

УДК 582.263(285.2)(477.75)

И.Н. Гудвиллович

Dunaliella Salina солёных водоёмов западной части Крыма

Институт биологии южных морей

Аннотация. Показана зависимость распространения микроводоросли *Dunaliella salina* от плотности озерной рапы и отсутствие зависимости распространения от содержания азота и фосфора. Сделана количественная оценка содержания каротиноидов солесадочных бассейнов.

Ключевые слова: *Dunaliella salina*, солёные водоёмы, каротиноиды

Загадочное явление красного «цветения» рапы солёных водоёмов было известно задолго до 1905 г., когда первый представитель рода *Dunaliella* – *Dunaliella salina* был описан Теодореску [1]. К настоящему моменту род *Dunaliella* широко известен благодаря галобным, и прежде всего, гипергалобным видам, развивающимся в солёных водоёмах всего мира в массовых количествах.

В Крыму насчитывается около 50 естественных солёных озёр. Многие из этих водоёмов представляют интерес для добывающей промышленности и целей бальнеологии. Кроме того, большие площади в западной и северной части Крымского полуострова занимают солепромыслы, в солесадочных бассейнах которых часто наблюдается красное «цветение» рапы.

Исследования солёных водоёмов Крыма с целью изучения биологии и экологии *D. salina* неразрывно связаны с именем Н. П. Масюк. В 60-70 г.г. были проведены комплексные исследования группой сотрудников Института ботаники и биохимии АН УССР с целью выявления возможностей практического использования природных запасов *Dunaliella salina* как источника для промышленного получения β-каротина [2, 3].

Было установлено, что данная микроводоросль широко распространена в причерноморских солёных водоёмах морского происхождения, в естественных и искусственных солесадочных бассейнах, в рапных озёрах и лиманах. Максимальная продукция биомассы приходится на тёплый период года, вызывая красное «цветение» рапы [2].

Так, по данным экспедиционного обследования солёных водоёмов Крыма в июле – августе 1960 г., сырая биомасса каротиноносных водорослей оценивалась около 40 т, а общие запасы каротина, рассчитанные на основании химического анализа рапы этих водоёмов – свыше 600 кг [2, 3].

Так как за последние 50 лет данные по распространению *D. salina* в солёных водоёмах практически отсутствуют, в 2008 – 2009 г.г. были проведены экспедиционные исследования, целью которых являлось: оценить особенности распространения микроводоросли *Dunaliella salina* в естественных и искусственных солёных водоёмах западной части Крыма

Материалы и методы. Объектом исследования являлась зелёная микроводоросль *D. salina*.

Были проведены исследования солёных озёр западной части Крыма: Бакальского, Ярылгач, Джарылгач, Панского, Сасык. Кроме того были исследованы такие искусственные водоёмы, как солесадочные бассейны солепромыслов «Сольпром» и «Галит» в районе оз. Сасык.

Пробы рапы отбирались в период массового накопления каротиноидов (июль). Плотность озёрной рапы, кг/м³, измеряли с помощью ареометра, содержание нитрат-ионов и минерального фосфора определяли в соответствии с общепринятыми гидрохимическими методиками [4].

Численность клеток микроводорослей, тыс. кл./см³, определяли в камере Горяева под световым микроскопом при увеличении $\times 600$. Величину биомассы в пробе определяли на нитроцеллюлозных фильтрах № 6, пропуская через них определённый объём рапы с последующей промывкой насыщенным раствором карбоната аммония и высушиванием в сушильном шкафу при 105 °С. Экстракцию пигментов проводили 100 % ацетоном. Спектры экстрактов пигментов промеряли на регистрирующем спектрофотометре СФ-2000 в диапазоне длин волн 400 – 800 нм с шагом 0,1 нм. Расчет концентраций каротиноидов проводили по формулам, предложенным Wettstein [5].

Результаты и обсуждение. Исследованные солёные озёра: Бакальское, Ярылгач, Джарылгач, Панское относятся к Тарханкутской группе, а озеро Сасык – к Евпаторийской группе солёных озёр.

Под общим названием солёные или минерализованные водоемы объединяется группа водоемов, разнообразных по происхождению, минерализации, химическому составу рапы. Все исследованные озера западной части Крымского полуострова морского происхождения, представляют собой мелкие бассейны с глубиной, не превышающей нескольких метров, относятся к солёным сульфатным и хлоридным водоемам.

По степени минерализации озёра Панское и Бакальское относятся к среднесолёным (эвгалинным), а остальные исследованные водоёмы – к пересолённым или гипергалинным. Наименее минерализованным из исследованных является оз. Панское, плотность воды в нём составляет 1015 кг/м³.

Таблица 1
Распространение микроводоросли *Dunaliella salina* в солёных водоёмах западной части Крыма

Параметры	Естественные водоёмы		Искусственные водоёмы (солепромыслы)	
Плотность рапы, кг/м ³	1020 – 1100	1100 – 1200	1200 – 1230	1220 – 1300
Концентрация NO ₃ ⁻ , мг/дм ³	70 – 270	380 – 480	600 – 610	640 – 750
Концентрация фосфора, мг/дм ³	0,20 – 1,04	0,30 – 0,50	0,40 – 0,43	0,15 – 1,12
Микроводоросли	Диатомовые, эвгленовые, цианобактерии, <i>Dunaliella salina</i>	<i>Dunaliella salina</i>	<i>Dunaliella salina</i>	<i>Dunaliella salina</i>
Численность <i>Dunaliella salina</i> , тыс. кл/см ³	0 – 40	20 – 40	120 – 180	470 – 970
Содержание каротиноидов в рапе, мг/дм ³	Не определялось	Не определялось	2,5	3,4 – 75

Самым большим солёным озером в Крыму является оз. Сасык, площадь его зеркала составляет 75,3 км². Озеро Сасык разделено дамбой на северную и южную части. В южной части озера зарегистрирована самая высокая минерализация воды для исследованных естественных водоёмов – 1155 кг/м³. Северная часть опресняется поступлением пресных подземных вод, солёность воды в этой части составляет 1060 кг/м³.

На основании проведённых анализов, солёные озёра были разделены на две группы. В первую группу с меньшей минерализацией (до $\rho=1100$ кг/м³) вошли озёра Панское, Джарылгач, Ярылгач и Бакальское (табл. 1). Для этих водоёмов характерна относительно невысокая численность клеток *Dunaliella salina*, что, вероятно, объясняется её низкой конкурентоспособностью в условиях водоемов с пониженной солёностью, так как для данных водоёмов характерна высокая численность диатомовых, эвгленовых микроводорослей и цианобактерий.

Для оз. Сасык, относящегося ко второй группе с плотностью 1155 кг/м³, характерно массовое развитие ракообразных (*Artemia salina*), для которых микроводоросль *D. salina*

является основным кормовым объектом. По этой причине численность *D. salina* достаточно низкая (20 тыс кл/см³); представители других групп микроводорослей не обнаружены (табл. 1).

Следует отметить, что в озёрах с меньшей солёностью преобладала зелёная «форма» данной микроводоросли, а в озере Сасык – клетки с оранжевой окраской (рис. 1), т. е. накопление каротиноидов в клетках *D. salina* начинается при плотности рапы свыше 1150 кг/м³.

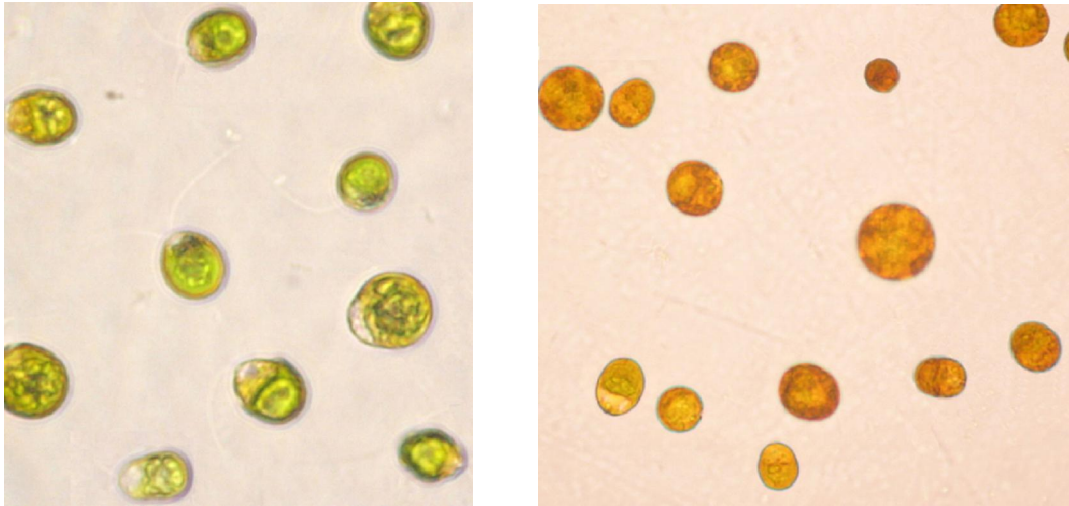


Рис. 1. Внешний вид клеток *D. salina* солёных озёр с низкой минерализацией и оз. Сасык

Массовое развитие *D. salina* наблюдается в бассейнах искусственного происхождения (солепромыслы), в которых данная микроводоросль развивается в монокультуре ввиду неконкурентоспособности макрофитов, морских трав и других микроводорослей. В данных водоёмах наблюдалось красное «цветение» в условиях начавшегося осаждения хлористого натрия при плотности рапы 1200 – 1300 кг/м³ (табл. 1).

Максимальная численность клеток (970 тыс. кл/см³) и соответственно биомасса микроводоросли *D. salina* зарегистрирована в солесадочных бассейнах солепромысла «Галит», при максимальных значениях плотности рапы (1250 – 1300 г/м³) (рис. 2).

Таким образом, практически во всех исследованных солёных водоёмах несмотря на отличающиеся условия встречается зелёная микроводоросль *D. salina*, характерной особенностью которой является способность к перестройке пигментного аппарата с преимущественным накоплением каротиноидов, выполняющих защитные функции в экстремальных условиях существования.

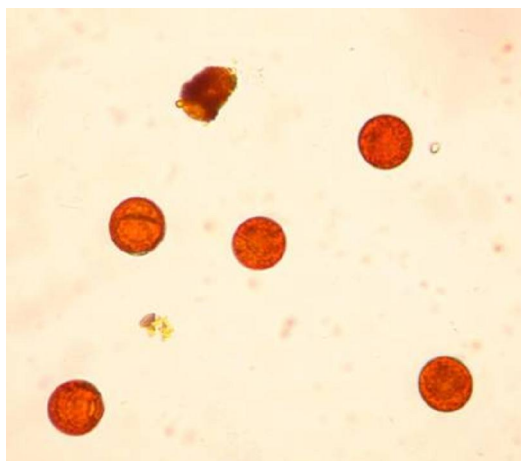


Рис. 2. Внешний вид цист *D. salina* солесадочных бассейнов солепромыслов

Ценозообразующий элемент экосистем озёр искусственного происхождения, каковым является *D. salina* по причине неконкурентоспособности макрофитов, морских трав и других микроводорослей в условиях плотности рапы свыше 1150 г/м^3 , является также ценным биотехнологическим объектом способным накапливать в клетках огромное количество каротина. Установлено, что накопление каротиноидов в клетках *D. salina*, обитающих в искусственных озерах солепромыслов, соответствовало 10 % в пересчете на абсолютно сухую массу или 75 мг/дм^3 в пересчете на объём озёрной рапы.

На примере одного солесадочного бассейна площадью 1 га произведён расчёт запасов данного водоёма по каротиноидам. Исходя из рассчитанного содержания каротиноидов в пробах, площади и глубины бассейна, общий запас каротиноидов в бассейне составляет приблизительно 80 кг.

Высокое содержание β -каротина в клетках *D. salina*, массовые вегетации последней в солёных водоёмах, вызывающие красное «цветение», лёгкость извлечения пигментов из клеток объекта, лишенных плотных оболочек – всё это позволило ставить вопрос о возможности практического использования естественных запасов этой водоросли [2].

На протяжении последних 50 лет наиболее экономически выгодным способом промышленного культивирования микроводоросли *Dunaliella salina* признан способ с использованием солёных вод из естественных водоёмов. Таким образом *D. salina* как источник β -каротина культивируют в индустриальных масштабах в Австралии, США, Японии, Израиле, Тайване, Китае, Индонезии [6, 7].

Н. П. Масюк ещё в 60-х годах 20 в. предложен двухэтапный метод искусственного культивирования *D. salina* на естественной рапе, предусматривающий на первом этапе создание условий, способствующих накоплению биомассы микроводоросли, а на втором – стимулирующих накопление β -каротина в клетках [8, 9].

В принципе возможны два способа получения биомассы *D. salina*: экстенсивный и интенсивный.

Экстенсивный способ предполагает накопление каротиноидов в клетках микроводоросли при естественном повышении солёности в летний период, отбор биомассы *D. salina* не более одного раза в год и последующее восстановление популяции при закачке свежей морской воды в зимний период. При этом возможно промышленное получение биомассы *D. salina* на базе солесадочных бассейнов солепромыслов, так как данный метод предполагает рост численности клеток *D. salina* только за счёт содержащихся в морской воде биогенов и микроэлементов. Данный способ не требует значительных материальных затрат для выращивания биомассы *D. salina*, однако, не может гарантировать стабильных урожаев ввиду сильной зависимости от погодных условий. Кроме того, при данном способе не исключается промышленная добыча морской соли на солепромыслах, в том числе и обогащённой β -каротином.

Переход к интенсивному культивированию микроводоросли *D. salina* сопровождается внесением значительных количеств минеральных удобрений, что может негативно сказаться на структуре естественных сообществ микроводорослей, а также к ограниченному использованию добываемой морской соли за счёт накопления в ней нитратов и фосфатов.

Поэтому для интенсивного культивирования желателно организовывать специальные тепличные хозяйства, в которых культивирование *D. salina* осуществляется в бетонированных или плёночных бассейнах для исключения контакта высококонцентрированных сред, применяемых при интенсивном культивировании с почвой. В качестве основы для приготовления питательной среды возможно использовать рапу из солесадочных бассейнов [8, 9].

Гипергалинные озёра Крыма, являющиеся уникальными природными объектами, не рекомендуется использовать для промышленной добычи *Dunaliella salina*, так как исследования по возможности восстановления популяции данной микроводоросли в солёных озёрах после промышленного отбора не проводились и переход к их интенсивному использованию может нанести непоправимый ущерб уникальным естественным сообществам микроводорослей.

Выводы

В исследованном районе микроводоросль *D. salina* обнаружена в естественных солёных озёрах: Панское, Ярылгач, Сасык, а также в искусственных солесадочных бассейнах солепромыслов в районе оз. Сасык.

Максимальная численность клеток микроводоросли *D. salina* зарегистрирована в солесадочных бассейнах солепромыслов, при плотности рапы 1200 – 1300 кг/м³.

Максимальное относительное содержание каротиноидов в клетках *D. salina* составило 10 % в пересчете на абсолютно сухую массу, а максимальная концентрация в рапе составила 75 мг/дм³.

Общий запас каротиноидов в солесадочном бассейне площадью 1 га в период их максимального накопления в клетках *D. salina* составляет приблизительно 80 кг

Гипергалинные озёра Крыма, являющиеся уникальными природными объектами, не рекомендуется использовать для промышленной добычи *Dunaliella salina*.

Литература:

1. Teodoresco E. C. *Organization et développement du Dunaliella, nouveau genre de Volvocacée – Polyblépharidee* // *Beih. Bot. Centralbl.* 1905. Vol. 18. P. 215-232.
2. Масюк Н. П. Каротиноносна водорість *Dunaliella salina* Теод у солоних водоймах Кримської області / Н. П. Масюк // *Укр. ботан. журн.* – 1961. – Т. 18, № 4. – С. 100–107.
3. Масюк Н. П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Теод. / Н. П. Масюк. – К. : Наук. думка, 1973. – 487 с.
4. Методы гидрохимических исследований основных биогенных элементов. – М. : ВНИРО, 1988. – 119 с.
5. Wettstein, D. *Experimental Cell Research* / D. Wettstein. – 1957. – Vol. 12, № 3. – 427 p.
6. Borowitzka M. *Microalgae for aquaculture: opportunities and constraints* / M. Borowitzka // *J. Applied Phycology.* – 1997. – Vol.9, № 5. – P. 393-401.
7. Ben-Amotz A. *The biotechnology of cultivating the halotolerant alga Dunaliella salina* / A. Ben-Amotz, M. Avron // *Trends in Biotechnology.* – 1990. – Vol. 8, № 1. – P. 121-126.
8. Масюк Н. П. Оцінка придатності ропи сакських водоймів для вирощування каротиноносних водоростей / Н. П. Масюк // *Укр. Бот. Журнал.* – 1967. – Т. 24, № 4. – С. 37–43.
9. Масюк Н. П. Перший досвід вирощування каротиноносних водоростей в напівпромислових умовах / Н. П. Масюк, Є. Г. Абдула // *Укр. ботан. журн.* – 1969. – Т. 26, № 3. – С. 21–27.

Показано залежність розповсюдження микроводорості *Dunaliella salina* від щільності озерної ропи та відсутність залежності розповсюдження від вмісту азоту і фосфору. Зроблено кількісну оцінку вмісту каротиноїдів солесадних басейнів.

Ключові слова: *Dunaliella salina*, солоні водойми, каротиноїди

Dependence of distribution of microalgae Dunaliella salina from density lake brine and absence of dependence of distribution from the nitrogen and phosphorus maintenance is shown. The quantitative estimation of the maintenance carotenoids salty reservoirs is made.

Keywords: *Dunaliella salina*, salt reservoirs, carotenoids

Поступила в редакцію 21.09.2010 г.