

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ХЕРСОНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ



*До 100-річчя  
від дня народження  
В.О.Сухомлинського*

**STEM–освіта як напрям модернізації  
методик навчання  
природничо-математичних дисциплін у  
середніх і вищих навчальних закладах**

Збірник матеріалів Всеукраїнської студентської  
науково-практичної конференції

(26-27 квітня 2018 року, м. Херсон)

Херсон – 2018

## МІКРОСКОПІЧНІ ВОДОРСТІ ЯК ПРОДУЦЕНТИ БІОЛОГІЧНО ЦІННОЇ СПОЛУКИ – АСТАКСАНТИНУ

*Маринченко Н. О., Скребовська С.В.*

*Херсонський академічний ліцей імені О.В. Мішукова при  
Херсонському державному університеті*

**Вступ.** На сьогодні, мікроскопічні зелені водорості, такі як *Haematococcus pluvialis*, *Ettlia carotinos* та *Dunaliella salina*, належать до перспективних об'єктів промислового культивування [4]. Вони у відносно великих кількостях здатні накопичувати вторинні каротиноїди, зокрема астаксантин. Цей клас сполук має виражені антиоксидантні властивості та застосовується в якості харчових добавок, лікарських засобів та вітамінів [3].

Вивчення особливостей утворення каротиноїдів у водоростей в умовах штучно створеного стресу для оцінки потенційних можливостей видів як об'єктів масового культивування є актуальним.

**Метою роботи** було оцінити вплив підвищення концентрації NaCl в культивованому середовищі на дві зелені водорості *Haematococcus pluvialis* та *Ettlia carotinos* та встановити їх діапазон солестійкості.

Культури водоростей *Haematococcus pluvialis* та *Ettlia carotinos* взяті для проведення експерименту із колекції культур кафедри ботаніки Херсонського державного університету. До колекції кафедри культури потрапили з колекції альгологічних культур Київського національного університету імені Тараса Шевченка, у 2013 році, акронім штамів водоростей АСКУ 573-06 та АСКУ 301-04. Водорість *Haematococcus pluvialis* була виділена з ґрунту Чехословаччини у 2006 році. Точних даних не має. Водорість *Ettlia carotinos* виділена у 2004 році з червоного нальоту на граніті, м. Южноукраїнськ, Миколаївська обл., регіональний ландшафтний парк «Гранітно-степове Побужжя», урочище Гард, острів Гард. Культура депонувалась вперше.

Водорості вирощували на середовищі 3NBVM [2] з різною концентрацією NaCl в планшетах для росту культури клітин, у які спочатку в один ряд лунок вносили середовище 3NBVM з різним вмістом NaCl, внаслідок чого солоність середовища в послідовності лунок одного ряду становила 0,25%, 2,5%, 12%, 24%, 35%, 60%, 120%, 200%, а потім суспензії культур водоростей. Концентрації суспензій культур водоростей були оцінені підрахунком кількості клітин у камері Горяєва та доведені до однакових показників. Значення варіантів солоності відповідали середньому значенню діапазону певного класу солоності вод за Венеціанською системою [1] згідно з якою, природні води поділяються на прісні – 0-0.5%, мікогалійні (з підрозділами на олігогалійні – 0.5-5%, мезогалійні – 5-18%, полігалійні – 18-30%), еугалійні – 30-40%, понад 40% – гіпергалійні.

В кожній лунці планшети загальний об'єм рідини складав 160 мкл (40 мкл суспензії водорості одного штаму та 120 мкл середовища з NaCl).

Контролем слугували суспензії культур водоростей, що вносилися у лунки з середовищами 3 NBVM (стандартне), 3NBVM без NaCl. Планшети культивували протягом 30 діб.

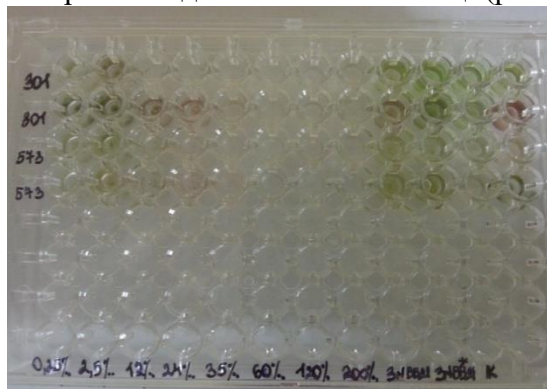
Впродовж першого тижня експерименту в лунках з низькою концентрацією NaCl спостерігали ледь помітне зелене забарвлення.

В перший день експерименту всі лунки в плашці мали ледь помітне зелене забарвлення.

Через декілька днів культури в лунках набували різного забарвлення. Зростання інтенсивності зеленого забарвлення вказувало на процес розмноження та росту, чим інтенсивніше було це забарвлення, тим краще культура накопичувала біомасу. Наявність почервоніння культури свідчило про сольовий стрес та індукцію синтезу вторинних каротиноїдів. Знебарвлення культури вказувало на загибель водоростей за даної концентрації NaCl. Діапазон солоності, при якому культури певного штаму не відмирили

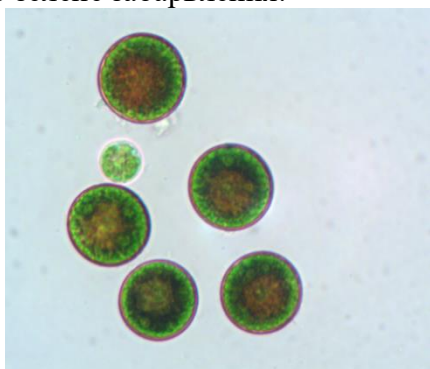
ми перевели у бальну шкалу від I-V.

Культури вирощували протягом двох тижнів в плашці (рис. 1)

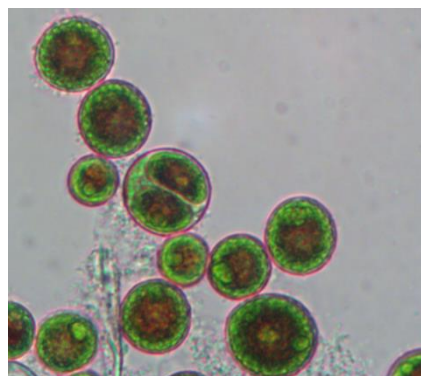


**Рис. 1. Плашка для культивування водоростей з нанесеними культурами, 14-й день експерименту.**

В лунках, де солоність складала від 0-0,5‰ та в олігогалійному середовищі, де солоність складала від 0,5-5‰, зелені водорості *Haematococcus pluvialis* та *Ettli acarotinoso* проявляли ознаки активної життєдіяльності (рис.2А, 2Б). Лунки в стовпчиках 1 та 2 мали яскраво зелене забарвлення.



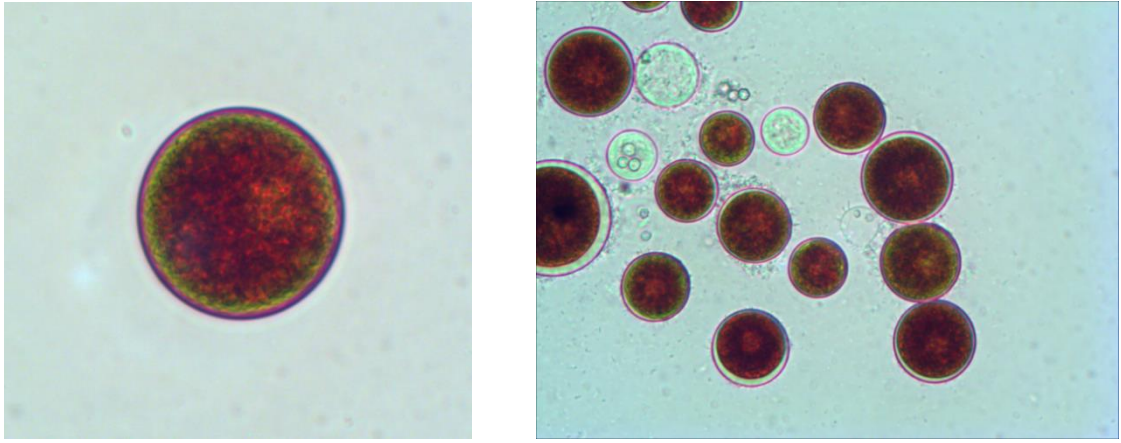
**Рис. 2А. Культура *Haematococcus pluvialis*, взята з лунки, де солоність складала від 0-0,5‰ (Збільшення 10x40)**



**Рис. 2Б. Культура *Ettlia carotinoso*, взята з лунки, де солоність складала від 0,5-5‰.**

У контрольних лунках з середовищами 3NBVM, 3NBVMбез NaCl спостерігали інтенсивний ріст водоростей, вираженого накопичення вторинних каротиноїдів не спостерігалось.

У мезогалійних (5-18‰) та полігалійних (18-30‰) водоймах водорості почали активно накопичувати вторинні каротиноїди. Колір лунок змінився з зеленого на темно коричневий (рис.3)



**Рис 3. Зелена водорості *Haematococcus pluvialis*. Культура взята з лунки, де солоність складала від 5-18‰ (Збільшення 10x40).**

В еугалійних та гіпергалійних розвиток водоростевих культур не спостерігалось.

**Висновки.** Водорості є найбільш поширеними джерелами природного астаксантину. Під час несприятливих умов (екстремальні температури, нестача їжі, води і сонячного світла) клітини будуть накопичувати астаксантин, як механізм виживання. Переваги астаксантину настільки значні, що водорості можуть залишатися в стані спокою в протягом десятиліть і навіть після пробудження залишатися такими ж, як і до несприятливих умов [3-4].

В результаті проведених досліджень було визначено, що *Haematococcus pluvialis* та *Ettlia carotinosa* в діапазоні солоності від 0,25‰ до 12‰ зберігали життєздатність.

В діапазоні солоності від 60‰ до 200‰ водорості не розвивалися, але *Haematococcus pluvialis* більш евригалійний ніж *Ettlia carotinosa* і тому, для промислового культивування краще використовувати *Haematococcus pluvialis*.

#### **Література:**

1. Anonymous. Symposium on the Classification of Brackish Waters, Venice, 8-14 th April 1958 // Arch. Oceanogr. Limnol. – 1958. – Vol. 11. Suppl. – 248 p.  
 Bishoff H. W., Bold H. C. Phycological Studies. IV. Some algae from enchanted rock and related algae species // Univ. Texas Publ. – 1963. – № 6318. – P. 1-95.  
 Boussiba S., and Vonshak A. Astaxanthin Accumulation in the Green Alga *Haematococcus pluvialis* // Plant and Cell Physiology. – 1991.– Vol. 32. - N. 7. – P.1077-1082. Режим доступу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/>  
 Kobayashi M., Kakizono T., Nishio N., Nagai S. Effects of light intensity, light quality, and illumination cycle on astaxanthin formation in a green alga, *Haematococcus pluvialis* // Ferm. Bioeng. - 1992. - Vol. 74. - P. 61-63.