

**ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВОДОРΟΣЛЕЙ
РОДА *DUNALIELLA* В МОДЕЛЬНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАХ**

Неинтенсивные культуры *Dunaliella salina* (Dunal) Teodoresco и *D. tertiolecta* (Butcher) были испытаны на гусеницах американской белой бабочки *Hyphantria cunea* Drury второго, третьего и четвертого возрастов. Констатируется ингибирующее действие альгокультур на жизненные функции тест-объекта – питание, рост, развитие и метаморфоз. Эти процессы приводят к гибели насекомых при окукливании и превращении в имаго.

На протяжении последних трех десятилетий зеленые водоросли, принадлежащие к роду *Dunaliella*, называют в числе экономически значимых, отводя им третье место после хлореллы и спирулины; их производство получило развитие в ряде стран [4, 5]. При этом особо отмечают роль видов *D. salina* и *D. tertiolecta* как наиболее перспективных и стабильных для промышленного культивирования. Первый вид рассматривают в качестве одного из важнейших природных источников β-каротина, имеющих мировое значение [4, 5, 16, 22 и др.], второй – как поставщик высококачественного белка (сопоставимого с белком овощей и злаков) [12], ценных химических соединений и обладающий рядом преимуществ по сравнению с другими морскими микроводорослями [6, 9, 20].

Возникновение интереса к представителям рода *Dunaliella* сопровождалось детальным изучением особенностей их морфологии, физиологии, биологии, культивирования, метаболизма и распространения [1, 3 и др.]. Однако о роли их в системе межвидовых взаимоотношений различных организмов известно относительно немного, а имеющиеся данные носят разрозненный характер. Между тем, эти сведения чрезвычайно важны в коммерческих целях при массовом культивировании микроводорослей (в некоторых случаях в поликультуре) [8, 18]. Например, существуют свидетельства об аллелопатических взаимоотношениях между *Phaeodactylum tricornutum* и *D. tertiolecta*, причем первый вид является доминирующим [11]. Метанольные экстракты *D. bioculata* C - 523 и *D. primolecta* C - 525 проявляют высокую специфическую активность в ингибировании вируса герпеса HSV - 1 [19], по другим данным, экстракты ряда микроводорослей, в т.ч. *D. tertiolecta* и *D. bardawil*, могут служить профилактическим средством против вирусных заболеваний рыб и млекопитающих [10]. Исследован видовой состав бактерий, сопутствующих *Dunaliella* в культуре [2], но о характере отношений в альгобактериальных сообществах информации мало. Известно, что вещества с антибактериальными свойствами продуцируются теми штаммами *D. salina* и *D. bardawil*, которые были выделены из вод с высокой загрязненностью [13], а очистка воды от микробного загрязнения при помощи видов *Dunaliella* весьма эффективна [21]. С одной стороны, *D. salina* и *D. tertiolecta* (порошок, экстракты и т.д.) успешно используют в качестве корма для губок, ракообразных, моллюсков, иглокожих и рыб, о чем свидетельствуют многочисленные описанные в литературе примеры благоприятного воздействия микроводорослей на культивируемые организмы. Однако приводятся и случаи стимулирования роста *D. tertiolecta* метанольным и метиленхлоридным экстрактами из моллюска *Onchidium verruculatum*, проявлявшими токсичность по отношению к *Artemia salina* и *Isochrysis galbana*, или же угнетение роста *D. tertiolecta* и *I. galbana* метиленхлоридными экстрактами из асцидий *Styela pigmentata* и *Pyura pallida* [14, 15]. Не вполне ясны взаимоотношения *D. tertiolecta* и других видов микроводорослей с моллюском *Mulinia lateralis*, исчезнувшего на год после техасского коричневого прилива, но в обычное время активно питавшегося микроводорослями [17].

Очевидно, что характер взаимосвязей видов *Dunaliella* с организмами различного эволюционного уровня имеет важное теоретическое и прикладное значение и нуждается в изучении. Экспериментально доказано, что виды *Dunaliella* могут успешно использоваться в качестве модельных тест-объектов. Представленная работа посвящена исследованию действия этих микроводорослей на организм членистоногого (на примере американской белой бабочки).

Материал и методы. В модельных экспериментах были испытаны культуры *D. salina* и *D. tertiolecta*, полученные из коллекции Института биологии южных морей НАН Украины. Культивирование микроводорослей проводили на среде Гольдберга в люминестате. При достижении плотности культур $1,39 \cdot 10^6$ клеток/мл их использовали для эксперимента. Биологическое тестирование проводили на личиночных фазах американской белой бабочки *Hypanthia cunea* Drury – гусеницах на стадии второго, третьего и четвертого возрастов. Американская белая бабочка принадлежит к числу полифагов: повреждает свыше 300 видов растений. Сбор насекомых проводили в агробиоценозах степного и предгорного Крыма, при этом отбор насекомых вели строго по принципу однородности материала в возрастном и физиологическом отношениях. В различных вариантах серии экспериментов культурами микроводорослей обрабатывали листья наиболее типичного растения-хозяина, предназначенные для скормливания подопытным насекомым, в данном случае, клена ясенелистного. На протяжении экспериментов гусениц содержали в сосудах емкостью 1,0 л, по 10 - 15 особей в каждом. Вариант опыта включал пять повторностей. Накануне подсадки насекомых корм опрыскивали (в контрольном варианте для обработки использовали среду Гольдберга), а в ходе экспериментов изучали питание (% съеденной листовой поверхности), рост, метаморфоз и выживаемость тест-объектов.

Результаты и обсуждение. Ежедневные наблюдения показали, что питание гусениц второго-четвертого возрастов под действием культур микроводорослей подвергается угнетению в течение первых трех дней экспериментов. Так, питание обработанным кормом в различных вариантах опыта не превышало 60,0 %, в то время как в контроле листья были съедены полностью (100,0 %).

Нарушение ритма и сокращение необходимого объема питания обусловило отрицательное воздействие микроводорослей на комплекс жизненных функций. В первую очередь оно отразилось на процессах роста и метаморфоза. Так, в различных вариантах опыта гусеницы и куколки заметно отставали в росте (табл. 1).

Таблица 1. Влияние микроводорослей на рост и развитие американской белой бабочки*
Table 1. Effect of microalgae on the growth and development of fall webworm

Вариант опыта	Масса гусениц и куколок, % к контролю				
	Личиночная стадия, подвергшаяся действию микроводорослей				
	Гусеницы 2 возраста		Гусеницы 3 возраста		Гусеницы 4 возраста
	гусеницы	куколки	гусеницы	куколки	куколки
<i>D. tertiolecta</i>	62,9	72,2	62,9	71,2	57,0
<i>D. salina</i>	60,1	70,4	60,4	72,0	67,4
Эталон: <i>Nephrochloris salina</i>	64,0	78,1	25,4	35,2	75,4
Контроль: среда Гольдберга	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

* - в каждом варианте 75 особей; показатели массы гусениц определены на 10 сутки после трехдневного питания обработанным кормом.

Замедление роста личинок отразилось на метаморфозе и привело к ряду нарушений (табл. 2). Например, процессы окукливания и вылета имаго произошли со значительными отклонениями от нормы.

Таблица 2. Влияние микроводорослей на метаморфоз американской белой бабочки
Table 2. Effect of microalgae on the metamorphosis on fall webworm

Вариант опыта	Показатели метаморфоза				
	Гусеницы 2 возраста		Гусеницы 3 возраста		Гусеницы 4 возраста
	Окукливание	Вылет имаго	Окукливание	Вылет имаго	Вылет имаго
<i>D. tertiolecta</i>	16,0 ± 5,1	6,7	37,8 ± 3,8	11,1	36,0 ± 5,1
<i>D. salina</i>	0	0	0	0	18,7 ± 2,6
Эталон: <i>Nephrochloris salina</i>	12,0 ± 3,8	1,3	0	8,0	29,3 ± 9,0
Контроль: среда Гольдберга	73,3 ± 3,3	66,7	100,0	62,2	86,7 ± 2,6

*- в каждом варианте 75 особей; на протяжении трех дней насекомые получали обработанный корм; все показатели, характеризующие процессы окукливания и вылета имаго, представлены в отношении к первоначальному числу насекомых в опыте

Учет смертности насекомых показал, что определенная часть гусениц погибает в течение 10 - 15 суток эксперимента. Так, смертность гусениц второго возраста от *D. tertiolecta* составляет 32,0 %, а от *D. salina* – 30,0 %, третьего возраста соответственно 29,0 % и 27,0 %, а четвертого – 60,0 - 64,0 % и 54,7 - 56,0 %. Более высокий процент летальных исходов в старшем возрасте объясняются повышенной восприимчивостью насекомых к отрицательному воздействию альгокультур накануне процесса окукливания.

Приведенные данные указывают на преимущественно антифидантный (детергентный) характер воздействия культуры клеток *Dunaliella* на насекомых. Угнетение питания и процессов жирового синтеза приводит к отставанию в росте и развитии. В свою очередь, нарушение ростовых процессов приводит к гибели в период метаморфоза (метатоксическим явлениям). Эти материалы служат подтверждением того, что гибель гусениц и личинок наступает не от токсического воздействия микроводорослей, а от последствий нарушения трофической функции.

Выводы. 1. Неинтенсивные культуры *D. salina* и *D. tertiolecta* способны ингибировать жизненные функции некоторых видов членистоногих (в данном случае личиночной фазы американской белой бабочки). **2.** Ингибирование процессов питания, роста и метаморфоза связано в первую очередь с нарушением трофической функции, а не с продуцированием токсинов, о чем свидетельствует относительно низкая гибель непосредственно питающейся фазы развития тест-объекта. **3.** В перспективе возможно использование *D. salina* и *D. tertiolecta* в качестве селективно-профилактического или вспомогательного средства ограничения численности вредных организмов.

1. Божков А. И., Комаристая В. П. Липидно-каротиноидный обмен в клетках *Dunaliella* (Teod.) при различных условиях культивирования // Альгология. – 2003. – **13**, № 2. – С. 137 - 147.
2. Борисова Е. В. Видовой состав бактерий, сопутствующих микроводорослям в культуре // Альгология. – 1996. – **6**, № 3. – С. 303 - 313.
3. Масюк Н. П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* (Teod.) и перспективы его практического использования. – К.: Наук. думка, 1973. – 244 с.

4. Borowitzka M. A. Algal biotechnology products and processes - matching science and economics // J. Appl. Phycol. - 1992. - **4**, No. 3. - P. 267 - 279.
5. Borowitzka M. A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters // J. Biotechnol. - 1999. - **70**, No 1-3. - P. 313 - 321.
6. Brown M. R. The aminoacid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. - 1991. - **145**, No. 1. - P. 79 - 99.
7. Brown M. R., Miller K. A. The ascorbic acid content of eleven species of microalgae used (as feed) in mariculture // J. Appl. Phycol. - 1992. - **4**, No. 3. - P. 205 - 215.
8. D' Souza F. M. L., Loneragan N.R. Effects of monospecific and mixed-algae diets on survival, development and fatty acid composition of penaeid prawn (*Penaeus* spp.) larvae // Mar. Biol. - 1999. - **133**, No. 4. - P. 621 - 633.
9. Fabregas J., Abalde J., Herrero C. Biochemical composition and growth of the marine microalga *Dunaliella tertiolecta* (Butcher) with different ammonium nitrogen concentrations as chloride, sulphate, nitrate and carbonate // Aquaculture. - 1989. - **83**, No. 3 - 4. - P. 289 - 304.
10. Fabregas J., Garcia D., Fernandez-Alonso M., et. al. In vitro inhibition of the replication of haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) and African swine fever virus (ASFV) by extracts from marine microalgae // Antiviral Res. - 1999. - **44**, No. 1. - P. 67 - 73.
11. Goldman J. C., Dennett M. R., Riley C. B. Test for allelopathic interactions between two marine microalgal species grown in intensive cultures // Curr. Microbiol. - 1981. - **6**, No. 5. - P. 275 - 279.
12. Herrero C., Abalde J., Fabregas J. Nutritional properties of four marine microalgae for albino rats // J. Appl. Phycol. - 1993. - **5**, No. 6. - P. 573 - 580.
13. Lustigman B. Comparison of antibiotic production from four ecotypes of the marine algae, *Dunaliella* // Bull. Environmental Contamination and Toxicology. - 1988. - **40**. - P. 18 - 22.
14. Mary V., Mary A., Sarojini R. Biological effects of extracts from *Onchidium verruculatum*, Mollusca: Gastropoda, on *Artemia salina* and two marine microalgae // Bioactive Compounds From Marine Organisms With Emphasis On The Indian Ocean: An Indo-US- Symp. - 1991. - P. 63 - 68.
15. Mary A., Mary V., Nagabhushanam R. Extracts of ascidians *Styela pigmentata* and *Pyura pallida*: Biological potency // Bioactive Compounds From Marine Organisms With Emphasis On The Indian Ocean: An Indo-US- Symp. - 1991. - P. 69 - 73.
16. McCoy H. D. II The commercial algae: Prospects for one of the oldest industries // Aquacult. Mag. - 1987. - **13**, No. 4. - P. 46 - 55.
17. Montagna P. A., Stockwell D., Street G. Effect of the Texas brown tide on *Mulinia lateralis* populations and feeding // J. Shellfish Res. - 1993. - **12**, No. 1 - P. 142.
18. Moulton T. Aquaculture at a solar salt works // Austasia Aquacult. Mag. - 1988. - **3**, No. 4. - P. 3 - 4.
19. Ohta Souichi, Ono Futoshi, Shiomi Yasuki, et al. Anti-herpes simplex virus substances produced by the marine green alga, *Dunaliella primolecta* // J. Appl. Phycol. - 1998. - **10**, No. 4. - P. 349 - 355.
20. Spectorova L. V., Goronkova O. I., Nosova L. P., Albitskaya O.N. High-density culture of marine microalgae - promising items for mariculture. 1. Mineral feeding regime and installations for culturing *Dunaliella tertiolecta* Butch. // Aquaculture. - 1982. - **26**, No. 3 - 4. - P. 289 - 302.
21. Toha J., Soto M. A., Cuadros X. Waste water treatment using saline cultures of microalgae // Biotechnol. Tech. - 1990. - **4**, No. 6. - P. 441 - 444.
22. Wilson P. D. G., Hilton M. G., Waspe C. et al. Production of super (13) C-labelled β -carotene from *Dunaliella salina* // Biotechnol. Lett. - 1997. **19**, No. 5. - P. 401 - 405.

Южный филиал «Крымский агротехнологический университет»
 Национального аграрного университета,
 Крымский государственный медицинский университет
 г. Симферополь

Получено 12.05.2005

E. B. GOL'DIN

THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF *DUNALIELLA* IN MODEL ASSAYS

Summary

Marine microalgal cultures of *Dunaliella salina* (Dunal) Teodoresco и *Dunaliella tertiolecta* (Butcher) were examined on the fall webworm larvae *Hyphantria cunea* Drury (the second, third and fourth instars). Microalgae demonstrated the inhibitory activity in relation to vital functions (nutrition, growth and metamorphosis). These processes lead to insect mortality during pupation and transformation into imago phase.