

**ИНТЕНСИВНОСТЬ РОСТА И БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ
МИКРОВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA VIRIDIS* TEOD.
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ**

Изучали интенсивность роста и биохимический состав зеленой микроводоросли *Dunaliella viridis* в зависимости от условий культивирования. Установлено, что при интенсивном культивировании водоросли максимальные плотности клеток можно получить при температуре 25 - 26°C и освещенности 6 тыс. люкс. Содержание белков, углеводов, липидов зависит от фазы роста и режима культивирования.

Одной из важнейших проблем марикультуры является обеспечение личинок беспозвоночных живыми кормами. Личинки мидий и устриц, выращиваемые в питомнике, питаются только микроводорослями. В процессе роста водоросли синтезируют и накапливают разнообразные биологически активные вещества, многие из которых, в частности витамины, а также белки, углеводы, липиды являются ценными пищевыми составляющими корма. Как известно, водоросли рода *Dunaliella* накапливают большое количество β -каротина [7], который является одним из компонентов антиоксидантной системы и предшественником витамина А в организме животных [8]. В связи с этим, в качестве одной из составляющих корма для личинок устриц нами была выбрана микроводоросль *Dunaliella viridis*. Кроме необходимого биохимического состава, кормовые виды водорослей должны обладать рядом других качеств: высокой скоростью роста, низкой требовательностью к питательной среде, способностью расти при больших плотностях, небольшими размерами и удобной формой для заглатывания личинками. Микроводоросль *D. viridis* в определенной степени соответствует этим требованиям.

Цель работы: изучение интенсивности роста и биохимического состава микроводоросли *D. viridis* в зависимости от условий культивирования.

Материал и методы. Объектом исследования была зеленая микроводоросль *D. viridis* (Clorophyceae), полученная из коллекции отдела физиологии водорослей ИнБЮМ. Водоросль выращивали в режиме накопительного культивирования в колбах (V = 1 л) и полиэтиленовых мешках (V = 18 л), на питательной среде Конвея при температуре 15°C и 25 - 26°C, круглосуточной аэрации и освещении лампами LD-40 при мощности светового потока от 1 до 10 тыс. люкс. Концентрацию клеток водорослей подсчитывали в камере Горяева под микроскопом МБИ-6. Скорость роста (μ) рассчитывали по уравнению $\mu = \lg C_t - \lg C_0 / t \times \lg 2$ (где C_0 и C_t концентрации в начальный момент времени и через t суток) [4]. Содержание белков, углеводов, липидов и β -каротина определяли согласно методикам [3, 9, 10]. Концентрации белков, углеводов, липидов выражали как % к абсолютному сухому весу (% АСВ), а количество β -каротина - в мкг/мг сухой массы.

Результаты и обсуждение. Клетки микроводоросли *D. viridis* имеют небольшие размеры (9 - 12 x 6 - 12 мкм), правильную эллиптическую форму, лишены целлюлозной и пектиновой оболочки, окружены тонкой бесцветной протоплазматической мембраной, подвижны. [2]. Они не подвержены механическим повреждениям в результате перемешивания при наращивании в больших объемах. При массовом культивировании максимальная плотность клеток достигает 4 - 5 млн. кл/мл. В 1 л культуры такой плотности содержится 1,6 г сырой биомассы водоросли. При аэрации питательной среды смесью углекислого газа с воздухом урожай *D. viridis* можно увеличить в 2 - 3 раза [6]. Индекс пищевой ценности водоросли равен 0,68 [5].

Температурный оптимум роста микроводоросли *D. viridis* находится в пределах от 14 до 30°C. При изучении влияния температуры на рост водоросли было установлено, что при температуре 15°C максимальная концентрация клеток составляла 1,82 млн.

© Л. В. Ладыгина, 2005

кл/мл, а при 25 - 26°C - 3,32 млн. кл/мл. Скорость роста водоросли при 15°C и 25 - 26°C соответственно 0,343 и 0,603 сут⁻¹. Следовательно оптимальная температура для выращивания *D. viridis* - 25 - 26°C (рис.1).

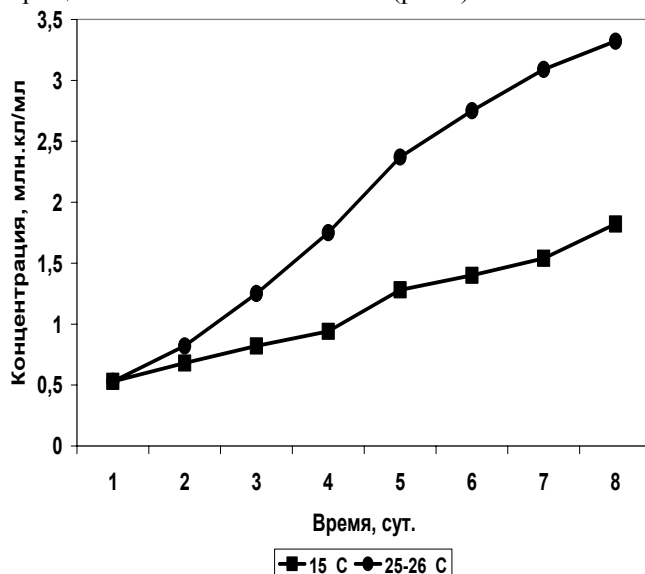
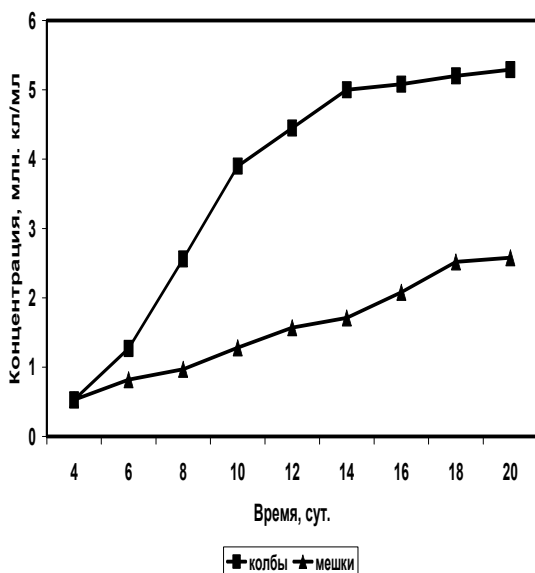


Рисунок 1. Интенсивность роста водоросли *D. viridis* в зависимости от температуры
Figure 1. *D. viridis* growth rate depending on the temperature

Интенсивность действия света на микроводоросли - один из важнейших факторов, контролирующих скорость их роста и фотосинтез. При изменении интенсивности света от 1 до 10 тыс. люкс наблюдалось

изменение плотности культуры. При освещенности 1, 6, 10 тыс. люкс концентрация клеток составляла соответственно 1,07, 4,46 и 1,82 млн. кл/мл. Максимальный рост водоросли наблюдался при освещенности 6 тыс. люкс. При освещенности 10 тыс. люкс клетки микроводоросли продолжали делиться, но размер клеток становился неоднородным, основная масса клеток мельчала. Среднее значение размеров клеток при 6 и 10 тыс. люкс составляло 13,3 x 10,2 мкм и 12,6 x 8,8 мкм соответственно.

Рост микроводоросли *D. viridis* зависел также от типа культиватора для выращивания. Так, при культивировании в колбах и полиэтиленовых мешках, максимальная биомасса культуры, при одинаковых условиях культивирования, была различна. В колбах она была выше и составила 1,57 г/л, а в мешках - 0,79 г/л сырой биомассы. Вероятно, интенсивность роста культуры зависела от толщины слоя культуральной среды (рис.



2). При толщине слоя культуральной среды 40 мм концентрация клеток *D. viridis* составляла 6 млн. кл/мл, а при уменьшении толщины слоя до 5 мм количество клеток увеличивалось до 20 млн. кл/мл [1].

Рисунок 2. Интенсивность роста водоросли *D. viridis* в зависимости от типа культиватора
Figure 2. *D. viridis* growth rate depending on cultivator type

При культивировании микроводорослей, как корма для личинок устриц, главным условием является получение большого количества биомассы, с высоким содержанием био-

логически активных веществ.

Процесс накопления белков, углеводов, липидов в клетках *D. viridis* находится в зависимости от фазы роста водоросли и режима культивирования. Максимальное содержание белков (37,1 % АСВ) было отмечено в течение экспоненциальной фазы роста, в период интенсивного накопления биомассы. Содержание углеводов и липидов составило соответственно 15,2 % и 8,4 % АСВ. В конце экспоненциальной фазы отмечено повышение содержания углеводов (до 20,6 %) и снижение содержания белков. Количество липидов изменялось незначительно. В стационарной фазе роста, при постоянной концентрации клеток, происходит увеличение содержания липидов и уменьшение концентрации белков и углеводов. Максимальное содержание липидов составляло 18 % (табл. 1). Такая закономерность накопления белков, углеводов, липидов характерна для накопительного режима культивирования водоросли, когда плотность культуры непрерывно увеличивается, пока не достигнет максимума значений. При проточном режиме культивирования плотность культуры постоянно поддерживается на одном и том же уровне за счет изъятия части суспензии в виде урожая и заполнения свежей питательной средой. Микроводоросль при таких условиях выращивания длительное время находится в фазе экспоненциального роста, характеризующейся накоплением белков. Биохимический состав водоросли практически не изменяется.

Таблица 1. Биохимический состав водоросли *D. viridis*
Table 1. Biochemical composition of *D. viridis*

Фаза роста	Содержание, % АСВ		
	белков	углеводов	липидов
Экспоненциальная	37,1 ± 0,21	15,2 ± 0,2	8,4 ± 0,17
Стационарная	13,3 ± 0,17	18,4 ± 0,12	18,0 ± 0,10

Процесс накопления β – каротина в клетках *D. viridis* не совпадает с максимальным накоплением биомассы. Так, в экспоненциальной фазе роста при максимальной биомассе культуры отмечено низкое содержание β -каротина - 1,24 мкг/мг сухого веса. В стационарной фазе роста происходит увеличение содержания β -каротина в культуре до 11,6 мкг/мг. При исследовании содержания β -каротина в культуре, выращиваемой

в колбах и полиэтиленовых мешках, были установлены различия в его концентрации (рис. 3).

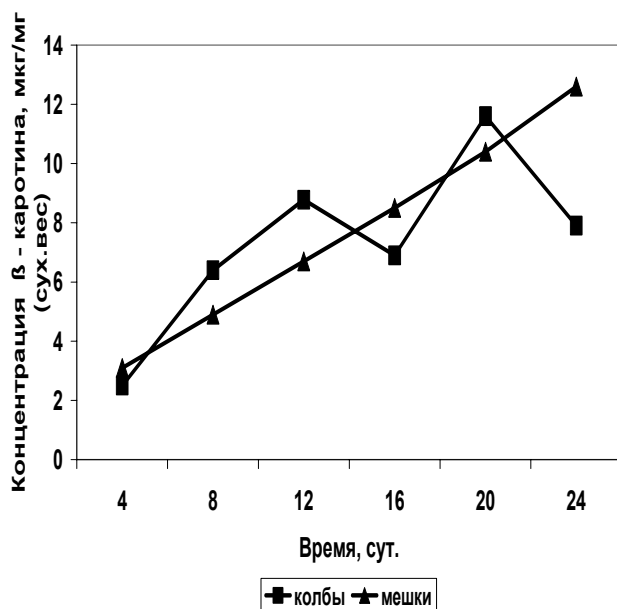


Рисунок 3. Изменение содержания β -каротина в процессе культивирования *D. viridis* в колбах и мешках

Figure 3. Change of the β -carotene content in the process of *D. viridis* cultivating in the retorts and polyethylene sacks

Для *D. viridis*, культивируемой в колбах, отмечено два пика накопления β -каротина на 12 и 20 день выращивания.

Максимальные концентрации составили 8,8 и 11,6 мкг/мг соответственно. При культивировании в мешках наблюдалось линейное увеличение содержания β-каротина. На 24-й день выращивания максимальная концентрация составила 14,2 мкг/мг. Полученные нами данные согласуются с исследованиями других авторов [1, 6]. Следовательно, интенсивность каротиногенеза в клетках *D. viridis* находится не в прямой зависимости от стадии роста, а является функцией взаимодействия метаболической системы клетки с комплексом факторов среды [1].

Таким образом, полученные нами результаты по интенсивности роста и биохимическому составу водоросли *D. viridis* позволяют рекомендовать ее для использования в качестве добавки в пищевой рацион личинок мидий и устриц, выращиваемых в питомнике. Учитывая размер клеток водоросли и строение ротового аппарата личинок, наиболее целесообразно включать ее в состав корма на поздних стадиях развития личинок и при подращивании спата. Включение данной водоросли в рацион гигантской устрицы *Crassostrea gigas* значительно увеличивало темп роста и выживаемость спата [11].

Выводы. 1. Оптимальными условиями для массового культивирования микроводоросли *D. viridis* являются температура 25 - 26°C, освещенность 6 тыс. люкс и аэрация смесью воздуха и углекислого газа. 2. Интенсивность роста водоросли зависит от толщины культурального слоя, с его уменьшением величина биомассы культуры увеличивается. 3. Содержание белков, углеводов, липидов в клетках водоросли зависит от фазы роста и режима культивирования. 4. Максимальные концентрации β-каротина можно получать при выращивании водоросли в полиэтиленовых мешках (вертикальных культиваторах).

1. Божков А. И., Мензянова Н. Г. Динамика роста, липидный состав и содержание β - каротина в клетках *Dunaliella viridis* Teod. при культивировании в разных типах фитобиореакторов // Альгология. – 1997. – 3, № 7. – С. 78 - 86.
2. Масюк Н. П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Teod. – Киев: Наук. думка, 1973. – 242 с.
3. Методы гидрохимических исследований основных биогенных элементов. – М.: ВНИРО, 1988. – С. 97 - 101.
4. Стейниер Р., Эдельберг Э., Ингрэм Дж. Мир микробов. – М.: Мир, 1983. – 3. – С. 40.
5. Хребтова Т. В. Питание и пищевые потребности личинок промысловых моллюсков Черного моря в условиях культивирования: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – М., 1986. – 15 с.
6. Юрина Е. В. Сравнительно – физиологическая характеристика двух видов гипергалинных водорослей. – М.: Наука, 1965. – 320 с.
7. Ben Amotz A., Shaish O., Avron M. Mode of action of the massively accumulated β- carotene of *Dunaliella* Bardawil in protecting the alga against damage by excess irradiation // Plant Physiol. – 1989. – 9, № 3. – P. 1040 – 1043.
8. Isler O. Carotenoids. - Basel; Stuttgart: Birkhauser verlag. 1971. – 905 p.
9. Liaaen-Jensen S., Andrewes A. G. Analyses of carotenoids and related polyene pigments// Meth. Microbiol. – 1985. - 18. – P. 235 – 255.
10. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Faar A. L. Protein measurement with folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. – 193. – P. 265 – 275.
11. McCausland M A., Brown M. R. et. al. Evaluation of live microalgae and microalgal pastes as supplementary food for juvenile Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) //Aquaculture. – 1999. – 174, № 3 - 4. - P. 323 – 342.

L. V. LADIGINA

**GROWTH RATE AND BIOCHEMICAL COMPOSITION OF *DUNALIELLA VIRIDIS* TEOD.
DEPENDING ON THE CULTIVATING CONDITIONS.**

Summary

Growth rate and biochemical composition of the microalgae *Dunaliella viridis* depending on the cultivating conditions have been studied. It was stated that maximal densities of cells under intensive algae cultivating could be obtained under temperature 25 - 26°C and illumination 6 thousand luxes. Algae growth intensity depends on the thickness of cultural layer. Contents of proteins, carbohydrates and lipids in the algae cells depend on the growth phase and cultivating regime. β -carotin content does not directly depend on the cultivating conditions and growth phase. Maximal concentrations of β -carotin can be obtained under algae growing in the vertical cultivators.