chemical combinations in molar hydrogen dioxide

Ингибиторы	<i>Chlamydomonas pluristigma</i>	<i>Dunaliella salina</i>	<i>Dunaliella minuta</i>
Гидроксиламин	$0,8 \times 10^{-8}$	$0,3 \times 10^{-6}$	$0,8 \times 10^{-6}$
Цианид	-	$1,0 \times 10^{-4}$	$2,5 \times 10^{-4}$
Азид	-	$1,0 \times 10^{-3}$	$3,0 \times 10^{-4}$
Фторид	$4,5 \times 10^{-3}$	$6,5 \times 10^{-3}$	$5,5 \times 10^{-3}$
Аскорбат	-	$7,0 \times 10^{-4}$	$3,0 \times 10^{-4}$

По-иному действует на клетки водорослей аскорбиновая кислота. Хламидомонас под влиянием аскорбиновой кислоты при концентрации 1×10^{-4} М повышает активность фермента на 65,3 %, а при концентрации 1×10^{-2} М снижает на 12,1 %. В противоположность этому для гипергалобных водорослей аскорбиновая кислота выступает эффективным ингибитором фермента. Степень ингибирования активности каталазы *D. salina*, *D. minuta* с повышением концентрации аскорбиновой кислоты усиливается и при концентрации последней 1×10^{-2} М каталаза инактивируется полностью.

На активность ферментов водорослей существенное влияние оказывают также нитрозоафтолы и их комплексы с 3d металлами, в которых нитрозоафтолы находятся в координированном состоянии [20]. Как известно, нитрозоафтолы используются при приготовлении антикоррозионных красок и их производных, что не исключает их поступления в морскую воду при коррозии металлов. Под влиянием нитрозоафтолов и их производных даже в клетках хлореллы отмечается значительное подавление фотосинтетической функции. По мнению авторов, этот момент представляет интерес в связи с выбором стратегии направленного синтеза эффективных альгицидов. Но этот факт вряд ли обрадует производителей, занимающихся интенсивным культивированием водорослей и в данном случае, каротиноносной дуналиеллы. Учитывая, что нитрозоафтолы и их производные со сточными водами поступают в окружающую среду, в том числе, и в Черное море, возникает необходимость тщательного биологического контроля их присутствия в поступающей в фотобиореакторы морской воде. Принимая во внимание сложность качественной идентификации и количественного определения этих химических соединений (анализ нитрозоафтолов проводят с помощью определения спектров ядерного магнитного резонанса), необходима разработка соответствующих методов биотестирования и тщательного контроля качества морской воды, попадающей в фотобиореакторы. Концентрации, при которых наблюдается 50 % ингибирование фотосинтетического выделения кислорода, для разных производных нитрозоафтолов колеблется в пределах от $2,5 \times 10^{-2}$ до 7×10^{-3} г/л. На такой воде выйти на необходимый уровень продуктивности биосинтеза β -каротина будет весьма трудно.

В связи со сказанным выше, следует напомнить, что, молекулярные механизмы и принципиальная организация системы эндогенной регуляции фотосинтеза, обеспечивающая самонастраивание фотосинтетического аппарата в соответствии с внутренними потребностями клетки и конкретным сочетанием факторов, у водорослей только исследуются и окончательно не выяснены. Никто не сомневается в том, что эти вопросы относятся к числу наиболее важных фундаментальных проблем в исследовании механизма фотосинтеза и особенностей этого процесса как физиологической функции. Однако сложность осуществления механизмов не дает возможности быстрого решения вопросов.

Известно [34], что наличие в хлоропласте собственной ДНК с достаточно большой информационной емкостью, специфической белоксинтезирующей системы и систем предрибосомального синтеза белка допускают в принципе возможность динамической авторегуляции фотосинтеза на самых различных уровнях, включая не только уро-

вень регуляции энзиматической активности ключевых ферментов и конформационные изменения мембран, но также и механизмы динамической регуляции активности генома хлоропласта, формирования его белоксинтезирующей системы и синтеза энзиматических белков. Участие белково-нуклеинового обмена в формировании функциональной активности хлоропласта показано в настоящее время главным образом на этапе становления хлоропласта, в процессе его биогенеза. Вместе с тем вопросы динамической авторегуляции функциональной активности сформированного хлоропласта остаются неясными даже в общих чертах. Исследованию этих механизмов сейчас уделяется все большее внимание.

Существование канала метаболитной регуляции фотосинтеза конечными продуктами было постулировано В. Е. Семененко и др. [35] при объяснении эффекта гипертрофированного синтеза углеводов в клетках хлореллы в условиях действия высокой (блокирующей деление) экстремальной температуры.

Вместе с тем многочисленные опыты, в которых изучалось влияние на рост и фотосинтез хлореллы в нормальных условиях экзогенной глюкозы, не обнаруживают какого-либо значительного подавления фотосинтеза в очень широких пределах ее концентрации. Более того, у многих штаммов наблюдается переключение клеток хлореллы в темноте на гетеротрофный, а на свету в присутствии CO_2 – фотогетеротрофный тип питания. В случае миксотрофного роста (на свету в присутствии глюкозы и CO_2) продуктивность хлореллы оказывается максимальной и близка к сумме “автотрофный + фотогетеротрофный рост”. Установлено [27, 30], что 2-дезоксид-Д-глюкоза (2 дДГ) в концентрации от 0,06 до 2 дДГ.

Сопоставление полученных данных с теми фактами, которые известны по специфичности физиолого-биохимических реакций в клетках дуналиеллы, дает основания полагать, что эта водоросль, взяв за основу цикл фотосинтетической активности, типичный для Chlorophyta, в процессе эволюционных и адаптационных изменений внесла определенные изменения в комплекс метаболических процессов, связанных с накоплением внутри клеток восстановленного продукта – β -каротина. Необходимость управляемого получения последнего и обусловила формирование ряда специфических реакций, сущность которых и связь с другими процессами жизнедеятельности клетки исследована недостаточно и требует выполнения ряда соответствующих научно-исследовательских работ для расшифровки механизмов их осуществления в клетке и разработки комплекса регулирующих мероприятий.

Влияние на *Dunaliella salina* экстремально высокой концентрации CO_2

Вопросы взаимосвязи интенсивности фотосинтеза и обмена липидов от концентрации углекислоты интересовали В. Е. Семененко очень давно и именно в его лаборатории управляемого фотобиосинтеза Института физиологии растений РАН была выполнена важная работа в этом направлении. Речь идет о диссертации Е. А. Мурадян [27]. Как известно, снижение интенсивности фотосинтеза у растений при высоких концентрациях CO_2 связывали с “наркотическим отравлением”. В более поздних работах [30] ингибирование фотосинтеза объясняли подкислением цитоплазмы в результате образования кислых продуктов гидратации гидроксида углерода. Известно также, что микроводоросли, как и цианобактерии, обладают гораздо более высокой устойчивостью к избытку CO_2 , по сравнению с высшими растениями. Доказано, что увеличение концентрации CO_2 в окружающей среде до 1 - 5 % относительно воздуха активизирует рост и фотосинтез микроводорослей. Некоторые их штаммы способны расти в атмосфере 100 % CO_2 [39]. Однако, столь высокий уровень CO_2 , являясь стрессовым фактором, вызывает глубокие изменения в структуре и метаболизме микроводорослей.

В [27] показано, что высокие концентрации CO_2 вызывают значительные изменения в жирнокислотном составе и содержании липидов *D. salina* Teod. При этом в ходе акклиматизации к экстремально высокой концентрации CO_2 в клетках *D. salina*

происходит существенное увеличение соотношения МГДГ / ДГДГ, а также накопление соответствующих жирных кислот. Работа выполнена на основе 5 штаммов *D. salina* Teod. IPPAS. Водоросль выращивали при температуре 28°C и непрерывном освещении 30 и 100 Вт/м² на среде Семененко-Абдуллаева. Концентрацию CO₂ изменяли с 2 до 10, 25, 50 и 100 % в начале линейной стадии роста.

Установлено, что для всех пяти штаммов дуналиеллы (несмотря на различия в абсолютных значениях) максимальная скорость роста и максимальное накопление биомассы (продуктивности) наблюдались при 2 % составе CO₂. Увеличение парциального давления CO₂ с 2 до 25 % не вызывало появления лаг-фазы, но приводило к более раннему выходу на стационарную фазу роста и снижению продуктивности у всех исследованных штаммов. В то же время скорость роста при 25 % CO₂ на линейной стадии не изменялась у одного из штаммов, но снижалась по-разному у остальных четырех, причем особенно резко у двух. Увеличение концентрации CO₂ с 2 до 50 % приводило к подавлению роста у одного из штаммов. Остальные штаммы при 50 % CO₂ в течение 2 - 4-х суток погибали, что свидетельствовало об их различной толерантности к влиянию CO₂. Однако, что с повышением освещенности и с возрастанием интенсивности фотосинтеза происходит смещение оптимальных для роста концентраций CO₂ в сторону более высоких значений [36]. Значения ингибирующей рост и летальной концентраций CO₂ также зависят от интенсивности света. При низкой интенсивности света (30 Вт/м²) клетки дуналиеллы солоноводной (штамм 209) при 25 % CO₂ в газо-воздушной смеси погибают, тогда как при увеличении освещенности до оптимальной (100 Вт/м²) сохраняют, хотя и сильно подавленную по сравнению с контролем (2 % CO₂), способность к росту. Сочетание избыточного содержания CO₂ и недостаточной освещенности увеличивает дисбаланс темновых и световых реакций фотосинтеза, вызывая более глубокие изменения в метаболизме клеток. В связи с этим, биохимический состав и функциональные характеристики клеток *D. salina* – 209 Е. А. Мурадян определялись при освещенности 30 Вт/м² и концентрации CO₂, равной 10 %.

Вместе с тем известно, что некоторые микроводоросли способны расти при парциальном давлении CO₂ 40 - 60 %. Например, хлорелла, по сравнению с дуналиеллой, проявляла большую толерантность к высоким концентрациям диоксида углерода. В отличие от дуналиеллы, действие 50 % CO₂ на клетки *Chlorella vulgaris* приводило лишь к некоторому ингибированию роста и снижению плато на стационарной стадии. Это действие усиливалось с повышением концентрации CO₂ до 100 %, что позволило отнести штамм хлореллы С-1 к CO₂-толерантным микроводорослям, а все штаммы дуналиелл – к CO₂-чувствительным.

Значительную чувствительность к концентрации CO₂ проявляют пигменты. Кратковременное действие экстремально высокой концентрации CO₂ вызывает падение общего хлорофилла в клетке более чем в 2 раза. При этом содержание хлорофилла *b* снизилось в 5 раз, тогда как содержание хлорофилла *a* - в 2,3 раза. При длительном действии CO₂-стресса происходило частичное восстановление содержания хлорофилла *a* и полное восстановление хлорофилла *b*. Падение содержания хлорофилла *b* отражает деградацию пигментного аппарата светособирающего комплекса II под действием избытка CO₂ в течение суток, а его увеличение через 7 суток воздействия CO₂-стресса, увеличение размеров светособирающего комплекса II (ССК II).

Под влиянием изменений концентрации CO₂ с 2 до 25 % при освещенности 100 Вт/м² в клетках трех исследованных штаммов изменялся также состав жирных кислот. Изменения в составе жирных кислот происходили при освещенности 30 Вт/м², а общее содержание жирных кислот увеличивалось на 30 % в основном за счет пальмитиновой кислоты.

При длительном выращивании культуры в атмосфере 10 % CO₂ в клетках дуналиеллы общая сумма жирных кислот в расчете на единицу сухой массы увеличилась в

2,7 раз по сравнению с контролем. При этом возрастало относительное содержание всех жирных кислот, но в разной степени.

Подводя итоги результатам исследований Е. А. Мурадян, можно заключить, что ингибирующая рост концентрация CO_2 оказывает существенное влияние на этапы синтеза жирных кислот *de novo*, элонгации и десатурации, вызывая в клетках *D. salina* значительное накопление жирных кислот липидов при общем снижении индекса ненасыщенности жирных кислот. Даже при кратковременном воздействии высокой концентрации CO_2 в клетках дуналиеллы существенно изменяются жирнокислотный состав и относительное содержание индивидуальных классов полярных липидов, в 4 раза изменяется соотношение МГДГ/ДГДГ (моноголактозилдиацилглицерины/ дигалактозилдиацилглицерины).

Изложенное выше еще раз подчеркивает сложность целенаправленной регуляции метаболизмом *D. salina* и необходимость его дальнейшего изучения.

О сложности и многогранности метаболических процессов у дуналиеллы свидетельствует и тот факт, что зеленые и желтые клетки дуналиеллы отличаются также по активности пероксидазы [18]. Однако зеленые клетки, наоборот, характеризуются более высокой активностью пероксидазы, каталазы и полифенолоксидазы, по сравнению с желтыми клетками. Накопление каротина в клетках повышается при уменьшении активности пероксидазы. Вместе с тем, существуют данные об отсутствии сопряженной системы каротин-пероксидаза (на примере желтой и белой сортов моркови). Однако вопрос этот сложный и требует дополнительного изучения. Согласно теории Баха, каротин может участвовать в дыхании клеток вместе с пероксидазой, с которой они создают одну систему.

На указанный факт следует обратить внимание, ибо его недоучет может приводить к потерям выхода каротина и снижению рентабельности культивирования водоросли. Поскольку данные [18] совпадают с выводами Голубцовой, то можно предположить, что каротин самостоятельно может выполнять оксидазные функции и компенсировать этим недостаточную активность пероксидазы.

Обнаружение в зеленых клетках доминирующего количества дегидрогеназ, которые участвуют в глиоксильном цикле (цитрат, сукцинат, малатдегидрогеназы), может в определенной степени свидетельствовать об окислении органических кислот в зеленых клетках дуналиеллы именно этим путем. В желтых клетках анаэробное окисление, возможно, проходит иначе, потому, что у них выявлены совсем другие дегидрогеназы органических кислот.

Итак, можно заключить, что *D. salina* имеет специфичность, как по отношению терминального окисления, так и активации водорода, причем эти системы несколько отличаются. Без ясности в этих вопросах при промышленном культивировании водоросли под влиянием тех или иных факторов могут проявиться различные эффекты, приводящие к снижению выходов каротина.

Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют, что биохимические сложности метаболизма клеток дуналиеллы не исчерпываются сказанным выше. В пользу этого свидетельствуют и данные по зависимости дыхания водоросли от факторов окружающей среды. Как свидетельствуют данные [21], кислородный обмен аэрофитных и амфибильных водорослей (исследования проводились на *Trentepohlia aurea*, *Desmococcus vulgaris*, *Nostoc commune*) являются результатом сложных взаимодействий между фотосинтезом и дыханием. В число происходящих процессов входят чувствительные и устойчивые к салицилгидроксамовой кислоте (СГК) пути, а также процессы, активируемые светом и нечувствительные к нему. Максимальную биомассу и продуктивность имеют те водоросли, у которых, наряду с высоким уровнем фотосинтеза, регистрируется необходимый уровень фотодыхания. Ситуация может усложняться для культивируемых почвенных водорослей, поскольку у них существуют различия в соотношении фотосинтеза и эндогенного дыхания в зависимости от экологических условий существования.

Dunaliella salina относится к гипергалинным формам водорослей и характеризуется сложными метаболическими циклами, в том числе и специфическими ферментными механизмами дыхания. Как свидетельствуют данные [19], основным компонентом среды, в которой развивается *D. salina* в природе и в условиях лабораторной культуры, является хлорид натрия, концентрация которого варьирует в широких пределах – от 60 г/л до насыщения [15]. Повышение концентрации соли обуславливает значительные изменения в окислительном метаболизме дуналиеллы – до повышения активности цитохромоксидазы и снижения аскорбатоксидазной и полифенолоксидазной активности [18]. Наблюдаются также определенные изменения в изоферментном спектре цитохромоксидазы и пероксидазы [23]. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о значительном угнетении хлоридом натрия, сахарозой и маннитом дыхания неадаптированных клеток дуналиеллы солоноводной соответственно на 61,4 %, 32,8 % и 57,0 %.

Показано, что у неадаптированных водорослей в присутствии маннита на 24,1 % осуществляется изменение интенсивности дыхания за счет медьсодержащих ферментов. У клеток, адаптированных к высокой концентрации хлористого натрия, дыхание нечувствительно к влиянию ДДК-Na (диэтилдитиокарбамат натрия). Этот ингибитор значительно слабее угнетает дыхание *D. salina* в сравнении с цианидом.

Таким образом, независимо от химической природы действующих соединений, а лишь благодаря значительному изменению осмотического давления, при внезапном внесении осмотически активных соединений активность медьсодержащих ферментов угнетается. В присутствии маннита дыхание неадаптированных водорослей на 24,1 % осуществляется за счет Cu-ферментов.

У клеток, которые адаптированы к высоким концентрациям хлористого натрия, дыхание не чувствительно к ДДК-Na, тогда как у адаптированных к сахарозе водорослей значительная часть терминального окисления (43,3%) осуществляется медьсодержащими оксидазами. Показано [26], что повышение концентрации хлористого натрия от 2 М до 4 М приводит к стимуляции железосодержащего фермента цитохромоксидазы. У неадаптированных клеток при внесении сахарозы дыхание также происходит только за счет Fe-оксидаз. Противоположная картина наблюдается у адаптированных клеток, доминирующую роль в дыхании которых играют медьсодержащие ферменты – аскорбатоксидаза и полифенолоксидаза. Имеющиеся данные свидетельствуют, что повышение концентрации осмотических соединений приводит к значительной перестройке путей начальных и терминальных этапов дыхания. Доминирующую роль в случае засоления играет изменение химического состава среды, а не только осмотическое давление.

Изложенное выше позволяет заключить, что при промышленном культивировании дуналиеллы очень важное значение имеет стабильность состава питательной среды. При изменении ее состава (особенно при работе на природной воде, поступающей из моря) возможны различные неожиданности, с одной стороны, связанные со сложностью и недостаточной изученностью метаболических процессов в клетках дуналиеллы, с другой, вызванные колебаниями химического состава воды (выпадение осадков, попадание каких-либо примесей от сбросов и загрязнений).

Регуляторное влияние биологически активных соединений на процессы метаболизма клеток водоросли. Под влиянием ряда факторов (высокая концентрация NaCl, интенсивный свет, недостаток в питательной среде азота, фосфора и др.) *D. salina* способна к накоплению значительного количества каротина. При этом содержание хлорофилла уменьшается [9, 16, 28].

Изменения в пигментном составе клеток можно получить и с помощью экзогенного внесения органических соединений, в частности, диметил-винилкарбинола, диметилгликола и диметилдиоксана [10]. Известно также, что 2,4-динитрофенол (2,4-ДНФ), разобщитель окислительного фосфорилирования, может стимулировать каротиногенез у бактерии *Micobacterium phlei*.

Считают также, что 2,4-ДНФ существенно влияет на энергетический обмен водорослей.

Бактериально чистую культуру дуналиеллы получали с помощью стрептомицина (1500 ед./мл) с последующим посевом на стерильную среду Артари без антибиотика. Освещенность составляла 5000 ± 250 лк, температура – $22 \pm 5^\circ\text{C}$. 2,4-ДНФ вносили в концентрации 10^{-8} - 10^{-4} М. Установлено [17], что динитрофенол в концентрации 10^{-8} М может быть использован для стимуляции каротиногенеза у дуналиеллы солоноводной. Его влияние на дыхание зависит от продолжительности действия, концентрации и вида водорослей.

Значительный интерес представляет вопрос относительно осмотичности и ее влияния на рост водоросли и каротиногенез, - влияет ли сама осмотичность веществ или ионный состав вещества. Проведенные в этом направлении опыты свидетельствуют [25], что внезапно внесенный NaCl на 83 % тормозит реакцию Хилла. Следовательно, аналогичная концентрация хлорида натрия, которая при продолжительном контакте почти не влияла на фотохимическую активность целых клеток, очень угнетает этот процесс при внезапном действии на клетки дуналиеллы.

Внезапно добавленная сахароза, как и в опытах с ее продолжительным действием на клетки, стимулирует фотохимическую активность на 131 %. Маннит в продолжительных опытах не влияет на фотохимическую активность хлорофилла, но при краткосрочном действии несколько ослабляет реакцию Хилла. Полученные результаты свидетельствуют, что в продолжительных опытах фотохимическая активность изменяется не непосредственно под влиянием NaCl, сахарозы или маннита, а через сложные метаболические комбинации, в процессе которых коррелируют скорость размножения клеток и накопление хлорофилла, усиление фотохимической активности и угнетение каротиногенеза.

Считают [25], что усиленное образование каротина и угнетение синтеза хлорофилла в клетках *D. salina* обусловлены не изменением осмотического давления, а особенностями влияния ионов Na^+ и Cl^- . Маннит же представляет интерес как стимулятор роста дуналиеллы в продолжительных опытах.

Некоторые итоги современных работ по изучению особенностей метаболизма *Dunaliella salina*. С тем фактом, что дуналиелла метаболически очень сложный организм, специалисты столкнулись давно. В связи с этим, за последние 15 лет выполнен большой комплекс физиолого-биохимических и генетических работ по изучению этих вопросов. Большой объем исследований выполнен в Институте физиологии растений РАН В. Е. Семененко и его коллегами [27, 30, 31, 38, 39]. Поскольку основная часть этих работ напечатана в русскоязычных изданиях, остановимся на отдельных из них кратко, большее внимание уделив ряду англоязычных исследований.

Важно отметить, что и в российских исследованиях дуналиелла стала объектом внимания генетиков [14]. Успехи генной инженерии на основе клеток дуналиеллы вселяют надежду и на возможность регуляции усиления образования каротина, как важного продукта биологического синтеза.

Особое внимание к вопросам регуляции метаболизма дуналиеллы привлекли амины [60]. Установлено, что в ответ на щелочной стресс в вакуолях дуналиеллы происходит накопление аминов, которые относятся к соединениям высокой биологической активности. Образование аминов усиливается при подщелачивании среды, а при их синтезе используется энергозапас АТФ. Важную роль при этом выполняет ион аммония (NH_4). При 300 миллимолях последнего рН среды достигает 9, что в свою очередь снижает уровень фотосинтетической активности. Этот процесс не связан с изменением объемов клеток и добавлением калия. Большинство клеточных аминов не метаболизируются и могут использоваться клеткой при ацидификации среды, происходящей в процессе дыхания. В ответ на стресс индуцируется образование аминов. Это регистрируется уже

через 30 - 60 мин и сопровождается сильным запахом вакуолей. Время поступления аммиака в клетку состоит из двух фаз:

1. при подщелачивании оно происходит быстрее;
2. в зависимости от температуры – медленнее, поскольку это связано с функционированием цитоплазмы и pH среды.

Важную роль в процессах метаболизма дуналиеллы играет также содержание диацилглицерола, превращения которого исследуются с использованием газожидкостной хроматографии [53]. При 4,2 НМ на 100 НМ фосфолипидов уровень диацилглицерола в клетках увеличивается даже при сравнении с животными тканями. В этот период в клетках обнаруживаются разнообразные жирные кислоты: олеиновая, линолевая, линолевая (первой позиции). Пальмитиновая кислота обнаруживается во второй позиции. Под влиянием гиперосмотического шока в плазмолемной мембране содержание диацилглицерола увеличивается на 40 %.

По [52], при солевом стрессе в клетке изменяется и метаболизм абсцизовой кислоты. В связи с этим особое внимание привлекает соотношение между абсцизовой кислотой и каротином. При увеличении солёности среды от 1,5 до 3 М NaCl в присутствии леваленолактона и C-14 бикарбоната это происходит в течение 20 ч. Актиномицин Д, хлорофеникол и циклогексамид увеличивают при стрессе продукцию абсцизовой кислоты, что указывает на активацию в этом процессе генов. Выполнен кинетический анализ динамики накопления абсцизовой кислоты и β -каротина. Этот процесс происходит в 2 стадии. Уровень абсцизовой кислоты очень быстро увеличивается, что повышает продуктивность накопления β -каротина в ранний период. Абсцизовая кислота обсуждается как регулятор образования β -каротина в клетках дуналиеллы.

Установлено [43], что накопление β -каротина у *Dunaliella bardawil* происходит как защитная реакция против облучения. Защита против фотоингибирования в клетке дуналиеллы связана с использованием синего освещения как фотоингибирующего агента. Синтез каротина при этом повышается. Средние уровни накопления β -каротина наблюдаются при белом свете, а самое низкое накопление характерно для красного света. Усиленное накопление β -каротина защищает клетку от высокой радиации через адсорбцию синего света, поскольку при высокой концентрации синего света происходит фотодеструкция хлорофилла и наступает смерть клеток.

Показано [60], что в ответ на щелочной стресс в клетках водоросли изменяется динамика полифосфатов. Последние накапливаются в подкисленных вакуолях в большом количестве. Поглощение аминов в вакуолях происходит при массовом гидролизе полифосфатов. Динамику процесса учитывали с помощью ядерного магнитного резонанса. Гидролиз полифосфатов кинетически коррелирует с накоплением аминов при изменении pH цитоплазмы. Главным продуктом гидролиза является 3-полифосфат. Молекула последнего увеличивается в ЯМР, что указывает на повышение pH в вакуоле. Последнее связано с уменьшением pH внутри цитоплазмы. Метаболизм аминов в клетке выполняет регулируемую роль и связан с синтезом и превращениями полифосфатов до 3 полифосфата. Гидролиз полифосфатов происходит в высокообъемной буферной системе из аминов и при защитной роли pH.

Процессы гидролиза полифосфатов исследованы [56]. Установлено, что осмотический шок и его влияние регулируется pH и связано с полифосфатами, но не связано с глицеролом. Накопление 3-полифосфатов после повышения NaCl связано с их изменением, но не связано с глицеролом. Накопление 3-полифосфатов указывает на активацию процессов гидролиза в вакуолях. Осмотический шок не связывают с аттебрином в кислотных вакуолях. Это свидетельствует о том, что этот путь метаболизма не является главным. Большую роль играют амины. Гиперосмотический шок вызывает изменения органического вещества в плазматических мембранах.

Исследована [50] динамику фосфатредуктазы у одного из видов дуналиелл (*D. tertiolecta*). Обнаружены 2 изофермент-дигидрооксидоза и фосфатредуктаза. Главная их

форма локализована в хлоропластах, а минорная в цитозоле. Ферменты нестабильны к холоду. Однако добавление 5-миллимолярного дитиотреитола может стабилизировать ферменты. Цитозольные ферменты редуктаз обнаруживались в клетках на лог-фазе роста. Активность их составляла 20 - 30% от общей редуктазной активности. На поздних стадиях роста фермент не обнаруживался, но его хлоропластная форма существовала. Цитозольная редуктаза дуналиеллы была близкой к ферментам из листьев шпината. Однако детергенты ингибировали обе формы ферментов.

Хлоропластная форма пигментов была связана с продукцией дигидроглицерола для осморегуляции. Цитозольная форма подобна редуктазе листьев и может включаться в формирование глицеролфосфатов для синтеза липидов.

Заключение: Без сомнения, дуналиелла солонowodная является перспективным объектом для промышленного культивирования с целью получения, жирных кислот, β-каротина, других каротиноидов. Однако характер, интенсивность и направленность процессов биосинтеза значительно зависят от особенностей не только вида водоросли, но и ее штамма. Как свидетельствуют имеющиеся материалы, в России и Украине наиболее серьезный фронт лабораторных и полупромышленных работ приходился на 70-е годы прошлого столетия. Однако эти разработки не завершились промышленным процессом, что обусловлено рядом причин: слабым знанием физиологии и биохимии организма-продуцента и факторов, регулирующих процесс биосинтеза; отсутствием надлежащего оборудования (фотобиореакторов, насосов, апробированных регламентов оптимального светового, солевого и технологического режимов). В связи с этим круг энтузиастов непрерывно сужался из-за ряда причин (одни ушли из жизни – В. Н. Белянин, В. Е. Семенов, В. И. Миронюк и др., другие давно работают в США, Германии, Франции и т.д., где знающих профессионалов соответствующим образом ценят и уважают).

Имеющаяся информация, а также определенный опыт ряда успешно работающих зарубежных производств биологического синтеза в значительной мере помогают разработке необходимой биотехнологии. Однако для этого понадобится не менее 3 - 5 лет при соответствующем финансировании работ, в первую очередь, за счет современного оборудования, адаптированного к биологии вида, специализированной контрольно-измерительной аппаратуры, надлежащей реактивной базы для выполнения комплекса необходимых физиолого-биохимических измерений.

Несмотря на указанные выше трудности, работы начинать надо и проводить их следует в достаточно широких, в основном полупромышленных масштабах. Значительную помощь в этом может оказать опыт работы действующих промышленных производств по культивированию других зеленых и синезеленых водорослей (хлореллы, сценедесмуса, спироулины, ностоков и др.), а также успехи микробиологической промышленности (например, по получению антибиотиков, красителей и других ценных биологически активных соединений).

1. Абдуллаев А. А., Семенов В. Е. Интенсивная культура *Dunaliella salina* Teod. и некоторые ее физиологические характеристики // Физиология растений. – 1974. – 21, вып. 6. – С. 1145 - 1153.
2. Артари А. П. Исследования над простейшими организмами соленых озер. - М., 1916. – С. 105.
3. Артари А. П. К физиологии и биологии хламидомонад. Опыты и наблюдения над *Chlamydomonas ehrenbergii* Gorosch. и близкими формами // Изв. Моск. техн. учил. - 1913. - Прилож.
4. Вендт В. П., Кузнецов В. И., Дрокова И. Г., и др. Способ получения концентрата каротина. Авторское свид. N 173885, Кл. 30h, 2, 20, Бюлл. N 16., 1965. Биология автотрофных микроорганизмов, 24, 154, 1966.
5. Владимирова М. Г., Семенов В. Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. – М.: Изд-во АН СССР, 1962. – 61 с.
6. Гелескул Ю. Ф. Искусственные комплексы β-каротина с белками, их химические и биологические свойства: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – К., 1966. – 19 с.

7. Дегтярь Р. Г., Гулый М. Ф. Глюкозооксидаза и каталаза микроскопических грибов. - В кн.: Молекулярная биология. Киев: Наук. думка, 1974, вып. 10. - С. 3-13.
8. Дрокова І. Г. Водорість *Dunaliella salina* Теод. як джерело одержання бета-каротину // Укр. бот. ж. - 1961. - **18**, № 4. - С. 110 - 112.
9. Дрокова І. Г. Дослідження водоростей на вміст бета-каротину // Укр. бот. журн. - 1960. - **17**, N 2. - С. 39 - 42.
10. Дрокова І. Г., Кузнецов М. В., Попова Р. Ц. Вміст каротину у водорості *Dunaliella salina* Теод. при вирощуванні на рапі в лабораторних умовах // ДАН УРСР. - 1967. - **8**, серія Б. - С. 736 - 739.
11. Дрокова І. Г., Лівецька Р. Ц. Визначення бета-каротину у водорості *Dunaliella salina* Теод. // Укр. бот. журн. - 1963. - **20**, № 3. - С. 94 - 96.
12. Дрокова І. Г., Попова Р. Ц. Вміст каротину в водорості *Dunaliella salina* Теод. в умовах масової культури // Укр. бот. ж. - 1969. - **26**, №3. - С. 17 - 21.
13. Каталог культур микроводорослей в коллекциях СССР. М.: ИФР РАН, 1991.- 226 с.
14. Лось Д. А., Лебедева Н. В., Семененко В. Е. Клонирование фрагментов хлоропластной ДНК *Dunaliella salina*, обладающих промоторной активностью в E.coli. // Физиология растений. - 1989. -**36**, вып.4. - С. 732-739.
15. Масюк Н. П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Теод. - К.: Наукова думка, 1973. - 244 с.
16. Милько Е. С. Влияние освещенности и температуры на пигментообразование *Dunaliella* // Микробиология. - 1963. - **32**, № 4. - С. 590 - 597.
17. Миронюк В. І. Вплив 2,4-динітрофенолу на вміст пігментів та кисневий обмін у зелених водоростей *Dunaliella salina* Теод. та *D. minuta* Lerche. // Укр. бот. журн. - 1972. - **29**, N5. - С. 55 - 564.
18. Миронюк В. І. Деякі особливості окисно-відновних систем одноклітинної водорості *Dunaliella salina* Теод. // Укр. бот. журн. - 1969. - **26**, N1. - С. 54 - 59.
19. Миронюк В. І. Дихання водорості *Dunaliella salina* Теод. за різних умов вирощування // Укр. бот. журн. - 1977. - **34**, N 2. - С. 138 - 150.
20. Миронюк В. І. и др. Осмотическое давление в клетках некоторых олиго- и гипергалофильных водорослей и в окружающей их среде // Гидробиол. журн. - 1984, N1. - С. 46 - 49.
21. Миронюк В. І., Курінна С. М. Кисневий обмін на світлі та у темряві деяких аерофітних та амбіфільної водоростей. // Вісник Київського університету імені Т.Г. Шевченка. - 2000. - Вип. 29. - С. 45 - 47.
22. Миронюк В. І., Масюк Н. П., Акоюнц Н. С. Вплив рН і деяких інгібіторів на активність каталази олиго- та гіпергалофильных водоростей // Укр. бот. журн. - 1980. - **37**, N 3. - С. 60 - 62.
23. Миронюк В. І., Скульська Т. А. Вплив стрептоміцину та пеніциліну на рост пігментоутворення та кисневий обмін клітин *Dunaliella salina* Теод. // Укр. бот. журн. - 1972. - **24**, N 2, - С. 161 - 167.
24. Миронюк В. І., Судьїна О. Г. Редуктазо-аскорбатоксидазні властивості *Dunaliella salina* Теод. // Укр. бот. журн. - 1970. - **27**, N 4. - С. 443 - 449.
25. Миронюк В. І., Титова Г. М. Вплив деяких осмотичних сполук на розмноження клітин та пігментоутворення водорості *Dunaliella salina* Теод. // Укр. бот. журн. - 1974. - **31**, N 5. - С. 555 - 560.
26. Миронюк В. І., Эйнон Л. О. Кислородный обмен и содержание пигментов у разных форм *Dunaliella salina* Теод. в условиях повышения содержания хлористого натрия // Гидробиол. журн. - 1968. - 4. - С. 23 - 29.
27. Мурадян Е. А. Влияние экстремально высокой концентрации CO₂ на функциональное состояние фотосинтетического аппарата и обмен липидов *Dunaliella salina*: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. - М., 2003. - 26 с.
28. Попова Р. Ц. Пігменти *Dunaliella salina* Теод. при її штучному культивуванні / Питання експериментальної ботаніки. - К.: Наукова думка, 1964. - С. 53 - 58.
29. Пратт Дж. Основы катализа металлоферментами / Методы и достижения бионеорганической химии. - М.: Мир, 1978. - С. 133 - 258.
30. Пронина Н. А. Клеточная и молекулярная организация CO₂ концентрирующего механизма в фотосинтезирующих клетках: автореф. дисс. ... докт. биол. наук. - Москва, 1992. - 50 с.
31. Пронина Н. А., Семененко В.Е. Молекулярная и клеточная организация CO₂ концентрирующих механизмов в фототрофных клетках микроводорослей // Альгология. - 1991. - 1 (2). - С. 80 - 82.

32. Рамазанов З. М., Клячко-Гурвич Г. Л., Ксенофонтов А. Л., Семенов В. Е. Влияние субоптимальной температуры на содержание бета-каротина и липидов у галофильной водоросли *Dunaliella salina* // Физиология растений. – 1988. – **35**, вып.5. – С. 864 - 869.
33. Семенов В. Е., Абдуллаев А. А. Параметрическое управление биосинтезом бета-каротина в клетках *Dunaliella salina* в условиях интенсивной культуры // Физиология растений. – 1980. – 27, вып. 1. – С. 31 - 41.
34. Семенов В. Е., Афанасьева В. П. К изучению механизмов авторегуляции фотосинтеза. Обратимый 2-дезоксид-Д-глюкозный эффект репрессии фотосинтетического аппарата клетки *Chlorella* // Физиология растений. – 1972. – **19**, N 5. – С. 1074 - 1081.
35. Семенов В. Е., Владимиров М. Г., Орлеанский О. Б. и др. К физиологической характеристике *Chlorella* sp. при высоких экстремальных температурах. II. Изменение биосинтеза, ультраструктуры и активности фотосинтетического аппарата хлореллы при разобщении клеточных функций экстремальной температурой // Физиология растений. – 1969, № 16. – С. 210 - 220.
36. Семенов В. Е., Владимиров М. Г., Цоглин Л. Н. и др. Непрерывное управляемое культивирование водорослей и физиолого-биохимическая характеристика продуктивности и эффективности утилизации лучистой энергии хлореллой при длительном интенсивном ее выращивании / Управляемый биосинтез. – Москва, Наука, 1966. – С. 75 – 86.
37. Семенов В. Е., Соботович Е. В. Космология - наука про роль позаземного середовища для зеленого життя // Вісник НАН України. – 2001. – N 9. – С. 38 - 43.
38. Сергеев Т. В., Мурадян Е. А., Клячко-Гурвич Г. Л., Пронина Н. А. Адаптация *Dunaliella salina* к стрессовому воздействию CO₂ // Тез. докл IV съезда ОФР РАН. – Москва, 1999. – **2**. – С. 806.
39. Сергеев Т. В., Мурадян Е. А., Пронина Н. А. и др. Влияние экстремально высокой концентрации CO₂ на рост и биохимический состав микроводорослей // Физиология растений. – 2000. – **47**, N 5. – С. 722 - 729.
40. Эйно Л. О. и др. Изучение влияния некоторых растактивирующих веществ на фотосинтез и рост автотрофной термофильной хлореллы // Гидробиол. журн. – 1971. – **7**, N 2. – С. 69 - 73.
41. Эйно Л. О., Миронюк В. И. Цитохромы одноклеточной зеленой водоросли *Dunaliella salina* Teod. // Биохимия. – 1972. – **37**, N 4. – С. 762 - 769.
42. Юркова Г. Н. Вплив температурного фактора на *Dunaliella salina* Teod. // Укр. бот. журн. – 1965. – **22**, № 6. – С. 65 - 69.
43. Ben-Amonz A., Shaish A., Avron M. Mode of Action of the Massively Accumulated beta-Carotene of *Dunaliella bardawil* in protecting the Alga against Damage by Excess Irradiation // Plant Physiol. – 1989. – **91**. – P. 1040 – 1043.
44. Bental M., Pick U., Avron M., Degani H. 1990. Metabolic studies with NMR spectroscopy of the alga *Dunaliella salina* trapped within agarose beads // Eur J. Biochem. – 1990. – **188**. – P. 111 - 116.
45. Borowitzka M. A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters // J. Biotechnology. – 1999. – **70**. – P. 313 – 321.
46. Culture Media. Bot. Acta, 107, 1994.
47. Duerr E. O., Molnar A., Sato V. Cultured microalgae as aquaculture feeds // J Mar Biotechnol. – 1998. – **7**. – P. 65 – 70.
48. Hellebus J. A. Osmoregulation // Plant Physiol. – 1976. – **27**. – P. 485 - 490.
49. García-González M., Moreno J., Cañavate J. P. et al. Conditions for open-air outdoor culture of *Dunaliella salina* in southern Spain // J. Appl. Phycol. – 2003. – **15**. – P. 177 – 184.
50. Gee Robert, Arun Goyal, Richard U Byerrum and N. Edward Tolbert. Two Isozymes of Dihydroxyacetone Phosphate Reductase in *Dunaliella* // Plant Physiol. – 1989. – **91**. – P. 345 - 351.
51. Grima E. Molina, Acien Fernandez F. G., Garcia Camacho F., Camacho Rubio F., Chisti Y. Scale-up of tubular photobioreactors // J. Appl. Phycol. – 2000. – **12**: P. 355 – 368.
52. Keith A. Cowan and Peter D. Rose. Abscissic Acid Metabolism in Salt-Stressed Cells of *Dunaliella salina*. Possible Interrelationship with beta-Carotene Accumulation // Plant Physiol. – 1991. – **97**. – P. 798 - 803.
53. Kwon Soo Ha and Guy A. Thompson, Jr. Diacylglycerol Metabolism in the Green Alga *Dunaliella salina* under Osmotic Stress. Possible Role of Diacylglycerols in Phospholipase C-Mediated Signal Transduction // Plant Physiol. – 1991. – **97**. – P. 921 - 927.
54. Lee Yuan-Kun Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential // J. Appl. Phycol. – 2001. – **13**. – P. 307 – 315.
55. Lerche W. Untersuchungen über Entwicklung und Fortpflanzung in der Gattung *Dunaliella* // Arch. Protistenk. – 1937. – **88**. – 2 - 5.

56. *Meira Weiss, Michal*. Bental and Uri Pick Hydrolysis of Polyphosphates and Permeability Changes in Response to Osmotic Shocks in Cells of the Halotolerant Alga *Dunaliella* // Plant Physiology. - 1991. - **97**, N 3. - P. 1241 - 1248.
57. *Posudin Yu., Massjuk N. P., Lilitskaya G. G., Radchenko M. I.* Photomoment of two species of *Dunaliella* Teod. (Chlorophyta) // Algologia. - 1992. - **2**, N 2. - P. 37 - 47.
58. *Richmond A.* Microalgal biotechnology at the turn of the millennium: A personal view // J. Appl. Phycol. - 2000. - **12**. - P. 441 - 451.
59. *Spoehr, Milner H.* The chemical composition of *Chlorella* effect of environmental condition // Plant Physiol. - 1949. - **24**. - 120 - 126.
60. *Uri Pick, Orly Zeelon and Meira Weiss.* Amine Accumulation in Acidic Vacuoles Protects the Halotolerant Alga *Dunaliella salina* Against Alkaline Stress // Plant Physiol. - (1991). - **97**, P. 1226 - 1233.

1 – Інститут гідробіології НАН України,

г. Київ

2 – ООО «Кайлас», г. Симферополь

Получено 10.06.2005

L. A. SIRENKO, Z. T. SAFIULLIN, N. V. PANCHENKO

SINGULARITIES OF INTENSIVE CULTIVATION *DUNALIELLA SALINA* (A REVIEW)

Summary

The review of literary data on world experience of green microalgae *Dunaliella salina* Teod. cultivation is given. The materials submitted in this review give actually the first in Ukraine (as of 2005) the corresponding generalized information for the period 1960 - 2004.