

УДК 639.64:582.276

**РОСТ КРИПТОФИТОВОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ
RHODOMONAS SALINA (WISLOUCH) D. R. A. HILL & R. WETHERBEE, 1989
ПРИ РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ**

© 2022 г. Л. В. Ладыгина

ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: lvladygina@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.06.2020; после доработки 04.12.2020;
принята к публикации 03.03.2022; опубликована онлайн 07.06.2022.

Исследовано влияние температуры и освещённости на удельную скорость роста и на накопление биомассы криптофитовой микроводоросли *Rhodomonas salina*; определены оптимальные условия её культивирования для получения максимальной биомассы. *R. salina* культивировали на питательной среде Конвея (в собственной модификации) при температуре (20 ± 1), (24 ± 1) и (28 ± 1) °C и освещённости 13, 67, 135 и 202 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. Показано, что увеличение температуры до значений выше оптимальных приводит к снижению скорости роста и биомассы микроводоросли. Существенных различий в показателях роста *R. salina* при освещённости 135 и 202 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ (значения μ — $(0,69 \pm 0,04)$ и $(0,64 \pm 0,02)$ сут^{-1} соответственно) не зарегистрировано. Рост микроводоросли замедлялся при низкой освещённости (13 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$) (значение μ — $(0,33 \pm 0,03)$ сут^{-1}). Максимальная биомасса [$(3,74 \pm 0,28)$ $\text{г}\cdot\text{л}^{-1}$] получена при оптимальной температуре [(24 ± 1) °C] и освещённости 135 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. При оптимальных условиях культивирования максимальное накопление белка отмечено в экспоненциальной фазе роста (29 %), а липидов — в стационарной фазе (41 %).

Ключевые слова: микроводоросль *Rhodomonas salina*, культивирование, температура, освещённость, скорость роста, биомасса

Криптофитовую водоросль *Rhodomonas salina* (Wislouch) D. R. A. Hill & R. Wetherbee, 1989 широко используют в аквакультуре и в пищевой и косметической промышленности. Она является основным кормом при выращивании личинок и молоди промысловых моллюсков — устриц, гребешков, мидий — и обладает высокой питательной ценностью (Холодов и др., 2017 ; Zhang et al., 2013). Микроводоросль обеспечивает зоопланктон витаминами, жирными кислотами и пигментами, которые передаются через цепи питания (Vu et al., 2016). Личинки и молодь двустворчатых моллюсков, выращиваемые в питомнике, наиболее уязвимы в период метаморфоза (именно в это время их смертность может быть максимальной). Включение микроводоросли *R. salina* в рацион моллюсков способствует значительному увеличению темпа роста личинок и спата за счёт накопления ими достаточного количества общих липидов (Tremblay et al., 2007 ; Videla et al., 1998 ; Whyte et al., 1989).

Более того, микроводоросль *R. salina* — перспективный объект для производства фикоэритрина, который можно использовать в качестве натурального красителя для пищевых продуктов и косметических средств (Chaloub et al., 2015).

При культивировании *R. salina* свет и температура являются основными факторами, влияющими на скорость роста этой микроводоросли (Ладыгина, 2010), накопление биомассы и биохимический состав (содержание белка, углеводов, липидов и фикоэритрина). Известно, что с повышением температуры с +20 до +32 °С максимальная скорость роста *R. salina* снижается, а с увеличением интенсивности света с 15 до 150 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ она возрастает (Chaloub et al., 2015). Оптимальный диапазон освещённости для фотосинтеза и роста водоросли — 60–100 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ (Vu et al., 2016). Освещённость 200 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, а также высокие концентрации нитратов (3,529 мМ) и фосфатов (0,144 мМ), независимо от температуры, способствовали увеличению скорости роста *R. salina*. Кроме того, высокие концентрации нитратов и фосфатов, независимо от освещённости и температуры, благоприятствовали максимальному накоплению белка в клетках водоросли (Guevara et al., 2016 ; Silva et al., 2009). Анализ результатов ряда исследований показывает, что накопление биомассы и биохимический состав *R. salina* чувствительны к изменению условий культивирования.

Цель работы — определить оптимальные условия культивирования микроводоросли *R. salina* для использования её как кормового объекта в аквакультуре.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследуемая микроводоросль — *Rhodomonas salina*, штамм ССАР 978127, полученный в 2011 г. из коллекции океанографического института IFREMER (Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer) (Франция).

Эксперименты по влиянию условий культивирования на продукционные параметры микроводоросли проводили в два этапа:

1. Определение оптимальной температуры. *R. salina* выращивали в накопительном режиме на питательной среде Конвея в собственной модификации (Холодов и др., 2017) при температуре (20 ± 1) , (24 ± 1) и (28 ± 1) °С, круглосуточном освещении лампами Philips TL-D 36W/965 и непрерывном барботировании воздухом с помощью микрокомпрессора. Микроводоросль культивировали в 2-литровых колбах, освещённость которых была одинаковой — 67 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$.
2. Определение оптимальной освещённости. Микроводоросль культивировали при оптимальной температуре (24 ± 1) °С (значение было установлено на первом этапе эксперимента), круглосуточной освещённости поверхности колб 13, 67, 135 и 202 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ и непрерывном барботировании воздухом.

Эксперименты проводили в трёх повторностях. Концентрацию клеток водоросли подсчитывали ежедневно в камере Горяева на четырёх полях зрения под микроскопом МБИ-6. Скорость роста микроводоросли определяли по формуле (Vonshak, 1986):

$$\mu = \frac{\ln N_1 - \ln N_0}{T_1 - T_0},$$

где N_0 — концентрация клеток водоросли в начале культивирования;

N_1 — концентрация клеток водоросли в конце выбранного интервала культивирования;

$T_1 - T_0$ — интервал культивирования (сут).

Биохимический анализ водоросли (белки, углеводы, липиды) проводили в каждой фазе её роста при температуре (24 ± 1) °С и освещённости 135 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. Для получения сухой биомассы *R. salina* определённый объём культуры с известной концентрацией клеток центрифугировали в течение 3 минут на центрифуге ОПН-3 при 3000 об·мин⁻¹, после чего дважды промывали изотоническим раствором NaCl (9 г·л⁻¹). Затем сырую биомассу высушивали до постоянного веса при +105 °С в течение 24 ч. Массовую долю суммарного белка, липидов

и углеводов в сухом веществе (%) определяли фотоколориметрическими методами. Содержание общего белка анализировали по Лоури (Lowry et al., 1951), липидов — при помощи фосфорнованилинового реактива, углеводов — по цветной реакции с L-триптофановым реактивом (Методы гидрохимических исследований, 1988). Статистическую обработку данных выполняли с помощью стандартных программных пакетов Microsoft Excel. Все расчёты проводили для уровня значимости $\alpha = 0,05$. В тексте и на графиках представлены средние значения и указаны границы доверительного интервала (Лакин, 1990).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клетки водоросли *R. salina* — подвижные, с двумя жгутиками и одним хлоропластом. Средний размер клеток: ширина — $(7 \pm 0,35)$ мкм; длина — $(12 \pm 0,58)$ мкм; объём — $(527 \pm 0,43)$ мкм³ (рис. 1).

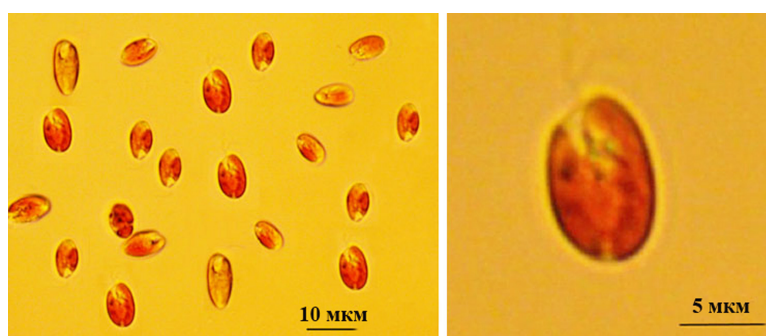


Рис. 1. Микроводоросль *Rhodomonas salina*

Fig. 1. Microalga *Rhodomonas salina*

Оптимальное значение температуры, влияющее на скорость роста, усвоение питательных веществ и химический состав клеток, видоспецифично. При культивировании микроводоросли *R. salina* в разных температурных режимах наибольшая скорость деления клеток отмечена при (24 ± 1) °С; при (28 ± 1) °С она резко снижалась. Максимальная плотность культуры ($5,43 \times 10^6$ кл.·мл⁻¹) получена при (24 ± 1) °С на 9-й день культивирования (рис. 2). При (20 ± 1) и (28 ± 1) °С максимальные концентрации клеток были значительно ниже — $3,28 \times 10^6$ и $3,72 \times 10^6$ кл.·мл⁻¹ соответственно. Период экспоненциального роста *R. salina* при (20 ± 1) °С составлял 8 сут, при (24 ± 1) °С — 6 сут, при (28 ± 1) °С — 4 сут. Период культивирования водоросли был наиболее продолжительным при низкой температуре, когда стационарная фаза наступала на 11–12-е сутки. Культуры, содержащиеся при (28 ± 1) °С, достигли стационарной фазы на 7-е сутки, при (24 ± 1) °С — на 9-е сутки. Линейный рост *R. salina* при таких условиях культивирования регистрировали в течение 4–7 дней; далее фиксировали снижение концентрации клеток и выход культуры в стационарную фазу (после 7–11 дней выращивания). Была получена линейная зависимость концентрации клеток от температуры, при этом коэффициент R^2 при (20 ± 1) ; (24 ± 1) и (28 ± 1) °С составил 0,85; 0,94 и 0,77 соответственно.

Максимальный среднесуточный прирост — $0,79 \times 10^6$ кл.·мл⁻¹·сут⁻¹ — отмечен при температуре (24 ± 1) °С. Прирост был значительно ниже при (20 ± 1) и (28 ± 1) °С — $0,27 \times 10^6$ и $0,39 \times 10^6$ кл.·мл⁻¹·сут⁻¹ соответственно. При (24 ± 1) °С скорость роста была более чем вдвое выше, чем при (28 ± 1) °С (табл. 1). Полученные результаты сопоставимы с данными других исследователей (Brown et al., 1997), которые установили: повышение температуры с +26 до +32 °С при культивировании *R. salina* на питательной среде F/2 приводит к снижению максимальной скорости роста.

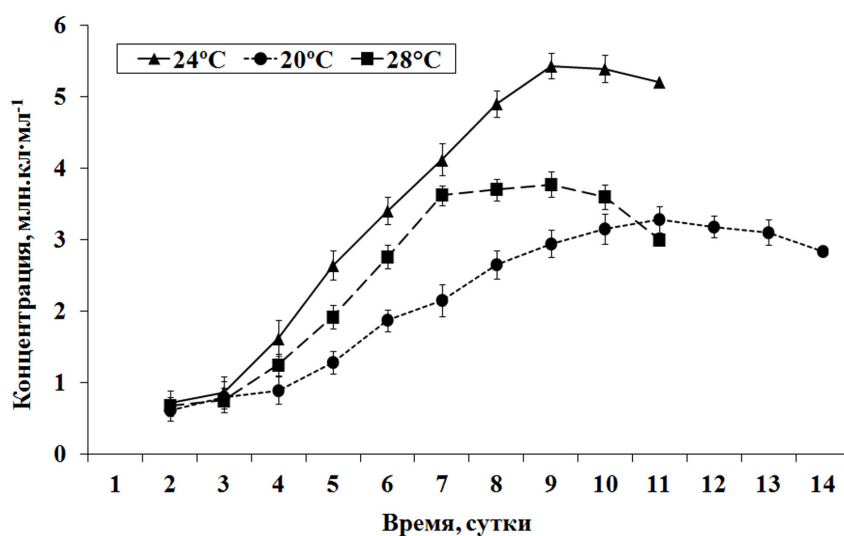


Рис. 2. Динамика роста микроводоросли *Rhodomonas salina* при разных значениях температуры

Fig. 2. Dynamics of the microalga *Rhodomonas salina* growth at different temperatures

Динамика накопления биомассы микроводоросли *R. salina* при разных температурных режимах выращивания была аналогична изменению плотности клеток в культуре. Максимальная биомасса водоросли — $2,87 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$ — получена при $(24 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$; при (20 ± 1) и $(28 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$ значения отличались незначительно и составляли $1,73$ и $1,99 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$ соответственно (см. табл. 1). Следовательно, температура $(24 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$ является оптимальной для роста микроводоросли *R. salina* в условиях нашего эксперимента.

Таблица 1. Параметры роста микроводоросли *Rhodomonas salina* при разных значениях температуры

Table 1. Indicators of the microalga *Rhodomonas salina* growth at different temperatures

Параметр роста	Температура, $^\circ\text{C}$		
	20 ± 1	24 ± 1	28 ± 1
Среднесуточный прирост, $\times 10^6 \text{ кл}\cdot\text{мл}^{-1}\cdot\text{сут}^{-1}$	$0,27 \pm 0,04$	$0,79 \pm 0,06$	$0,39 \pm 0,05$
Скорость роста, сут^{-1}	$0,19 \pm 0,05$	$0,53 \pm 0,07$	$0,24 \pm 0,03$
Максимальная биомасса (сырая), $\text{г}\cdot\text{л}^{-1}$	$1,73 \pm 0,15$	$2,87 \pm 0,24$	$1,99 \pm 0,11$

На рост *R. salina* значительное влияние оказывала освещённость. Эта зависимость показана на рис. 3. При оптимальной температуре культивирования [$(24 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$] и разной освещённости [13 , 67 , 135 и $202 \text{ }\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$] скорость роста была максимальной [$(0,69 \pm 0,04) \text{ сут}^{-1}$] при $135 \text{ }\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$.

Максимальные значения биомассы водоросли получены на 8-е и 9-е сутки культивирования при освещённости 135 и $202 \text{ }\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ — $3,74$ и $3,52 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$ соответственно (табл. 2).

Существенных различий в показателях роста *R. salina* при освещённости 135 и $202 \text{ }\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ (значения μ — $(0,69 \pm 0,04)$ и $(0,64 \pm 0,02) \text{ сут}^{-1}$ соответственно) не зарегистрировано. Самые низкие показатели роста получены при $13 \text{ }\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ (значение μ — $(0,33 \pm 0,03) \text{ сут}^{-1}$); максимальная биомасса при такой освещённости — $1,41 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$.

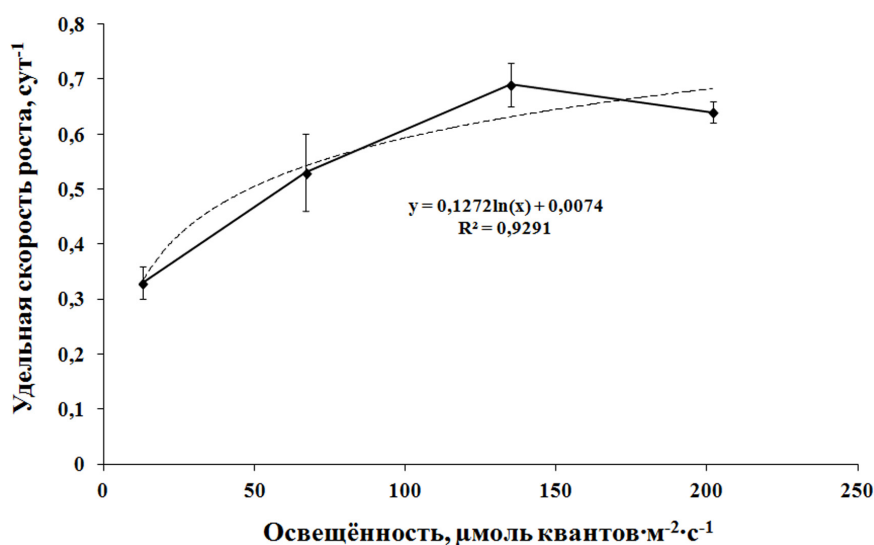


Рис. 3. Динамика удельной скорости роста микроводоросли *Rhodomonas salina* в зависимости от освещённости

Fig. 3. Dynamics of the microalga *Rhodomonas salina* specific growth rate depending on irradiance

При увеличении освещённости поверхности колб с 13 до 67 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ концентрация клеток водоросли и биомасса возросли в 2 раза (см. табл. 2), но были значительно ниже, чем при 135 и 202 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ ($7,10\times 10^6$ и $6,55\times 10^6$ кл. $\cdot\text{мл}^{-1}$ соответственно). Максимальные значения удельной скорости роста и биомассы получены при 135 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. Следовательно, освещённость 135 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ является оптимальной для культивирования *R. salina* в накопительном режиме.

Таблица 2. Параметры роста микроводоросли *Rhodomonas salina* при разной освещённости

Table 2. Indicators of the microalga *Rhodomonas salina* growth at different irradiance

Параметр роста	Освещённость, $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$			
	13	67	135	202
Максимальная концентрация клеток, $\times 10^6$ кл. $\cdot\text{мл}^{-1}$	$2,53 \pm 0,20$	$5,45 \pm 0,38$	$7,10 \pm 0,45$	$6,55 \pm 0,40$
Максимальная биомасса (сырая), г $\cdot\text{л}^{-1}$	$1,41 \pm 0,25$	$2,87 \pm 0,24$	$3,74 \pm 0,28$	$3,52 \pm 0,21$

В процессе роста водоросли изменялась окраска культуральной среды. Так, при температуре (24 ± 1) °C и самой низкой освещённости (13 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$) на 7–8-е сутки (экспоненциальная фаза роста) суспензия в колбах приобретала красную окраску, которая значительно отличалась от таковой при 135 и 202 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ (рис. 4).

По мере накопления биомассы и выхода культуры в стационарную фазу роста зафиксировано появление у суспензии зеленоватого оттенка, что связано, вероятно, с изменением содержания пигментов в клетках водоросли.

Пигменты *R. salina* — фикоэритрин, хлорофилл *a* и *b*, каротиноиды (Chaloub et al., 2015 ; Rowan, 1989). При низких значениях освещённости с 4-х по 8-е сутки культивирования возможно максимальное накопление фикоэритрина в клетках микроводоросли (Bartua et al., 2002). Установлено (Chaloub et al., 2015), что содержание фикоэритрина у водоросли, культивируемой при +20 и +26 °C, было выше примерно в 2–4 и 6–13 раз соответственно при снижении освещённости с 150 до 15 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. Максимальная концентрация фикоэритрина получена

на 8-е сутки выращивания *R. salina* при +26 °С и 15 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$. По данным авторов (Bartua et al., 2002 ; Chaloub et al., 2015), при переходе культуры в стационарную фазу роста концентрация фикоэритрина в клетках микроводоросли уменьшается, а концентрация хлорофилла увеличивается; именно это, возможно, способствовало изменению цвета культуральной среды. Следовательно, биосинтез фикоэритрина в клетках *R. salina* происходит в экспоненциальной фазе роста и при низкой освещённости.



Рис. 4. Накопление фикоэритрина в клетках микроводоросли *Rhodomonas salina* в экспоненциальной фазе роста при освещённости 13 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$

Fig. 4. Phycoerythrin accumulation in the microalga *Rhodomonas salina* cells at the exponential growth phase at irradiance of 13 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

Исследование биохимического состава микроводоросли *R. salina*, культивируемой при температуре +24 °С и освещённости 135 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$, показало, что накопление белка, углеводов и липидов зависит от фазы её роста. Максимальное содержание белка [(42,8 ± 3,34) %] отмечено в экспоненциальной фазе, а липидов [(39,9 ± 4,12) %] — в стационарной. Концентрация углеводов в клетках водоросли значительно ниже, чем белка и липидов; она достигала максимальных значений [(30,0 ± 1,75) %] в конце стационарной фазы роста (рис. 5).

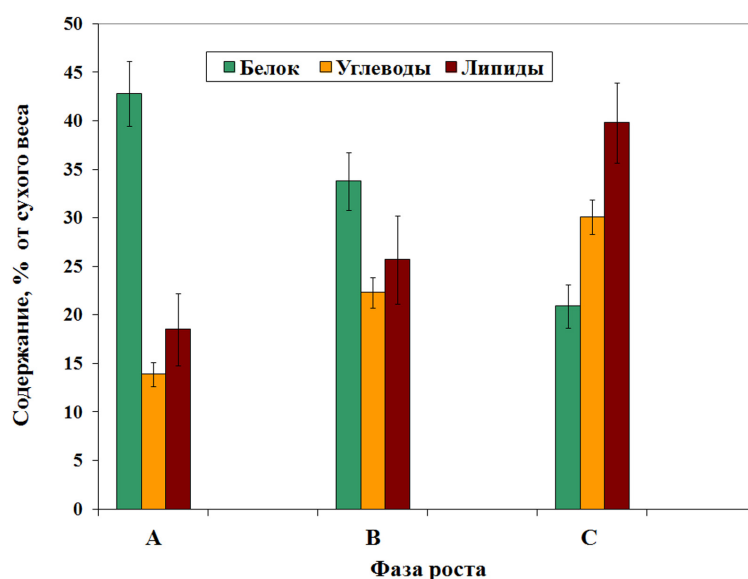


Рис. 5. Биохимический состав микроводоросли *Rhodomonas salina* в разных фазах роста: А — экспоненциальная фаза; В — фаза замедления роста; С — стационарная фаза

Fig. 5. Biochemical composition of the microalga *Rhodomonas salina* at different growth phases: A, exponential; B, growth retardation; and C, stationary

Содержание общих липидов, а также арахидоновой, эйкозапентаеновой и докозагексаеновой кислот зависит от условий культивирования водоросли — температуры, освещённости и доступности питательных веществ (Guevara et al., 2016 ; Vu et al., 2016). Ранее было установлено, что общее содержание жирных кислот у *R. salina* максимально при освещённости 60–100 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ и дефиците питательных веществ. Максимальные концентрации полиненасыщенных жирных кислот отмечены при интенсивности света 10–40 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ и избытке биогенов в питательной среде (Vu et al., 2016). Содержание полиненасыщенных жирных кислот — эйкозапентаеновой (C20:5 ω -3) и эйкозагексаеновой (C20:6 ω -3) — составляет 12 и 17 % соответственно (Fernández-Reiriz et al., 1989).

Именно поэтому высокие концентрации белка и общих липидов в клетках *R. salina* позволяют использовать водоросль в качестве кормового объекта в аквакультуре. Так, при выращивании в питомнике личинок гигантской устрицы *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) включение микроводоросли в рацион способствовало увеличению их выживаемости и темпа роста (Холодов и др., 2017).

Вывод. Плотность клеток и биомасса микроводоросли *Rhodomonas salina* изменялись в зависимости от условий культивирования. Максимальная биомасса *R. salina* (3,74 г·л⁻¹) получена при накопительном режиме культивирования на питательной среде Конвея при температуре (24 ± 1) °С, круглосуточной освещённости 135 $\mu\text{моль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ и непрерывном барботировании воздухом. Максимальное количество белка [(42,8 ± 3,34) %] накапливалось в экспоненциальной фазе роста, а липидов [(39,9 ± 4,12) %] — в стационарной.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» (№ гос. регистрации 121030300149-0).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Ладыгина Л. В. Микроводоросль *Rhodomonas salina* – перспективный кормовой объект в аквакультуре моллюсков // *Экология моря*. 2010. Вып. 81. С. 50–53. [Ladygina L. V. Microalga *Rhodomonas salina* is a promising food object in mollusc aquaculture. *Ekologiya morya*, 2010, iss. 81, pp. 50–53. (in Russ.)]
2. Лакин Г. Ф. *Биометрия* : учебное пособие для биол. спец. вузов. Москва : Высшая школа, 1990. 352 с. [Lakin G. F. *Biometriya* : uchebnoe posobiye dlya biol. spets. vuzov. Moscow : Vysshaya shkola, 1990, 352 p. (in Russ.)]
3. *Методы гидрхимических исследований основных биогенных элементов*. Москва : ВНИРО, 1988. 150 с. [*Metody gidrokhimicheskikh issledovaniy osnovnykh biogennykh elementov*. Moscow : VNIRO, 1988, 150 p. (in Russ.)]
4. Холодов В. И., Пиркова А. В., Ладыгина Л. В. *Выращивание мидий и устриц в Чёрном море*. 2-е издание, дополненное. Воронеж : Издат-Принт, 2017. 508 с. [Kholodov V. I., Pirkova A. V., Ladygina L. V. *Cultivation of Mussels and Oysters in the Black Sea*. 2nd ed., suppl. Voronezh : Izdat-Print, 2017, 508 p. (in Russ.)]
5. Bartua A., Lubián L. M., Gálvez J. A., Niell F. X. Effect of irradiance on growth, photosynthesis, pigment content and nutrient consumption in dense cultures of *Rhodomonas salina* (Wislouch) (Cryptophyceae). *Ciencias Marinas*, 2002, vol. 28, no. 4, pp. 381–392. <https://doi.org/10.7773/cm.v28i4.236>
6. Brown M. R., Jeffrey S. W., Volkman J. K., Dunstan G. A. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, 1997, vol. 15, iss. 1–4, pp. 315–331. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01501-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01501-3)
7. Chaloub R. M., Motta N. M. S., Araujo S. P., Aguiar P. F., Silva A. F. Combined effects of irradiance, temperature and nitrate concentration on phycoerythrin content in the microalga *Rhodomonas salina* sp. (Cryptophyceae). *Algal Research*, 2015, vol. 8, pp. 89–94. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.01.008>

8. Fernández-Reiriz M. J., Pérez-Camacho A., Ferreira M. J., Blanco J., Planas M., Campos J. M., Labarta U. Biomass production and variation on the biochemical profile (total protein, carbohydrates, RNA, lipids and fatty acids) of seven species of marine microalgae. *Aquaculture*, 1989, vol. 83, iss. 1–2, pp. 17–38. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(89\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90057-4)
9. Guevara M., Arredondo-Vega B. O., Palacios Y., Saez K., Comez P. I. Comparison of growth and biochemical parameters of two strains of *Rhodomonas salina* (Cryptophyceae) cultivated under different combinations of irradiance, temperature and nutrients. *Journal of Applied Physiology*, 2016, vol. 28, no. 5, pp. 2651–2660. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0835-2>
10. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Faar A. L. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 1951, vol. 193, iss. 1, pp. 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
11. Rowan K. S. *Photosynthetic Pigment of Algae*. New York : Cambridge University Press, 1989, 334 p.
12. Silva A. F., Lourenço S. O., Chaloub R. M. Effects of nitrogen starvation on the photosynthetic physiology of a tropical marine microalga *Rhodomonas* sp. (Cryptophyceae). *Aquatic Botany*, 2009, vol. 91, iss. 4, pp. 291–297. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2009.08.001>
13. Vu M. T. T., Douët C., Rayner T. A., Vinum T. C., Nielsen S. L., Winding H. B. Optimization of photosynthesis, growth, and biochemical composition of the microalga *Rhodomonas salina* – An established diet for live feed copepods in aquaculture. *Journal of Applied Physiology*, 2016, vol. 28, no. 3, pp. 1485–1500. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0722-2>
14. Tremblay R., Cartier S., Miner P., Pernet F., Quéré C., Moal J., Muzellec M., Mazuret M., Samain J. Effect of *Rhodomonas salina* addition to a standard hatchery diet during the early ontogeny of the scallop *Pecten maximus*. *Aquaculture*, 2007, vol. 262, no. 2–4, pp. 410–418. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.10.009>
15. Videla J. A., Chaparro O. R., Thompson R. J., Concha I. I. Role of biochemical energy reserves in the metamorphosis and early juvenile development of the oyster *Ostrea chilensis*. *Marine Biology*, 1998, vol. 32, pp. 635–640. <https://doi.org/10.1007/s002270050428>
16. Vonshak A. Laboratory techniques for the cultivation of microalgae. In: *Handbook of Microalgae Mass Culture* / A. Richmond (Ed.). Boca Raton, Florida : CRC Press, 1986, pp. 117–146. <https://doi.org/10.1201/9780203712405>
17. Whyte J. S., Bourne N., Hodgson C. A. Influence of algal diets on biochemical composition and energy reserves in *Patinopecten yessoensis* (Jay) larvae. *Aquaculture*, 1989, vol. 78, iss. 3–4, pp. 333–347. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(89\)90110-5](https://doi.org/10.1016/0044-8486(89)90110-5)
18. Zhang J., Wu C., Pellegrini D., Romano G., Esposito F., Ianora A. Effects of different monoalgal diets on egg production, hatching success and apoptosis induction in a Mediterranean population of the calanoid copepod *Acartia tonsa* (Dana). *Aquaculture*, 2013, vol. 400–401, pp. 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.02.032>

**GROWTH OF THE CRYPTOPHYTE MICROALGA
RHODOMONAS SALINA (WISLOUCH) D. R. A. HILL & R. WETHERBEE, 1989
UNDER DIFFERENT CULTIVATION CONDITIONS**

L. V. Ladygina

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation
E-mail: lvladygina@yandex.ru

Temperature and irradiance effect was studied on the specific growth rate and biomass accumulation of the cryptophyte alga *Rhodomonas salina*. Optimal conditions for its cultivation were determined allowing to obtain the maximum biomass. *R. salina* was cultivated on the Conway medium (in our own modification) at a temperature of (20 ± 1), (24 ± 1), and (28 ± 1) °C and irradiance of 13,

67, 135, and 202 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. As shown, an increase in temperature up to above-optimal values resulted in a decrease of the microalga growth rate and biomass. For *R. salina*, there were no significant differences in growth rates at irradiance of 135 and 202 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (μ values were of (0.69 ± 0.04) and (0.64 ± 0.02) day^{-1} , respectively). The microalga growth slowed down at low irradiance (13 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) (μ value was of (0.33 ± 0.03) day^{-1}). The maximum biomass [(3.74 ± 0.28) $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$] was obtained at the optimal temperature [(24 ± 1) $^{\circ}\text{C}$] and irradiance of 135 $\mu\text{mol photons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Under optimal cultivation conditions, maximum accumulation of proteins was registered at the exponential growth phase (29 %), and maximum accumulation of lipids was recorded at the stationary phase (41 %).

Keywords: microalga *Rhodomonas salina*, cultivation, temperature, irradiance, growth rate, biomass