

УДК 582.232:[581.143+577.122.5]

ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КВАЗИНЕПРЕРЫВНОЙ КУЛЬТУРЫ *DUNALIELLA SALINA* TEOD. ПРИ РАЗЛИЧНОЙ ОСВЕЩЁННОСТИ

Боровков А.Б., Гудвилович И.Н.

*Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины, Севастополь, Украина
E-mail: spirit2000@ua.fm*

Проведена сравнительная оценка влияния фактора поверхностной освещённости на накопление пигментов и продукционные характеристики интенсивной культуры *Dunaliella salina*. Показано, что увеличение светового обеспечения культуры оказывает разнонаправленное действие на продуктивность (скорость роста) культуры и относительное содержание фотосинтетических пигментов в клетках *Dunaliella salina*.

Ключевые слова: *Dunaliella salina*, освещённость, продуктивность, содержание пигментов.

ВВЕДЕНИЕ

Выявление оптимальных условий для роста микроводорослей и биосинтеза БАВ позволяет определить продукционный потенциал вида, который при интенсивном культивировании обычно оказывается выше, чем в природных популяциях и при экстенсивном выращивании [1–3]. Такие оптимальные условия могут быть обеспечены не только изменением состава питательных сред, но и использованием определенных режимов культивирования, выбор которых во многом зависит от специфики организма и целей использования биомассы [4–6].

Важнейшим фактором, определяющим продукционные свойства культур микроводорослей, являющихся фототрофными организмами, является свет. Зависимость жизнедеятельности водорослей, в частности, фотосинтеза от освещённости может выражаться как в лимитировании, так и в ингибировании их роста. Эти два основных процесса отражают регуляторную роль света в запасании свободной энергии для создания биомассы микроводорослей [2, 7, 8].

В последние годы в лабораторных исследованиях микроводорослей используют плотные культуры, то есть когда единственным фактором, ограничивающим рост культуры (клеток микроводоросли), является световой. Оптимизация процесса получения таких культур весьма актуальна для промышленного выращивания биотехнологически ценных видов микроводорослей. Такие технологии, как правило, многостадийны, тем не менее, первая фаза, как правило, должна быть направлена на получение большого количества биомассы, то есть должна характеризоваться высокой продуктивностью исследуемой культуры водорослей. Поэтому актуальными остаются работы по подбору и оптимизации режимов

получения плотных высокопродуктивных культур. Микроводоросль *Dunaliella salina* Teod. – классический модельный объект многостадийных культур; её промышленное выращивание для получения β -каротина обычно проходит в две стадии.

Целью проведения эксперимента являлось изучение влияния поверхностной освещённости на содержание пигментов и продукционные характеристики культуры микроводоросли *D. salina*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования – зеленая эвригалобная микроводоросль *Dunaliella salina* Teod. (штамм IBSS-2) из коллекции культур ИнБЮМ НАН Украины.

Установка для культивирования микроводорослей состояла из трёх стеклянных фотобиореакторов плоскопараллельного типа объемом 6 л с рабочей толщиной 5 см, осветителя – лампы ДРЛ-700, термостабилизирующей и газораспределительной систем. Объем суспензии в каждом культиваторе поддерживали на уровне 5 л.

Водоросли выращивали на модифицированной питательной среде по [8], при приготовлении которой использовали морскую соль до концентрации в растворе $120 \text{ г} \cdot \text{дм}^{-3}$ [7]; в процессе выращивания культура непрерывно снабжалась газоздушным смесью с концентрацией углекислоты 3 % по объёму, температура составляла – $26\text{--}28^\circ\text{C}$, рН культуральной среды – 6–7 единиц. На начальном этапе эксперимента водоросли культивировали в накопительном режиме при поверхностной освещённости $80 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$. Начиная с 13 дня, эксперимент продолжили в квазинепрерывном режиме. Удельная скорость протока среды для 3-х экспериментальных культиваторов составляла $0,32 \text{ сут}^{-1}$, а поверхностная освещённость была изменена для двух культиваторов на 19 и $190 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$.

Содержание сухого вещества в культуре (СВ) определяли объемно-весовым [9], а также фотометрическим методами [7, 10]. Определяемые показатели химического состава выражали в пересчете на органическое вещество (ОВ). Массовую долю зольного остатка в сырой биомассе микроводорослей определяли путем предварительного высушивания навесок при 105°C в течение 24 ч и последующего сжигания в муфельной печи при $t = 500^\circ\text{C}$ до постоянного веса [10]. Содержание суммарных каротиноидов определяли спектрофотометрическим методом [10]. Пигменты экстрагировали из клеток микроводоросли ацетоном. Спектры экстрактов пигментов промеряли на регистрирующем спектрофотометре СФ-2000 в диапазоне длин волн 400–800 нм с шагом 0,1 нм. Расчет концентраций пигментов проводили по формулам, предложенным [11] по значениям оптической плотности на длинах волн, соответствующих максимумам поглощения пигментов.

Рассчитывали средние арифметические (\bar{x}), стандартные отклонения (S), основные ошибки средних, доверительные интервалы для средних ($\Delta \bar{x}$). Все расчёты проводили для уровня значимости $\alpha=0,05$. В таблицах и на графиках представлены средние значения и рассчитанные доверительные интервалы ($\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Накопительное культивирование было организовано от первоначальной плотности культуры $0,12 \text{ г ОВ}\cdot\text{л}^{-1}$ (грамм органического вещества на 1 л). Накопительные кривые для всех трёх культиваторов были аналогичны и имели типичную S-образную форму, культура достигла стационарной плотности на уровне $4,3 \text{ г ОВ}\cdot\text{л}^{-1}$ (рис. 1).

С началом квазинепрерывного режима происходило систематическое внесение биогенов в культуру, причём, поскольку удельная скорость потока была одинаковой для всех экспериментальных культиваторов, количество азота вносимого в культуру было одинаковым. При высоких удельных скоростях потока в условиях полного минерального и углеродного обеспечения максимальное накопление биомассы водорослей может ограничиваться, а значит, и определяться, поверхностной освещённостью культуры [8]. Для проверки данного предположения на третьем этапе для двух культиваторов поверхностная освещённость была изменена с $80 \text{ Вт}\cdot\text{м}^{-2}$ на 19 и $190 \text{ Вт}\cdot\text{м}^{-2}$ при неизменной удельной скорости потока.

При этом плотность культуры достигла стационарного динамического равновесия на 19 – 24 сутки, причём она составила: при поверхностной освещённости $190 \text{ Вт}\cdot\text{м}^{-2}$ – $2,4 \text{ г ОВ}\cdot\text{л}^{-1}$, при $80 \text{ Вт}\cdot\text{м}^{-2}$ – $1,42 \text{ г ОВ}\cdot\text{л}^{-1}$, при $19 \text{ Вт}\cdot\text{м}^{-2}$ – $0,45 \text{ г ОВ}\cdot\text{л}^{-1}$ (рис. 1).

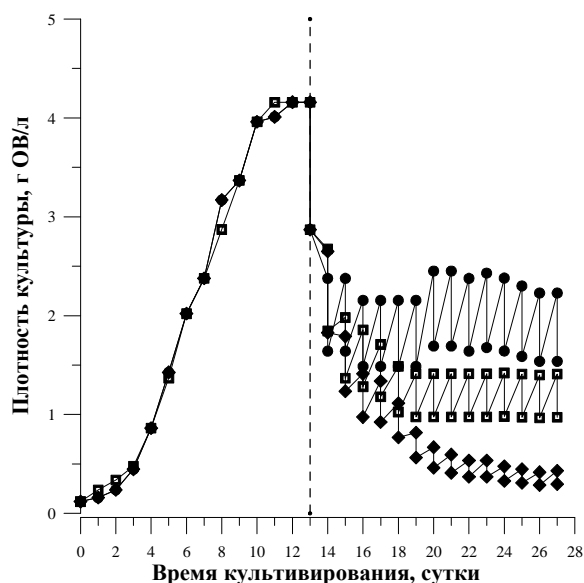


Рис. 1. Динамика плотности накопительной и квазинепрерывной культуры *Dunaliella salina* Теод. при различной освещённости: $190 \text{ Вт}\cdot\text{м}^{-2}$ (●), $80 \text{ Вт}\cdot\text{м}^{-2}$ (■), $19 \text{ Вт}\cdot\text{м}^{-2}$ (◆);

пунктирная линия – граница накопительного и квазинепрерывного культивирования

Повышение поверхностной освещённости в 2,4 раза вызвало увеличение плотности культуры в 1,7 раза, а уменьшение в 4,2 раза привело к уменьшению плотности культуры в 3,2 раза, что свидетельствует об ограничении скорости роста культуры при данных условиях только интенсивностью освещения. Для данных условий, при значениях поверхностной освещённости отличающихся в 10 раз, разница по плотности культуры составляла более чем 5 раз. Таким образом, показана возможность управления плотностью культуры за счёт регулирования интенсивности поверхностной освещённости.

Содержание пигментов в клетках микроводорослей является величиной, зависящей от многих факторов: рН, температуры, минерального и углеродного питания, световых и других условий культивирования клеток [12–17]. Важнейшим из этих факторов является действующий и поглощаемый световой поток.

Изменение поверхностной освещённости оказывало значительное влияние не только на плотность культуры *D. salina*, но и на содержание пигментов в клетках микроводоросли (табл. 1).

Таблица 1

Содержание пигментов в клетках *Dunaliella salina* при различном уровне поверхностной освещённости ($\omega=0,32 \text{ сут}^{-1}$)

Освещённость, Вт·м ⁻²	ХЛ <i>a</i> , % ОВ	ХЛ <i>b</i> , % ОВ	Кар, % ОВ
19	3,62±0,27	0,86±0,13	1,08±0,13
80	2,77±0,15	0,60±0,06	0,92±0,13
190	2,16±0,23	0,46±0,09	0,88±0,13

При одинаковой удельной скорости протока (0,32 сут⁻¹), и поверхностной освещённости отличающейся на порядок (19 и 190 Вт·м⁻²), в соответствии с литературными данными, с понижением освещённости наблюдалось повышение относительного содержания хлорофиллов до максимальных значений (3,62 и 0,86 % ОВ для хлорофиллов *a* и *b* соответственно), а при максимальных значениях поверхностной освещённости для данного эксперимента получены минимальные значения содержания хлорофиллов (2,16 и 0,46 % ОВ для хлорофиллов *a* и *b* соответственно).

Таким образом, увеличение поверхностной освещённости в 10 раз вызвало снижение относительного содержания хлорофилла *a* в клетках *D. salina* в 1,7 раза, а хлорофилла *b* – в 1,9 раза. Что касается суммарных каротиноидов, то в проведённом эксперименте с увеличением поверхностной освещённости зарегистрирована тенденция к понижению относительного содержания каротиноидов (от 1,08±0,131 до 0,88±0,129 % ОВ). Согласно имеющимся в литературе сведениям, содержание определенной части каротиноидов, относящихся к фотосинтетически активным, изменяется пропорционально содержанию хлорофилла *a* [18], а повышение относительного содержания каротиноидов в клетках при повышенной облучённости происходит только за счёт увеличения доли фотопротекторов [19]. Однако в

проведённом эксперименте не было зарегистрировано значительного повышения относительного содержания каротиноидов при изменении поверхностной освещённости до максимальных значений для данного эксперимента (от 80 до 190 Вт·м⁻²) (табл. 1). Вероятно, при увеличившейся плотности культуры в 5,3 раза удельная освещённость клеток изменилась незначительно, что не вызвало роста доли фотопротекторов.

Действие света на водоросли проявляется не только в качестве источника энергии для метаболических процессов, протекающих в клетке, но и в качестве регулятора процессов. Механизм явления световой адаптации далеко не ясен, однако многочисленные проведённые исследования указывают на однозначное действие света на пигменты: с ростом интенсивности света содержание пигментов в единице биомассы уменьшается. Такая реакция пигментов микроводорослей объясняется тем, что в них под действием интенсивного света наравне с синтезом происходит деструктивное фотоокисление пигментов [20].

Вероятно, при увеличившейся плотности культуры (от 1,42 до 2,4 г ОВ·л⁻¹) на фоне роста поверхностной освещённости от 19 до 190 Вт·м⁻² фотоадаптационные процессы были незначительны в связи с несущественно изменившимися условиями удельной освещённости клеток, что не вызвало роста содержания каротиноидов за счёт увеличения доли фотопротекторов. Относительное содержание всех фотосинтетических пигментов при понижении освещённости до 19 Вт·м⁻² увеличилось, отрицательно коррелируя с плотностью биомассы, что свидетельствует о превалирующем действии светового фактора на относительное содержание пигментов в клетках микроводоросли (табл. 1).

Известно, что продуктивность культур микроводорослей может значительно варьировать при изменении условий культивирования. Увеличение поверхностной освещённости в 10 раз вызывает повышение продуктивности культуры *D. salina* по биомассе в 5,5 раза, по хлорофиллу *a* – в 2,6 раза, по хлорофиллу *b* – в 2 раза, а по суммарным каротиноидам – в 3 раза.

Таблица 2

**Продуктивность культуры *Dunaliella salina* при различном уровне
поверхностной освещённости ($\omega=0,32$ сут⁻¹)**

Поверхностная освещённость, Вт·м ⁻²	Продуктивность, мг·л ⁻¹ ·сут ⁻¹			
	Биомасса	ХЛ <i>a</i>	ХЛ <i>b</i>	Каротиноиды
19	140±4	6,44±0,67	1,74±0,23	2,10±0,08
80	450±4	12,42±0,63	2,72±0,22	4,15±0,38
190	770±10	16,85±1,26	3,42±0,60	6,61±0,50

Уровень продуктивности культуры по пигментам определяется как продуктивностью культуры по биомассе, так и относительным содержанием данного компонента. Наблюдаемый рост продуктивности культуры *D. salina* по пигментам обусловлен увеличением продуктивности по биомассе, так как, при

увеличении поверхностной освещенности относительное содержание пигментов снижается.

Оптимизация лабораторного режима получения высокопродуктивных культур микроводорослей достигается за счет повышения эффективности использования культурой биогенных элементов и световой энергии. Используемая в опыте питательная среда рассчитана на получение более 4 г биомассы микроводоросли *D. salina* с 1 л культуры. При скорости протока среды $\omega=0,32$ сут⁻¹ в экспериментальные культиваторы поступало ежедневно 96 мг азота, что позволяло получить 0,96 – 1,20 г биомассы с 1 л культуры в сутки [21]. Экспериментально показано, что увеличение поверхностной освещенности в 4 раза вызывает рост продуктивности культуры более чем в 3 раза, как по биомассе, так и по пигментам. Дальнейшее увеличение освещенности в 2,4 раза вызывает рост продуктивности культуры по биомассе в 1,7 раза, а по пигментам в 1,3 – 1,6 раза. Однако даже при максимальной поверхностной освещенности продуктивность культуры в эксперименте в 1,2 – 1,5 раза ниже, чем максимально возможные расчетные значения (0,96 – 1,20 г/л в сутки). Это свидетельствует о наличии большого числа нерешенных проблем в данной области и оставляет простор для продолжения исследований и поиска путей повышения продуктивности культуры *D. salina*. Возможно комбинация действующих факторов повышенной освещенности и обеспеченности углеродом [22] вызовет более значительное увеличение продуктивности культуры микроводоросли *D. salina*. При успешном решении ряда научных и технических задач по оптимизации методов и режимов культивирования *D. salina* задача повышения продуктивности данной культуры будет выполнена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, показано, что изменение поверхностной освещенности при квазинепрерывном выращивании *D. salina* оказывает разнонаправленное действие на продуктивность (скорость роста) культуры и относительное содержание фотосинтетических пигментов. Содержание пигментов в биомассе *D. salina* в диапазоне поверхностной освещенности 19 – 190 Вт·м⁻² снижается на 20 – 40 %, а продуктивность культуры возрастает в 5,5 раза. Максимальное содержание фотосинтетических пигментов в биомассе *D. salina* отмечено при поверхностной освещенности 19 Вт·м⁻², а продуктивности – при 190 Вт·м⁻².

При использовании плотных культур, когда фактором, лимитирующим рост, является обеспеченность световой энергией, а не субстратом, максимизация урожая определяется освещенностью клеток культуры. Экспериментально показано, что для получения биомассы *D. salina* с повышенным содержанием пигментов рекомендуется освещенность – 19 Вт·м⁻², а для получения максимальной продуктивности, как по биомассе, так и по пигментам – 190 Вт·м⁻².

Рост продуктивности культуры микроводоросли априори подразумевает рост ассимиляции биогенных элементов из культуральной среды. Переход от стадии накопления биомассы к стадии накопления каротина у культуры *D. salina* возможен только при исчерпании биогенных элементов в среде. Таким образом, оптимизация первой стадии выращивания *D. salina* позволит проводить исследования, а в

дальнейшем, возможно, наладить промышленное производство плотной высокопродуктивной культуры данной микроводоросли.

Список литературы

1. Абдуллаев А.А. Интенсивная культура *Dunaliella salina* Теод. и некоторые её физиологические характеристики / А.А. Абдуллаев, В.Е. Семененко // Физиол. раст. – 1974. – Т. 21. – Вып. 6. – С. 1145–1153.
2. Биотехнология культивирования гидробионтов / В.Д. Романенко, Ю.Г. Крот, Л.А. Сиренко, В.Д.Соломатина – Киев, 1999. – 264 с.
3. Масюк Н. П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Теод. / Н. П. Масюк. – К. : Наук. думка, 1973. – 487 с.
4. Growth and biochemical composition of four *Dunaliella* strains to be used in aquaculture. / A. Vasquez-Suarez, M. Guevara, G. Salazar [et al] // Bol. Cent. Invest. Biol. (Maracaibo). – 2007. – Vol. 41, No 2. – P. 181–194.
5. Production of *Dunaliella salina* biomass rich in 9-cis- β -carotene and lutein in a closed tubular photobioreactor / M. Garcia-Gonzalez, J. Moreno, J. C. Manzano [et al] // J. Biotechnol. – 2005. – Vol. 115. – P. 81–90.
6. Zhu Y. H. Continuous cultivation of *Dunaliella salina* in photobioreactor for the production of β -carotene / Y. H. Zhu, J. G. Jiang // Eur. Food Res. Technol. – 2008. – Vol. 227. – P. 953–959.
7. Боровков А. Б. Динамика пигментов и роста микроводорослей в хемостате на примере *Dunaliella salina* Теод.: автореф. дисс. на соискание научн. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.17 «Гидробиология» / А. Б. Боровков. – Севастополь, 2008. – 28 с.
8. Тренкеншу Р. П. Ростовые и фотоэнергетические характеристики морских микроводорослей в плотной культуре : автореф. дисс. на соискание научн. степени канд. биол. наук : спец. 03.00.02 «Биофизика» / Р. П. Тренкеншу. – Красноярск, 1984. – 28 с.
9. Тренкеншу Р. П. Влияние элементов минерального питания на продуктивность водоросли *Platymonas viridis* Rouch. / Р. П. Тренкеншу, В. Н. Белянин // Биология моря. – 1979. – № 51. – С. 41–46.
10. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. – К. : Наук. думка, 1975. – 247 с.
11. Wellburn A. R. The Spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution / A. R. Wellburn // J. Plant Phys. – 1994. – Vol. 144. – P. 307–313.
12. Мурадян Е. А. Влияние экстремально высокой концентрации CO₂ на функциональное состояние фотосинтетического аппарата и обмен липидов *Dunaliella salina* : автореф. дисс. на соискание научн. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.12 «Физиология и биохимия растений»/ Е.А.Мурадян. – Москва, 2003. – 27 с.
13. Семененко В. Е. Параметрическое управление биосинтезом бета-каротина в клетках *Dunaliella salina* в условиях интенсивной культуры / В. Е. Семененко, А. А. Абдуллаев // Физиология растений. – 1980. – Т. 27, № 1. – С. 31–41.
14. Ben-Amotz A. Effect of irradiance and nutrient deficiency on the chemical composition of *Dunaliella bardawil* Ben Amotz and Avron (Volvocales, Chlorophyta) / A. Ben-Amotz // J. Plant. Physiol. – 1987. – Vol. 131. – P. 479–487.
15. Finenko Z. Z. Phytoplankton carbon to chlorophyll a ratio: Response to light, temperature and nutrient limitation / Z. Z. Finenko, N. Hoepffner, R. Williams, S. A. Piontkovski // Морс. эколог. журн. – 2003. – Т. 2, No 2. – С. 40–64.
16. Levasseur, M. Physiological acclimation of marine phytoplankton to different nitrogen sources / M. Levasseur, P. A. Thompson, P. J. Harrison // J. Phycoll. – 1993. – Vol. 29. – P. 587–595.
17. Loeblich L. A. Photosynthesis and pigment influenced by light intensity and salinity in the halophilic *Dunaliella salina* (Chlorophyta) / L. A. Loeblich // J. Mar. Biol. Ass. U.K. – 1982. – Vol. 62. – P. 493–508.
18. Ruecker J. Responses of carotenoids and chlorophylls to variations of growth-limiting factors in three filamentous blue-green algae / J. Ruecker, J. G. Kohl, K. Kaiser // Arch. Hydrobiol. Suppl. – 1995. – Vol. 108, No 77. – P. 51–65.

19. Финенко З.З. Пигменты микроводорослей / Под ред. Ю.Н. Токарева, З.З. Финенко, Н.В. Шадрина; НАН Украины, Институт биологии южных морей. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2008. – С. 237–267.
20. Фотодеструкция фотосинтетических пигментов цианобактерий / С.И. Погосян, М.Н. Мерзляк, Ю.Н. Кауров и др. // II съезд биофизиков России. – М., 1999. (раздел 14: Фотобиология).
21. Упитис В. В. Макро- и микроэлементы в оптимизации минерального питания микроводорослей / В. В. Упитис. – Рига : Зинатне, 1983. – 320 с.
22. Лелеков А. С. Моделирование роста и биосинтеза морских микроводорослей в квазинепрерывной культуре : автореф. дисс. на соискание научн. степени канд. биол. наук: спец. 03.00.17 «Гидробиология» / А. С. Лелеков. – Севастополь, 2009. – 26 с.

Боровков А.Б. Продукційні характеристики квазібезперервної культури *Dunaliella salina* при різній освітленості / А.Б. Боровков, І.Н. Гудвілович // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 1. – С. 29-38.

Проведена порівняльна оцінка впливу світлового фактора на продуктивність, швидкість накопичення пігментів інтенсивної культури *Dunaliella salina* і відносний вміст пігментів в її клітинах. Варіювали освітленість робочої поверхні культиваторів – 19, 80 і 190 Вт/м². Максимальна продуктивність культури спостерігалася у варіанті з найбільшою поверхневою освітленістю і складала 0,77 г·л⁻¹·доба⁻¹ по біомасі та 6,6 мг·л⁻¹·доба⁻¹ по каротиноїдам. Максимальний вміст фотосинтетичних пігментів у біомасі *D. salina* відзначено при поверхневій освітленості 19 Вт/м².

Експериментально показано, що рівень освітленості робочої поверхні культиватора істотно впливає як на швидкість росту культури микроводорості, так і на накопичення пігментів в її клітинах.

Ключові слова: *Dunaliella salina*, освітленість, продуктивність, вміст пігментів.

PRODUCTION CHARACTERISTICS OF SEMICONTINUOUS CULTURES *DUNALIELLA SALINA* TEOD. UNDER DIFFERENT IRRADIANCE

Borovkov A.B., Gudvilovich I.N.

*Institute of Biology of Southern Seas of NASU, Sevastopol, Ukraine
E-mail: spirit2000@ua.fm*

Irradiance conditions for the microalgae growth are the factors, which define its productivity with no limits in mineral nutrition elements.

The aim of research was study of surface irradiance influence on pigments content and on productivity characteristics of microalgae *D. salina*. The culture was grown in semicontinuous regime, specific flow rate was 0,32 day⁻¹. The irradiance of cultivators' operational surface was varied – 19, 80 and 190 Watt·m⁻². Comparative estimation of irradiance factor influence on productivity, accumulation of pigments and pigments content in cells of microalgae *D. salina* was conducted.

It was shown by experiment that irradiance level of cultivator's operational surface has considerable effect on culture density, growth rate, and also on pigments accumulation in cells of microalgae *D. salina*. Surface irradiance increase by a factor of 2,4 (from 80 to 190 Watt·m⁻²) caused 1,7 times culture density growth (from 1,42±0,11 to 2,40±0,11 g DWFA·l⁻¹), and decrease by a factor of 4,2 (from 80 to 19 Watt·m⁻²) led to 3,2 times culture density diminution (from 1,42±0,11 to 0,45±0,04 g DWFA·l⁻¹), what indicates that culture density under defined conditions was limited only to irradiation intensity.

It was shown, that relative content of chlorophyll *a* in *D. salina* cells decreased 1,7 times (from $3,62 \pm 0,27$ to $2,16 \pm 0,23$ % DWFA) and chlorophyll *b* content decreased 1,9 times (from $0,86 \pm 0,13$ to $0,46 \pm 0,09$ % DWFA) with the surface irradiation enhancement by a factor of 10. As for the total amount of carotenoids, a tendency to its relative content reduction (from $1,08 \pm 0,13$ to $0,88 \pm 0,13$ % DWFA) was registered during experiment with the surface irradiation intensification. Probably, specific cells irradiance changed slightly with the 5,3 times increase of culture density, which has not caused photo protectors part growth.

It was experimentally shown that surface irradiance increase by a factor of 10 caused 5 times increase in *D. salina* productivity of biomass (from $0,14 \pm 0,04$ to $0,77 \pm 0,10$ g DWFA \cdot l $^{-1}$ \cdot day $^{-1}$), 2,6 times increase in productivity of chlorophyll *a* (from $6,44 \pm 0,67$ to $16,85 \pm 1,26$ mg \cdot l $^{-1}$ \cdot day $^{-1}$), 2 times increase in productivity of chlorophyll *b* (from $1,74 \pm 0,23$ to $3,42 \pm 0,60$ mg \cdot l $^{-1}$ \cdot day $^{-1}$), and 3 times increase in productivity of total carotenoids (from $2,10 \pm 0,08$ to $6,61 \pm 0,50$ mg \cdot l $^{-1}$ \cdot day $^{-1}$). Highest culture productivity was observed with the most intensive irradiation and made up $0,77$ g \cdot l $^{-1}$ \cdot day $^{-1}$ for biomass and $6,6$ mg \cdot l $^{-1}$ \cdot day $^{-1}$ for carotenoids. Maximum content of photosynthetic pigments in *D. salina* biomass was marked by irradiation 19 Watt \cdot m $^{-2}$.

It was demonstrated that *D. salina* pigments productivity increase accounted for the biomass productivity growth, due to decrease of relative pigments content with the surface irradiation enhancement.

Keywords: *Dunaliella salina*, semicontinuous culture, irradiance, productivity, pigments content.

References

1. Abdullayev A. A. and Semenko V. E., Intensive culture of *Dunaliella salina* Teod. and its some physiological characteristics, *Physiol. plants*, **21**, 1145 (1974).
2. Romanenko V. D., Krot Yu. G., Sirenko L. A., Solomatina V. D., *Biotechnology of hydrobionts cultivation*, p. 264 (Institute of Hydrobiology of NASU, 1999).
3. Masyuk N. P., *Morphology, systematization, ecology, geographical distribution of genus Dunaliella Teod.*, p. 487 (Scient. Thought, 1973).
4. Vasquez-Suarez A., Guevara M., Salazar G., Arredondo-Vega B., Cipriani R., Lemus N., Lodeiros C., Growth and biochemical composition of four *Dunaliella* strains to be used in aquaculture, *Bol. Cent. Invest. Biol.*, **41**, 181 (2007).
5. Garcia-Gonzalez M., Moreno J., Manzano J. C., Florencio F. J., Guerrero M. G., Production of *Dunaliella salina* biomass rich in 9-cis- β -carotene and lutein in a closed tubular photobioreactor, *J. Biotechnol.*, **115**, 81 (2005).
6. Zhu Y. H., Jiang J. G., Continuous cultivation of *Dunaliella salina* in photobioreactor for the production of β -carotene, *Eur. Food Res. Technol.*, **227**, 953 (2008).
7. Borovkov A. B. Dynamics of pigments and growth of microalgae in chemostat for example *Dunaliella salina* Teod., 28 p. (Ribest, Sevastopol, 2008).
8. Trenkenshu R. P. Growth and photoenergy characteristics of marine microalgae in a dense culture, 28 p (Institute of Physics press, Krasnoyarsk, 1984).
9. Trenkenshu R. P., Belyanin V. N., Influence of mineral nutrients on the productivity of algae *Platymonas viridis* Rouch., *Mar. Biol.* – **51**, 41 (1979).
10. Sirenko L. A. *Methods of physiological and biochemical studies of algae in hydrobiological practice*, p. 247 (Scient. Thought, 1975).
11. Wellburn A. R. The Spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution, *J. Plant Phys.*, **144**, 307 (1994).

12. Muradyan E. A. Effect of extremely high CO₂ concentration on the functional state of the photosynthetic apparatus and lipid metabolism *Dunaliella salina*, 27 p. (MSU, Moscow, 2003).
13. Semenenko V. E., Abdullayev A. A., Parametric control of the beta-carotene biosynthesis in *Dunaliella salina* cells in mass culture, *Plant. physiol.*, **27**, 31 (1980).
14. Ben-Amotz A. Effect of irradiance and nutrient deficiency on the chemical composition of *Dunaliella bardawil* Ben Amotz and Avron (Volvocales, Chlorophyta), *J. Plant. Physiol.*, **131**, 479 (1987).
15. Finenko Z. Z., Hoepffner N., Williams R., Piontkovski S. A., Phytoplankton carbon to chlorophyll a ratio: Response to light, temperature and nutrient limitation, *Mar. J. Ecol.*, **2**, 40 (2003).
16. Levasseur M., Thompson P. A., Harrison P. J., Physiological acclimation of marine phytoplankton to different nitrogen sources, *J. Phycol.*, **29**, 587 (1993).
17. Loeblich L. A., Photosynthesis and pigment influenced by light intensity and salinity in the halophilic *Dunaliella salina* (Chlorophyta), *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, **62**, 493 (1982).
18. Ruecker J. J., Kohl G., Kaiser K., Responses of carotenoids and chlorophylls to variations of growth-limiting factors in three filamentous blue-green algae, *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, **108**, 51 (1995).
19. Tokarev Yu. N., Finenko Z. Z., Shadrin N. V., *Black Sea microalgae*, 172 p. (EKOSI- Hydrophysics, 2008).
20. Pogosyan S. I., Merzlyak M. N., Kaurov Yu. N., Lehimena L., Davletshina L. N., Photodestruction of photosynthetic pigments of cyanobacteria, *Abstracts of II Congress of Russian biophysicists*. – (MSU, Moscow, 1999).
21. Upitis V. V. Macro- and micronutrients in the optimization of mineral nutrition microalgae, 320 p. (Zinatne, 1983).
22. Lelekov A. S. Modelling of growth and biosynthesis of sea microalgae in semicontinuous culture, 26 p. (DigitPrint, Sevastopol, 2009).

Поступила в редакцию 12.01.2014 г.