

1. Губанова А.Д. *Acartia tonsa* Dana в Севастопольской бухте: появление, сезонная динамика, размерная структура / А.Д. Губанова // Экология. – 2000. – Вып. 51. – С. 5–58.
2. Сажина Л.И. Размножение, рост, продукция морских веслоногих ракообразных / Л.И. Сажина. – К.: Наук. думка, 1987. – 156 с.
3. Степанов В.Н. Исследования гидромеханических характеристик планктонных копепод / Степанов В.Н., Светличный Л.С.. – К.: Наук. думка, 1981. – 128 с.
4. Bonnet V. *Calanus* the cannibal / V. Bonnet, J. Titelman, R. Harris // J. Plank. Res. – 2004. – Vol. 26. – P. 937–948.
5. Chinnery F.E. The influence of temperature and salinity on *Acartia* (Copepoda: Calanoida) nauplii survival / Chinnery F.E., Williams J.A. // Mar. Biol. – 2004. – Vol. 145. – P. 733–738.
6. Hubareva E. Fate of the Black Sea *Acartia clausi* and *A. tonsa* (Copepoda) penetrating into the Marmara Sea through the Bosphorus / E. Hubareva, L. Svetlichny, A. Kideys [et al.] // Estuarine, Coastal and Shelf Science. – 2008. – Vol. 76. – P. 13–140.
7. McLaren I.A. Generation lengths of some temperate marine copepods: estimation, prediction, and implications // J. Fish Res. Board Can. - 1978. – Vol. 35. – P. 1330–1342.
8. McLaren I.A. Temperature adaptation of copepod eggs from the Arctic to the tropics / I.A. McLaren, C.J. Corkett, E.J. Zilliox // Biological Bulletin, Marine Biological Laboratory, Woods Hole, Mass. – 1969. – Vol. 137. – P. 486–493.
9. Miller D.D. The effects of salinity and temperature on the density and sinking velocity of eggs of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana / Miller D.D., Marcus N.H. // J. Exp. Mar. Biol. Ecol. – 1994. – Vol. 179. – P. 235–252.
10. Tester P.A. Why is *A. tonsa* restricted to estuarine habitats? / Tester P.A., Turner J. // Bulletin of the Plankton Society of Japan. – 1991. – Spec. Vol. – P. 603–611.
11. Titelman J. Motility of copepod nauplii and implications for food encounter / Titelman J., Kiorboe T. // Mar. Ecol. Progr. Ser. – 2003. – Vol. 247. – P. 123–135.
12. Uye S. Development of neritic copepods *Acartia clausi* and *A. steueri*. I. Some environmental factors affecting egg development and the nature of resting eggs / S. Uye // Bull. Plank. Soc. Japan. – 1980. – Vol. 27. – P. 1–9.

О.С. Губарева, Л.С. Светличний

Інститут біології південних морів НАН України, Севастополь

СОЛОНІСТНА ТА ТЕМПЕРАТУРНА ТОЛЕРАНТНІСТЬ МОРСЬКИХ КОПЕПОД *ACARTIA CLAUSI* І *ACARTIA TONSA* У ЕМБРІОНАЛЬНИЙ ПЕРІОД

На підставі вимірних величин щільності розрахована швидкість занурення яєць *Acartia clausi* і *A. tonsa*, відкладених у верхніх шарах Мармурового та Чорного морів, у шари з солоним і температурним градієнтами. Досліджено вплив поступових змін температури та солоності на виживання яєць цих видів копепод.

Ключові слова: *Acartia clausi*, *Acartia tonsa*, яйця, щільність, виживання, Мармурове море, Чорне море

E.S. Hubareva, L.S. Svetlichny

Institute of Biology of the Southern Seas of NAS of Ukraine, Sevastopol

SALINITY AND TEMPERATURE TOLERANCE IN MARINE COPEPODS *ACARTIA CLAUSI* AND *ACARTIA TONSA* DURING EMBRYONIC PERIOD

Speed of sinking to salinity and temperature gradients of the Marmara and Black Seas was calculated for eggs of *Acartia clausi* and *A. tonsa* laid in the upper layers basing on egg mass densities. The effect of gradual changing of temperature and salinity on egg hatching success of these species was studied.

Key words: *Acartia clausi*, *Acartia tonsa*, eggs, density, hatching success, Marmara Sea, Black Sea

УДК 582.232:[581.143+577.122.5]

И.Н. ГУДВИЛОВИЧ, А.Б. БОРОВКОВ, Р.П. ТРЕНКЕНШУ

Інститут біології южних морей НАН України

пр-т Нахимова 2, Севастополь 99011

ПРОДУКТИВНОСТЬ КУЛЬТУРЫ *DUNALIELLA SALINA* НА РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Исследована динамика плотности накопительной и квазинепрерывной культуры *Dunaliella salina* на различных питательных средах. На двух этапах рассчитана продуктивность культуры дуналиеллы

по биомассе. Показано, что для всех этапов культивирования продуктивность *D. salina* на среде Тренкеншу выше, чем на среде Ven-Amotz в 2,0–4,5 раза.

Ключевые слова: *Dunaliella salina*, продуктивность, квазинепрерывное культивирование

Зеленая галофильная микроводоросль *Dunaliella salina* Teod. широко известна как один из наиболее перспективных природных источников β-каротина и глицерина [3, 8]. Этот вид культивируется в промышленных масштабах в ряде стран, начиная с пятидесятых годов прошлого века. Тем не менее, проблема подбора режимов культивирования с целью увеличения выхода биомассы остается, по-прежнему, актуальной.

В настоящее время на практике применяются следующие методы культивирования: накопительный, непрерывный, непропорционально-проточный, квазинепрерывный [2]. С теоретической точки зрения все перечисленные методы можно рассматривать как частные случаи квазинепрерывного. Это дает возможность использовать в математических расчетах теорию роста [5]. С практической точки зрения наиболее важной характеристикой при промышленном культивировании микроводорослей является продуктивность культуры.

При выращивании зелёной микроводоросли *D. salina* широко используется питательная среда Ven-Amotz [9], которая ориентирована на получение «оранжевой формы» данной микроводоросли с повышенным содержанием β-каротина в клетках. Состав питательной среды Тренкеншу [4] позволяет получать плотную интенсивно растущую культуру клеток *D. salina* с зелёной окраской.

Целью данного эксперимента было определение продуктивности культуры *D. salina*, выращиваемой на средах Тренкеншу и Ven-Amotz в накопительном и квазинепрерывном режимах.

Материал и методы исследований

Объектом исследования была альгологически чистая культура зеленой галобной микроводоросли *Dunaliella salina* Teod. штамм IBSS-2 из коллекции культур ИнБЮМ НАН Украины. Водоросли культивировали в стеклянных фотобиореакторах плоскопараллельного типа с рабочей толщиной 5 см. Объем культуры составлял 5 дм³. Водоросли выращивали на средах Тренкеншу и Ven-Amotz, причём в последней среде использовали удвоенное количество биогенов с целью повышения рабочей плотности культуры. В процессе выращивания культура на среде Тренкеншу непрерывно снабжалась газовой смесью с концентрацией углекислоты (2–3%), обеспечивающей оптимальную pH среды (8–9). Освещенность рабочей поверхности культиваторов составляла 80 Вт/м², температура – 28–30°C.

Рост культур регистрировали фотометрическим методом. Абсолютно сухую массу (АСМ) в пробе определяли объемно-весовым методом [1], после чего проводили перерасчёт на ОВ (органическое вещество). Массовую долю зольного остатка определяли путем предварительного высушивания сырой биомассы при 105°C в течение 24 ч. и последующего сжигания в муфельной печи при t=500 °C.

На первом этапе осуществлялось накопительное культивирование, далее эксперимент продолжался в квазинепрерывном режиме, когда непрерывный рост клеток обеспечивается периодическим разбавлением культуры питательной средой [5]. В результате предварительных расчётов, были определены скорости протока: 0,2 сут⁻¹ для культуры *D. salina*, выращиваемой на среде Тренкеншу и 0,1 сут⁻¹ при культивировании на среде Ven-Amotz, так, чтобы получить при стационарном динамическом равновесии культуру одинаковую по плотности.

Результаты исследований и их обсуждение

Накопительное культивирование было организовано от первоначальной плотности культуры 0,12 г ОВ/дм³ (рис.). Выраженная лаг-фаза отсутствовала в связи с тем, что культуры были предварительно адаптированы к установленным физическим условиям, а также в связи с высокой начальной плотностью культуры.

Культура, выращиваемая на среде Ven-Amotz, достигла стационарной плотности на уровне 0,89 г ОВ/дм³ на 10-е сутки, а плотность культуры, выращиваемой на среде Тренкеншу, к этому же моменту составила 3,66 г ОВ/дм³. Такая значительная разница по плотности биомассы (более чем в 4 раза) для культуры, находящейся в идентичных условиях культивирования по температурным условиям и поверхностной освещённости, несомненно, связана со значительными количественными различиями основных биогенных элементов данных сред, а также с отсутствием дополнительной подачи газообразной углекислоты для культуры, выращиваемой на среде Ven-Amotz.

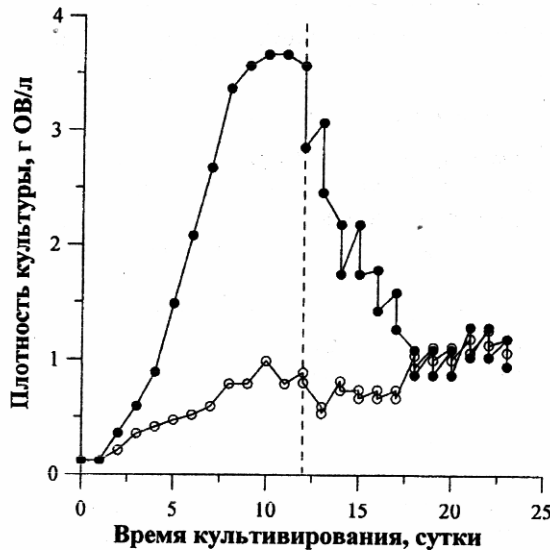


Рис. Динамика плотности накопительной и квазинеперервной культуры *Dunaliella salina* Teod.; чёрные маркеры – среда Тренкеншу; белые маркеры – среда Ben-Amotz; штриховая линия разделяет накопительный и квазинеперервный режимы культивирования

Для полученных данных накопительной культуры *Dunaliella salina* произвели аппроксимирующие расчеты методом наименьших квадратов с параметрами, заданными согласно [5], и вычислили основные характеристики роста культуры в данных условиях (табл. 1).

Таблица 1

Основные ростовые характеристики накопительной культуры *Dunaliella salina*

Питательная среда	P_m , г ОВ/дм ³ сут	μ_m , сут ⁻¹	V_0 , г ОВ/дм ³	V_m , г ОВ/дм ³
Тренкеншу	0,61	0,56	0,12	3,66
Ben-Amotz	0,06	0,39	0,12	0,89

Примечание: P_m – максимальная продуктивность, μ_m – удельная скорость роста, V_0 – начальная плотность культуры, V_m – плотность культуры на стационарной фазе.

Затем, с 12 дня культивирования эксперимент продолжили в квазинеперервном режиме с удельной скоростью протока $0,2 \text{ сут}^{-1}$ для *D. salina*, выращиваемой на среде Тренкеншу и $0,1 \text{ сут}^{-1}$ для *D. salina*, выращиваемой на среде Ben-Amotz. В результате к 18-м суткам культивирования плотности культур практически совпали (рис.).

Рассчитанные фактические значения продуктивности по биомассе в сутки с единицы объёма культуры для квазинеперервного и накопительного (в среднем в сутки с 1 дм^3 за 10 дней) режимов культивирования для описанных условий приведены в табл. 2.

Таблица 2

Продуктивность культуры *Dunaliella salina* при накопительном и квазинеперервном режимах культивирования

Питательная среда	Режим культивирования	Плотность культуры, г ОВ/дм ³	Продуктивность, г ОВ/дм ³ сут
Тренкеншу	Накопительный	3,66	0,31
Ben-Amotz	Накопительный	0,89	0,07
Тренкеншу	Квазинеперервный, $0,2 \text{ сут}^{-1}$	1,25	0,25
Ben-Amotz	Квазинеперервный, $0,1 \text{ сут}^{-1}$	1,21	0,12

Продуктивности периодической и квазинеперервной культуры, выращиваемой на среде Тренкеншу (табл. 2), имеют близкие значения, причём, значение продуктивности для квазинеперервного режима ($\omega=0,2 \text{ сут}^{-1}$) более низкое, чем при накопительном культивировании. При такой удельной скорости протока среды лимитирование по биогенным элементам маловероятно, так как при ежесуточном обмене отбирается $0,25 \text{ г ОВ/дм}^3$, а вносится около 70 мг минерального азота на 1 дм^3 (этого достаточно для синтеза $0,7-1,0 \text{ г}$ биомассы) [7]. Наблюдаемое понижение продуктивности по сравнению с рассчитанной максимальной (P_m) может объясняться понижением объёмной доли углекислоты до 2% на квазинеперервном этапе культивирования.

Так как лимитирующим фактором для накопительной культуры на среде Ben-Amotz, вероятно, являлось отсутствие дополнительной подачи углекислоты, а не дефицит биогенных элементов, то увеличение продуктивности культуры при переходе к квазинеперервному режиму,

возможно, вызвано ежедневным дополнительным внесением в суспензию свежей питательной среды, содержащей NaHCO_3 как возможного источника углерода.

Тем не менее, даже при понижении продуктивности квазинепрерывной культуры по сравнению с накопительной на среде Тренкеншу, продуктивность культуры на данной среде была выше продуктивности культуры на среде Ben-Amotz и на накопительном (в 4,5 раза) и квазинепрерывном (в 2 раза) этапах культивирования.

Выводы

Таким образом, показана возможность получения культуры *D. salina* с рабочей плотностью около $1,25 \text{ г ОВ/дм}^3$ при выращивании данной микроводоросли на различных питательных средах за счёт изменения удельной скорости потока среды.

Продуктивность культуры на среде Тренкеншу на всех этапах культивирования была выше, чем продуктивность культуры на среде Ben-Amotz, причём при накопительном культивировании в 4,5 раза, а при квазинепрерывном – в 2 раза.

1. *Интенсивное* непрерывное культивирование хлореллы в плотностном режиме при различной освещенности / И.А. Терсков, И.И. Гительзон, Ф.Я. Сидько и др.; под ред. Г. М. Лисовского // Управляемое культивирование микроводорослей. – М.: Наука, 1964. – С. 55–84.
2. Кокова В.Е. Непропорционально-проточная культура простейших / Кокова В.Е., Лисовский Г.М. – Новосибирск: Наука, 1976. – 76 с.
3. Масюк Н.П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Teod. / Н.П. Масюк. – К.: Наук. думка, 1973. – 487 с.
4. Тренкеншу Р.П. Влияние элементов минерального питания на продуктивность водоросли *Platymonas viridis* Rouch. / Р.П. Тренкеншу, В.Н. Беянин // Биология моря. – 1979. – № 51. – С. 41–46.
5. Тренкеншу Р.П. Простейшие модели роста микроводорослей II. Квазинепрерывная культура. / Р.П. Тренкеншу // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 98–110.
6. Тренкеншу Р.П. Простейшие модели роста микроводорослей II. Периодическая культура / Р.П. Тренкеншу // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 89–97.
7. Упитис В.В. Макро- и микроэлементы в оптимизации минерального питания микроводорослей / В. В. Упитис. – Рига: Зинатне, 1983. – 320 с.
8. Ben-Amotz A. Accumulation of b-carotene in halotolerant algae: purification and characterization of b-carotene rich globules from *Dunaliella bardawil* (Chlorophyceae) / A. Ben-Amotz, A. Katz, M. Avron // J. Phycol. – 1982. – Vol. 18. – P. 529–537.
9. Shaish A. Effect of inhibitors on the formation of stereoisomers in the biosynthesis of β -carotene in *Dunaliella bardawil* / A. Shaish, M. Avron, A. Ben-Amotz // Plant. Cell. Physiol. – 1990. – Vol. 31, N 5. – P. 689–696.

І.Н. Гудвілович, А.В. Боровков, Р.П. Тренкеншу
Інститут біології південних морів НАН України, Севастополь

ПРОДУКТИВНІСТЬ КУЛЬТУРИ *DUNALIELLA SALINA* НА РІЗНИХ ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

Досліджено динаміку щільності періодичної та квазібезперервної культури *Dunaliella salina* на різних поживних середовищах. На двох етапах розрахована продуктивність культури дуналієли за біомасою. Показано, що для всіх етапів культивування продуктивність *D. salina* на середовищі Тренкеншу вища, ніж на середовищі Ben-Amotz у 2,0–4,5 рази.

Ключові слова: *Dunaliella salina*, продуктивність, квазібезперервне культивування

I.N. Gudvilovich, A.V. Borovkov, R.P. Trenkenshu
Institute of Biology of the Southern Seas of NAS of Ukraine, Sevastopol

PRODUCTIVITY OF CULTURE *DUNALIELLA SALINA* ON DIFFERENT NOURISHING ENVIRONMENTS

The dynamics of cell density of batch and semicontinuous culture of *Dunaliella salina* on different mediums were investigated. At the two stage productivity characteristics *D. salina* on biomass were estimated. It is shown that the productivity of the biomass of *D. salina* on the Trenkenshu medium is higher than on the Ben-Amotz medium in all stages of cultivation.

Key words: *Dunaliella salina*, productivity, semicontinuous cultivation