



Оригинальная статья / Original article
УДК 582.232:[581.143+577.122.5]
DOI: 10.18470/1992-1098-2019-2-211-220

АПРОБАЦИЯ ДВУХСТАДИЙНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *DUNALIELLA SALINA* (TEODORESCO, 1905) В СЕВАСТОПОЛЬСКОМ РЕГИОНЕ

Ирина Н. Гудвилевич*, Андрей Б. Боровков

Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского
Российской академии наук, Севастополь, Россия, gudirina2008@yandex.ru

Резюме. Цель. Исследовать влияние поверхностной освещённости на скорость роста и соотношение пигментов интенсивной культуры *Dunaliella salina*; провести апробацию выращивания *D. salina* для получения её биомассы, обогащённой β-каротином, в полупромышленных условиях. **Методы.** Культивирование *D. salina* в полупромышленных условиях проводили в тепличном модуле ФГБУН «Институт морских биологических исследований». Культиваторами служили квадратные бассейны (1×1 м), выстеленные полиэтиленовой пленкой, уложенные на выровненную поверхность грунта; высота слоя культуры составляла 10 см, объём – 100 л; разбавление предварительно выращенной *D. salina* проводили свежей средой без солей – источников азота и фосфора. Дуналиеллу выращивали при естественном освещении и непрерывном перемешивании. **Результаты.** Определен диапазон поверхностной освещённости для интенсивного выращивания *D. salina*, оптимальный по энергетическим и минеральным затратам. В данном диапазоне средняя скорость роста культуры для условий эксперимента составляла 0.23-0.27 г СВ/(л·сут), а соотношение Кар/Хл *a* повышалось в 1.5-2 раза, что свидетельствует о перестройке пигментного аппарата *D. salina*. Показано, что на втором этапе выращивания дуналиеллы содержание каротиноидов в бассейнах увеличилось в 1.3 раза и составило 600 мг на 1 м² при соотношении Кар/Хл *a* равном 4.5. **Заключение.** Накопление каротиноидов при полупромышленном выращивании *D. salina* произошло под действием двух факторов: повышенной естественной освещённости и температуры без дополнительного повышения солёности и продувки углекислоты, что снижает затраты при её промышленном выращивании; данный способ может быть использован для разработки технологии получения биомассы дуналиеллы, обогащенной β-каротином в южных регионах Российской Федерации.

Ключевые слова: полупромышленное культивирование *D. salina*, продуктивность, соотношение каротиноиды/хлорофилл *a*, тепличный модуль, β-каротин.

Формат цитирования: Гудвилевич И.Н., Боровков А.Б. Апробация двухстадийного культивирования *Dunaliella salina* (Teodoresco, 1905) в Севастопольском регионе // Юг России: экология, развитие. 2019. Т.14, N2. С.211-220. DOI: 10.18470/1992-1098-2019-2-211-220

TESTING OF TWO-STAGE CULTIVATION OF *DUNALIELLA SALINA* TEOD. (TEODORESCO, 1905) IN THE SEVASTOPOL REGION

Irina N. Gudvilovich*, Andrey B. Borovkov

A.O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research of RAS,
Sevastopol, Russia, gudirina2008@yandex.ru



Abstract. Aim. In this work, we set out to study the effect of surface irradiance on the growth rate and the pigment ratio of *D. salina*, as well as to test a technology for semi-industrial cultivation of *D. salina* aimed at obtaining its biomass enriched with β -carotene. **Methods.** *D. salina* was cultivated under semi-industrial conditions in a greenhouse module of the A. O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research. Square tanks (1 × 1 m) lined with polyethylene film and laid on a flat ground surface were used as propagators. The culture layer had a thickness of 10 cm and a volume of 100 litres. Pre-grown *D. salina* was diluted using fresh medium without salts – sources of nitrogen and phosphorus. *Dunaliella* was cultivated under natural light with continuous stirring. **Results.** We determined the range of surface irradiance, which can be considered optimal for intensive cultivation of *D. salina* in terms of energy and mineral costs. Across this range, the average growth rate of the culture under experimental conditions amounted to 0.23–0.27 g DW/(l·day), whereas the ratio of Car / Chl *a* increased by a factor of 1.5–2, which indicates changes in the pigment composition of *D. salina*. It is experimentally shown that the content of carotenoids in the tanks increased by 1.3 times amounting to 600 mg per 1 m² at a Car/Chl *a* ratio of 4.5 at the second stage of *D. salina* cultivation. **Conclusions.** Carotenoid accumulation during semi-industrial cultivation of *D. salina* occurs due to two factors: increased natural irradiance and temperature without an additional increase in salinity and blowing of carbon dioxide, which reduces the costs of its industrial cultivation. This two-stage cultivation method can be used to develop a technology for obtaining *Dunaliella* biomass enriched with β -carotene in the southern regions of the Russian Federation.

Keywords: semi-industrial cultivation of *D. salina*, productivity, Car/Chl *a* ratio, greenhouse module, β -carotene.

For citation: Gudvilovich I.N., Borovkov A.B. Testing of two-stage cultivation of *Dunaliella salina* Teod. (Teodoresco, 1905) in the Sevastopol region. *South of Russia: ecology, development*. 2019, vol. 14, no. 2, pp. 211–220. (In Russian) DOI: 10.18470/1992-1098-2019-2-211-220

ВВЕДЕНИЕ

Зеленая одноклеточная микроводоросль *Dunaliella salina* (Dunal) Teodoresco является объектом массового культивирования благодаря уникальной способности накапливать в клетках значительные количества β -каротина, являющегося сильнейшим антиоксидантом [1–5]. Кроме того, дуналиелла – классический модельный объект, культура которой способна расти с высокой скоростью и выдерживать широкий спектр воздействия экстремальных факторов [1; 6; 7].

Юг Российской Федерации и Крымский полуостров, в частности, являются максимально благоприятными регионами для организации массового культивирования микроводорослей по климатическим условиям. Значительная протяженность районов умеренно морского, средиземноморского и влажного субтропического климата, наибольшее количество солнечных дней в году – всё это позволяет культивировать микроводоросли в течение 7–8 месяцев с использованием только солнечного света [6; 8; 9]. Южные районы РФ являются регионами ареала естественного местообитания *D. salina*, в солёных водоемах которых в летнее время складываются благоприятные условия как для массового развития микроводоросли, так и накопления в её клетках β -каротина (повышенная солёность, температура, солнечная радиация) [1; 6]. В ФГБУН ИМБИ за последние годы проведена большая работа по разработке, совершенствованию и практической реализации микроводорослевых биотехнологий на предприятиях России, Греции и Украины («Агро-Виктория», Краснодарский край, РФ; «Меркурий-II», г. Харьков, Украина; «Hellenic Spiroulina Net LLC», Сепрес, Греция). Опыт организации альгобиотехнологических про-



изводств показал, что при переходе от лабораторных систем культивирования к промышленным необходим промежуточный этап, когда выращивание микроводорослей осуществляется в условиях и установках аналогичных промышленным, но на небольших площадях. Эта необходимость диктуется значительным снижением производительности открытых систем выращивания микроводорослей по сравнению с закрытыми фотобиореакторами или лабораторными установками (в 2 и более раз) [2; 3; 10]. В качестве факторов, влияющих на снижение продуктивности культур, обычно указывают нестабильные физико-химические условия среды и так называемый «эффект масштабирования», когда при переходе от лабораторных к промышленным установкам при соблюдении одинаковых условий (питательная среда, температура, pH, скорость перемешивания, тип аппарата) скорость роста культуры и скорость синтеза целевого продукта могут существенно отличаться [11]. Промежуточный этап позволяет провести предварительную оценку производительности системы выращивания для корректировки технологической схемы в условиях конкретного региона. Обычно выращивание *D. salina* проводят в две стадии: на первой создают условия для активного роста культуры, а на второй – индуцируют синтез β -каротина в клетках микроводоросли, оказывая стресс-воздействие на культуру [1; 6; 7; 10; 12; 13]. Поэтому целью работы являлась оценка особенностей роста и накопления каротиноидов *Dunaliella salina* при ее двухстадийном культивировании в Севастопольском регионе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работы выполняли на базе отдела Биотехнологий и фиторесурсов ФГБУН ИМБИ, г. Севастополь. Культуру микроводоросли *D. salina* (штамм IMBR-2 из ЦКП «Коллекция гидробионтов Мирового океана» ФГБУН ИМБИ) выращивали на модифицированной питательной среде по [14]. Модификация заключалась в добавлении морской соли (производитель ПК «Галит», Крым) до концентрации 120 г/дм³. На первом этапе культуру *D. salina* выращивали в лабораторных культиваторах плоскопараллельного типа, при освещённости 60, 100, 150, 200 и 250 Вт/м². На втором этапе культуру дуналиеллы переносили в культиваторы, находящиеся в тепличном модуле ФГБУН ИМБИ и разбавляли в 10 раз свежей средой (без солей – источников азота и фосфора). Культиваторами служили квадратные бассейны (1×1 м), выстеленные полиэтиленовой пленкой, уложенные на выровненную поверхность грунта. Высота слоя раствора составляла 10 см, объём культуры – 100 л. Дуналиеллу выращивали при естественном освещении и непрерывном перемешивании с помощью аквариумной помпы «Atman». В процессе выращивания на всех этапах поддерживали оптимальную pH среды (7-8).

Содержание сухого вещества в культуре (СВ) определяли фотометрическим методом [15]. Количественное определение содержания пигментов проводили спектрофотометрическим методом [15]. Хлорофиллы и каротиноиды экстрагировали из клеток 100% ацетоном. Спектры экстрактов пигментов регистрировали на спектрофотометре СФ-2000 в диапазоне длин волн 400-800 нм с шагом 0,1 нм. Расчет концентраций пигментов проводили по формулам, предложенным Wellburn [16], по значениям оптической плотности на длинах волн, соответствующих максимумам поглощения соответствующих пигментов. Рассчитывали средние арифметические ($\bar{X}$), стандартные отклонения (S), основные ошибки средних, доверительные интервалы для средних ($\pm \Delta \bar{X}$). Все расчёты проводили для уровня значимости $\alpha=0,05$; в таблицах и на графиках представлены средние значения.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Начальная плотность культуры *D. salina* для всех вариантов эксперимента составляла 0.3-0.4 г СВ/л. Поскольку целью первого этапа было определение условий для



накопления биомассы культурой *D. salina*, то учитывали её ростовые характеристики до стадии замедления роста. За первые 7 суток выращивания прирост биомассы для варианта с самой низкой поверхностной освещённостью составил 0.8 г СВ/л, а для всех остальных вариантов – в 2 раза выше (1.6-1.8 г СВ/л). (рис. 1).

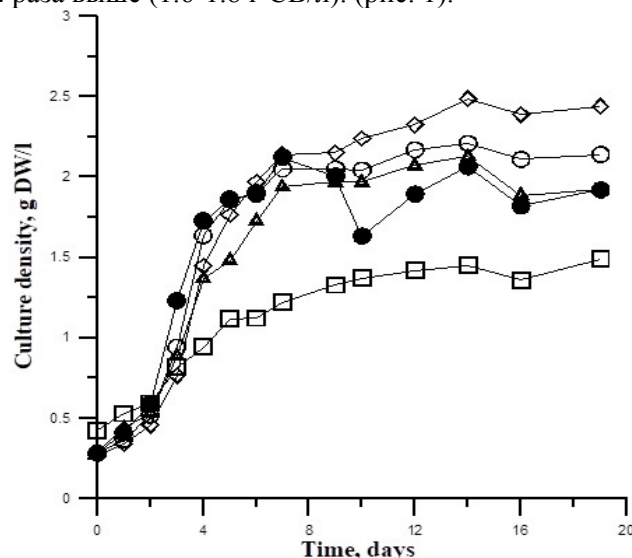


Рис.1. Плотность накопительной культуры *D. salina* при различной поверхностной освещённости: ● – 250 Вт/м², ○ – 200 Вт/м², ◇ – 150 Вт/м², △ – 100 Вт/м², □ – 60 Вт/м²

Fig.1. Density of *D. salina* enrichment culture at different levels of surface irradiance: ● – 250 Watt/m², ○ – 200 Watt/m², ◇ – 150 Watt/m², △ – 100 Watt/m², □ – 60 Watt/m²

Это подтвердили и полученные расчётные данные: средняя продуктивность культуры за этот период для вариантов с освещённостью 100-250 Вт/м² имела близкие значения (0.23-0.27 г СВ/(л·сут)), а при освещённости 60 Вт/м² – более чем в 2 раза ниже (табл. 1).

Таблица 1

Продуктивность накопительной культуры *D. salina* при различном уровне поверхностной освещённости

Table 1

Productivity of *D. salina* enrichment culture at different levels of surface irradiance

Поверхностная освещённость, Вт/м² Surface irradiance, Watt/m²	Продуктивность, г СВ/(л·сут) Productivity, g DW/(l·day)	
	Максимальная Maximum	Средняя за 7 суток 7-day average
250	0.57	0.26±0.02
200	0.56	0.25±0.01
150	0.49	0.27±0.01
100	0.42	0.23±0.02
60	0.18	0.12±0.01

Изменение максимальной продуктивности культуры дуналиеллы носило другой характер: её значения увеличивались в 3.2 раза с ростом поверхностной освещённости от 60 до 250 Вт/м², причём наибольший рост максимальной продуктивности (в 2.3 раза) отмечен при повышении освещённости от 60 до 100 Вт/м². Таким образом, при увеличении поверхностной освещённости от 60 до 100 Вт/м² максимальная и средняя продуктивность культуры резко увеличивалась в 2 раза. При самом низком уровне освещённости различия между этими значениями минимальны. По-видимому, рост культуры в этих условиях



определялся ограничивающим действием светового фактора. Дальнейшее увеличение освещённости от 100 до 250 Вт/м² вызывало увеличение максимальной продуктивности в 1.3 раза, но не оказывало значительного влияния на среднюю скорость роста *D. salina*. Стабилизация роста культуры происходила при плотности 0.23-0.27 г СВ/(л·сут), что в 2 раза ниже максимально возможных значений для этого диапазона освещённости (табл. 1).

На 12-е сутки содержание хлорофилла *a* (Хл *a*) в культуре увеличилось для всех вариантов эксперимента, причём, максимальный рост (в 5 раз) по сравнению с первоначальными значениями отмечен для варианта с освещённостью 60 Вт/м² (рис. 2 А).

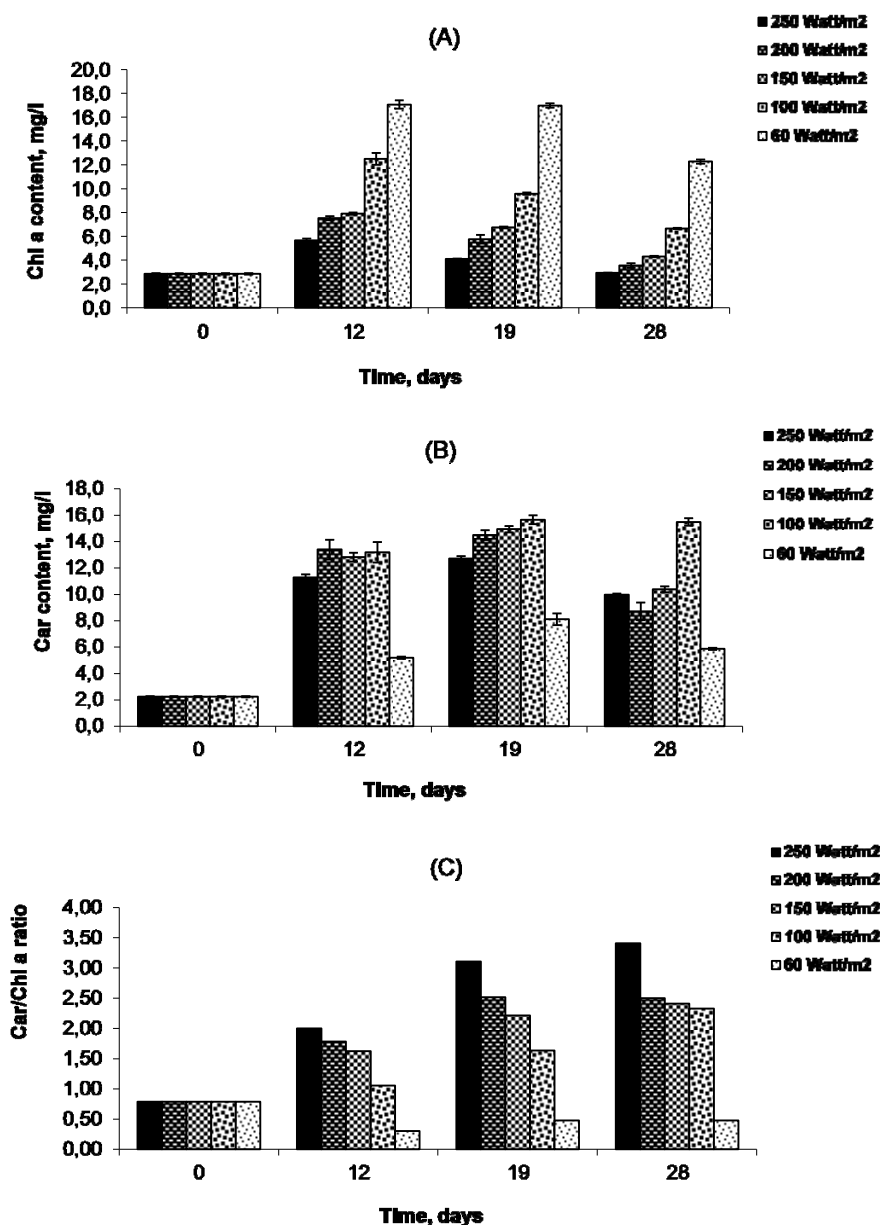


Рис.2. Содержание хлорофилла *a* (А), суммарных каротиноидов (В) и соотношение Кар/Хл *a* (С) в накопительной культуре *D. salina* при различной поверхностной освещённости

Fig.2. Chlorophyll *a* content (A), carotenoid content (B) and Car/Chl *a* ratio (C) in *D. salina* enrichment culture at different levels of surface irradiance



На этом этапе эксперимента прослеживалась зависимость содержания Хл *a* в культуре от поверхностной освещённости: с увеличением последней – содержание пигмента резко снижалось. Чёткой зависимости содержания каротиноидов (Кар) от освещённости выявить не удалось (рис. 2 А, В).

В процессе эксперимента изменялось не только содержание пигментов в культуре *D. salina*, но и их соотношение (рис. 2 С). Так, к 12-м суткам эксперимента соотношение Кар/Хл *a* увеличилось для вариантов с освещённостью 100-250 Вт/м², а для варианта с минимальной освещённостью отмечено его снижение в 1.6 раза. Наибольший рост соотношения Кар/Хл *a* за период эксперимента отмечен для варианта с максимальной поверхностной освещённостью (в 4.3 раза).

На протяжении всего эксперимента соотношение Кар/Хл *a* в культуре *D. salina* определялось величиной поверхностной освещённости: с её ростом от 60 до 250 Вт/м² значение этого показателя увеличивалось. Так на 19-е сутки при изменении освещённости от минимальной до максимальной в эксперименте соотношение Кар/Хл *a* увеличивалось в 6 раз (от 0.5 до 3.1) (рис. 2 С).

Состав питательной среды, которую использовали при выращивании *D. salina* в эксперименте [14] позволяет получить суммарный прирост биомассы около 1.5 г СВ/л, что и наблюдалось для всех вариантов эксперимента с освещённостью свыше 60 Вт/м². Иными словами, с увеличением освещённости наблюдалась смена фактора, ограничивающего скорость роста культуры *D. salina*. Вместо светового им становилось минеральное обеспечение. Поэтому выращивание *D. salina* при освещённости свыше 100-150 Вт/м² с использованием питательной среды по [14] нецелесообразно, так как дальнейшее увеличение энергетических затрат не оказывает значительного влияния на наблюдаемую скорость роста культуры. Несмотря на то, что применяемая питательная среда не позволяет получить плотную культуру, её состав позволяет изменить соотношение пигментов к завершающей стадии выращивания – увеличить соотношение Кар/Хл *a* [10]. Таким образом, если считать, что оптимизация режима получения высокопродуктивных культур микроводорослей достигается, в первую очередь, за счет повышения эффективности использования культурой биогенных элементов и световой энергии, то наиболее оптимальным в условиях эксперимента являлось выращивание культуры *D. salina* при освещённости 100-150 Вт/м². Именно в этих световых условиях накопление биомассы культурой происходило с максимальной скоростью при минимальных энергетических затратах, а повышение соотношения пигментов Кар/Хл *a* от 0.8 до 1.1-1.6 (с 1 по 12 день культивирования) свидетельствовало о начавшейся перестройке пигментного аппарата *D. salina* под воздействием светового фактора.

Ведущим фактором индукции каротиногенеза у *D. salina* признан световой [1; 6; 7; 10-12], поэтому эксперимент на базе пилотного модуля был проведён в июле-августе, когда уровень естественной солнечной освещённости в Крымском регионе максимально высокий [6]. На этом этапе в экстремальных световых и температурных условиях доля каротиноидов в клетках *D. salina* увеличивалась очень быстро. Уже через 4 суток цвет культуры изменился от зелёного до оливково-бурого, а через 10 – до жёлто-оранжевого. Изменения пигментного состава *D. salina* были подтверждены результатами химического анализа культуры: значение соотношения пигментов Кар/Хл *a* за 17 суток увеличилось в 7 раз (табл. 2).

Однако такое быстрое увеличение доли каротиноидов в клетках дуналиеллы сопровождалось гибелью значительной части культуры, её плотность за 17 суток снизилась от 0.6 до 0.08 г СВ/л. Поэтому, несмотря на резкое повышение соотношения Кар/Хл *a*, общее содержание каротиноидов в бассейне уменьшилось в 4 раза. Таким образом, резкое изменение световых и температурных условий до экстремально высоких, одновременно индуцировало быстрое накопление β-каротина в клетках *D. salina*, и провоцировало их гибель. Эти факторы привели к значительным потерям урожая биомассы. Тем не



менее, даже в таких условиях, через 10 суток содержание каротиноидов в бассейнах составляло 200 мг/м² при соотношении Кар/Хл *a* равном 7. Поэтому полученная таким способом биомасса пригодна для использования в качестве источника β-каротина.

Таблица 2

Содержание каротиноидов в культуре *D. salina* и соотношение пигментов на втором этапе выращивания в тепличном модуле

Table 2

Carotenoids content in *D. salina* culture and the ratio of pigments at the second stage of its cultivation in a greenhouse module

Этап Stage	Время, сутки Time, day	Концентрация соли, г/л Salt concentra- tion, g/l	Содержание Кар, мг/м ² Carotenoids content, mg/m ²	Соотношение Кар/Хл <i>a</i> Car/Chl <i>a</i> ratio
Июль-август July-august	0	120	500±25	1.3
	4		300±21	3
	10		200±16	7
	17		120±11	9
Октябрь October	0	120	480±19	1
	7		440±26	2
	10		600±25	3
	20		600±30	4.5

Повторный эксперимент был проведён в октябре, что обусловило более мягкие световые и температурные условия. И в этих условиях увеличились как общее содержание каротиноидов в бассейнах (в 1.3 раза), так и соотношение Кар/Хл *a* (в 4.5 раза). При этом доля погибших клеток была гораздо ниже (плотность культуры за 20 суток уменьшилась от 0.7 до 0.4 г СВ/л), что непосредственно отразилось на содержании каротиноидов в бассейнах, которое на 10-е сутки увеличилось на 25% (до 600 мг/м²). В аналогичных условиях, но без использования тепличного модуля, накопление каротиноидов проходило менее интенсивно, их содержание в культиваторах было в 7 раз ниже [8]. Повидимому, выращивание *D. salina* в теплице позволило гораздо эффективнее сгладить колебания температуры в бассейнах, чем простое укрытие их полиэтиленовой плёнкой, что в итоге обеспечило лучшую выживаемость клеток культуры. Соотношение Кар/Хл *a* в образцах биомассы дуналиеллы в этих двух экспериментах составляло 4.5-5.0. Повидимому, это предельное значение, которое может быть получено для световых условий в осенний период. Следует отметить, что накопление каротиноидов при выращивании *D. salina* в тепличном модуле произошло под действием двух факторов: повышенной естественной освещённости и температуры без дополнительного повышения солёности и продувки углекислоты, что снижает затраты при её промышленном выращивании.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведена экспериментальная работа по подбору условий и оптимизации выращивания культуры *D. salina* по световому и минеральному обеспечению для её перевода от стадии активного роста к накоплению каротиноидов. Впервые получены данные для Севастопольского региона, свидетельствующие о возможности накопления культурой *D. salina* 600 мг каротиноидов на 1 м² (без дополнительного повышения солёности и внесения углекислоты) при её промышленном выращивании на естественном освещении. Проведена апробация двухстадийного выращивания *D. salina* на базе пилотного модуля в Севастопольском регионе. Полученные результаты позволяют рекомендовать данный способ культивирования как основу для разработки технологической схемы промышленного выращивания микроводоросли *D. salina* на юге Российской Федерации.



Благодарность: Исследования выполнены в рамках Госзадания ФГБУН ИМБИ РАН № 0828-2018-0004 и гранта РФФИ №18-44-920009.

Acknowledgment: The studies were conducted under the State Project of IMBR RAS No. 0828-2018-0004 and the grant No. 18-44-920009 from the Russian Foundation for Basic Research.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ben-Amotz A., Polle J.E., Rao D.S. The alga *Dunaliella*: biodiversity, physiology, genomics and biotechnology. Enfield, NH: Science Publishers, 2009. 555 p.
2. García-González M., Moreno J., Cañavate J.P., Anguis V., Prieto A., Manzano C., Florencio F.J., Guerrero M.G. Conditions for open-air outdoor culture of *Dunaliella salina* in southern Spain // Journal of Applied Phycology. 2003. V. 15. Iss. 2-3. P. 177-184. Doi:10.1023/A:1023892520443
3. Del Campo J.A., García-González M., Guerrero M.G. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2007. V. 74. Iss. 6. P. 1163-1174. Doi:10.1007/s00253-007-0844-9
4. Wu Z., Dejtsakdi W., Kermanee P., Ma C., Arirob W., Sathasivam R., Juntawong N. Outdoor cultivation of *Dunaliella salina* KU 11 using brine and saline lake water with raceway ponds in northeastern Thailand // Biotechnol. Appl. Biochem. 2017. V. 64. Iss. 6. P. 938-943. Doi:10.1002/bab.1537
5. Sathasivam R., Ki J.-S. A review of the biological activities of microalgal carotenoids and their potential use in healthcare and cosmetic industries // Mar. Drugs. 2018. V. 16. Iss. 1. P. 26. Doi:10.3390/md16010026
6. Масюк Н.П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Teod. Киев: Наук. думка, 1973. 487 с.
7. Solovchenko A.E., Selivanova E.A., Chekanov K.A., Sidorov R.A., Nemtseva N.V., Lobakova E.S. Induction of secondary carotenogenesis in new halophile microalgae from the genus *Dunaliella* (Chlorophyceae) // Biochemistry (Moscow). 2015. V. 80. Iss. 11. P. 1508-1513. Doi: 10.1134/S0006297915110139
8. Боровков А.Б., Гудвилевич И.Н. Апробация двухстадийного выращивания *Dunaliella salina* Teod. в полупромышленных условиях // Вопросы современной альгологии. 2017. N 1 (13). <http://algology.ru/1155> (дата обращения: 16.11.2018)
9. Абдулагатов И.М., Алхасов А.Б., Догеев Г.Д., Тумалаев Н.Р., Алиев Р.М., Бадавов Г.Б., Алиев А.М., Салихова А.С. Микроводоросли и их технологические применения в энергетике и защите окружающей среды // Юг России: экология, развитие. 2018. Т. 13, N 1. С. 166-183. Doi:10.18470/1992-1098-2018-1-166-183
10. Borovkov A.B., Gudvilovich I.N. Intensive cultivation of *Dunaliella salina* for production of biomass with elevated β -carotene content. Communication 2. Optimization of Cultivation Regime // Hydrobiological Journal. 2015. V. 51. Iss. 4. P. 31-38. Doi: 10.1615/HydrobJ.v51.i4.40
11. Xu Y., Ibrahim I.M., Harvey P.J. The influence of photoperiod and light intensity on the growth and photosynthesis of *Dunaliella salina* (Chlorophyta) CCAP 19/30 // Plant Physiol. Biochem. 2016. V. 106. P. 305-315. Doi: 10.1016/j.plaphy.2016.05.021
12. Minhas A.K., Hodgson P., Barrow C.J., Adholeya A. A Review on the assessment of stress conditions for simultaneous production of microalgal lipids and carotenoids // Frontiers in Microbiology. 2016. V. 7. Art. 546. P. 1-19. Doi: 10.3389/fmicb.2016.00546
13. Lamers P.P., Janssen M., De Vos R.C., Bino R.J., Wijffels R.H. Carotenoid and fatty acid metabolism in nitrogen-starved *Dunaliella salina*, a unicellular green microalga // J. Biotechnol. 2012. V. 162. Iss. 1. P. 21-27. Doi:10.1016/j.jbiotec.2012.04.018



14. Shaish A., Avron M., Ben-Amotz A. Effect of inhibitors on the formation of stereoisomers in the biosynthesis of β -carotene in *Dunaliella bardawil* // Plant. Cell. Physiol. 1990. V. 31. Iss. 5. P. 689-696. Doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a077964
15. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. Киев: Наук. думка, 1975. 247 с.
16. 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. 1994. V. 144. Iss. 3. P. 307-313. Doi:10.1016/S0176-1617(11)81192-2

REFERENCES

1. Ben-Amotz A., Polle J.E., Rao D.S. The alga *Dunaliella*: biodiversity, physiology, genomics and biotechnology. Enfield, NH, Science Publishers, 2009, 555 p.
2. García-González M., Moreno J., Cañavate J.P., Anguis V., Prieto A., Manzano C., Florencio F.J., Guerrero M.G. Conditions for open-air outdoor culture of *Dunaliella salina* in southern Spain. *Journal of Applied Phycology*, 2003, vol. 15, iss. 2-3, pp. 177-184. Doi:10.1023/A:1023892520443
3. Del Campo J.A., García-González M., Guerrero M.G. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2007, vol. 74, iss. 6, pp. 1163-1174. Doi: 10.1007/s00253-007-0844-9
4. Wu Z., Dejtsakdi W., Kermanee P., Ma C., Arirob W., Sathasivam R., Juntawong N. Outdoor cultivation of *Dunaliella salina* KU 11 using brine and saline lake water with raceway ponds in northeastern Thailand. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 2017, vol. 64, iss. 6, pp. 938-943. Doi:10.1002/bab.1537
5. Sathasivam R., Ki J.-S. A review of the biological activities of microalgal carotenoids and their potential use in healthcare and cosmetic industries. *Mar. Drugs.*, 2018, vol. 16, iss. 1, 26 p. Doi:10.3390/md16010026
6. Masyuk N.P. *Морфологиya, sistematika, ekologiya, geograficheskoe rasprostraneniye roda Dunaliella Teod.* [Morphology, taxonomy, ecology, geographical distribution of the genus *Dunaliella* Teod.]. Kiev, Naukova Dumka Publ., 1973, 487 p. (In Russian)
7. Solovchenko A.E., Selivanova E.A., Chekanov K.A., Sidorov R.A., Nemtseva N.V., Lobakova E.S. Induction of secondary carotenogenesis in new halophile microalgae from the genus *Dunaliella* (Chlorophyceae). *Biochemistry (Moscow)*, 2015, vol. 80, iss. 11, pp. 1508-1513. Doi: 10.1134/S0006297915110139
8. Borovkov A.B., Gudvilovich I.N. [The testing of two-stage system of semi-industrial cultivation of *Dunaliella salina* Teod.]. *Voprosyi sovremennoy algologii*, 2017, no. 1 (13). (In Russian) Available at: <http://algology.ru/1155> (accessed 16.11.2018).
9. Abdulagatov I.M., Alkhasov A.B., Dogeev G.D., Tumalaev N.R., Aliev R.M., Badavov G.B., Aliev A.M., Salikhova A.S. Technological application of microalgae in power industry and environmental protection. *South of Russia: ecology, development*, 2018, vol. 13, no. 1, pp. 166-183. (In Russian) Doi:10.18470/1992-1098-2018-1-166-183
10. Borovkov A.B., Gudvilovich I.N. Intensive cultivation of *Dunaliella salina* for production of biomass with elevated β -carotene content. Communication 2. Optimization of Cultivation Regime. *Hydrobiological Journal*, 2015, vol. 51, iss. 4, pp. 31-38. Doi: 10.1615/HydrobJ.v51.i4.40
11. Xu Y., Ibrahim I.M., Harvey P.J. The influence of photoperiod and light intensity on the growth and photosynthesis of *Dunaliella salina* (Chlorophyta) CCAP 19/30. *Plant Physiol. Biochem.*, 2016, vol. 106, pp. 305-315. Doi: 10.1016/j.plaphy.2016.05.021



12. Minhas A.K., Hodgson P., Barrow C.J., Adholeya A. A Review on the assessment of stress conditions for simultaneous production of microalgal lipids and carotenoids. *Frontiers in Microbiology*, 2016, vol. 7, art. 546, pp. 1-19. Doi: 10.3389/fmicb.2016.00546
13. Lamers P.P., Janssen M., De Vos R.C., Bino R.J., Wijffels R.H. Carotenoid and fatty acid metabolism in nitrogen-starved *Dunaliella salina*, a unicellular green microalga. *J. Biotechnol.* 2012, vol. 162, iss. 1, pp. 21-27. Doi:10.1016/j.jbiotec.2012.04.018
14. Shaish A., Avron M., Ben-Amotz A. Effect of inhibitors on the formation of stereoisomers in the biosynthesis of β -carotene in *Dunaliella bardawil*. *Plant. Cell. Physiol.*, 1990, vol. 31, iss. 5, pp. 689-696. Doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a077964
15. *Metodyi fiziologo-biohimicheskogo issledovaniya vodorosley v gidrobiologicheskoy praktike* [Methods of physiological and biochemical studies of algae in hydrobiological practice]. Kiev, Naukova Dumka Publ., 1975, 247 p. (In Russian)
16. 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.*, 1994, vol. 144, iss. 3, pp. 307-313. Doi:10.1016/S0176-1617(11)81192-2

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Ирина Н. Гудвилевич*, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, отдел биотехнологии и фиторесурсов Института Морских Биологических Исследований им. А.О. Ковалевского РАН; пр. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, Россия; тел. +7(8692) 55-07-95, e-mail: gudirina2008@yandex.ru

Андрей Б. Боровков, кандидат биологических наук, руководитель отдела биотехнологии и фиторесурсов Института Морских Биологических Исследований им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь, Россия.

Критерии авторства

Ответственность за содержание и достоверность предоставленных сведений, за плагиат и другие неэтические проблемы несут оба автора. Авторы в равной степени принимали участие в этой работе.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 13.12.2018

Принята в печать 18.03.2019

AUTHOR INFORMATION

Affiliations

Irina N. Gudvilovich*, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Department for Biotechnology and Phytoresources, A. O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research of RAS; 2 Nakhimov ave., Sevastopol, 299011 Russia; tel. +7(8692) 55-07-95, e-mail: gudirina2008@yandex.ru

Andrey B. Borovkov, Cand. Sci. (Biol.), Head of Department for Biotechnology and Phytoresources, A. O. Kovalevsky Institute of Marine Biological Research of RAS, Sevastopol, Russia.

Contribution

Both authors are responsible for the content and accuracy of the information provided, as well as for plagiarism and other unethical problems. Both authors were equally involved in this work.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Received 13.12.2018

Accepted for publication 18.03.2019