

Н. Д. Шамаев, П. А. Курынцева, С. Ю. Селивановская

ФОРМИРОВАНИЕ ГРУПП РОСТА У МИКРОВОДОРОСЛЕЙ РОДА *CHLORELLA* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ОБЪЕМА ВНОСИМОЙ БАЗОВОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ И ТЕМПЕРАТУРЫ

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Поступила в редакцию 05.07.2024 г.

Принята к публикации 20.10.2024 г.

doi: 10.5922/vestniknat-2025-1-10

140

Для цитирования: Шамаев Н. Д., Курынцева П. А., Селивановская С. Ю. Формирование групп роста у микроводорослей рода *Chlorella* в зависимости от объема вносимой базовой питательной среды и температуры // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Сер.: Естественные и медицинские науки. 2025. №1. С. 140–146. doi: 10.5922/vestniknat-2025-1-9.

Технология производства микроводорослей в инкубаторах включает в себя оптимизацию условий культивирования под определенный идентифицированный штамм. Однако при работе с образцами, выделенными из объектов окружающей среды, приходится иметь дело с неидентифицированными штаммами и соблюдение условий культивирования затруднено. В данном исследовании было использовано 10 изолятов микроводорослей рода *Chlorella*, которые в последующем были разделены на 3 группы роста в зависимости от объема вносимой базовой питательной среды и температуры. Согласно литературным данным, неидентифицированные изоляты могут принадлежать новому виду *Chlorella* sp. или новому лектотипу *C. vulgaris*.

Ключевые слова: изоляты микроводорослей, *Chlorella* sp., группы роста, базовая питательная среда

Введение

Одной из микроводорослей, выращиваемых для использования в аквакультуре, является род *Chlorella*, которая представляет собой ценный корм для беспозвоночных и рыб. Пресноводная хлорелла производится в больших количествах для пищевых продуктов. Обычная технология получения микроводорослей в инкубаторах представляет собой многоступенчатую резервную систему, при которой культуры выращиваются и используются как инокуляты при культивировании в промышленных масштабах. При этом условия культивирования настраиваются производителем под определенный идентифицированный штамм. Однако при работе с местными изолятами, которые не прошли генетическую идентификацию, на этапе перед началом наращивания в больших масштабах исследователи прибегают к менее сложной, но эффективной вертикальной полунепрерывной системе периодического культивирования, которая экономит пространство инкубатора. Рост и продукция



клеточной массы обычно увеличиваются при оптимальных параметрах скорости аэрации, концентрации CO_2 в среде и освещенности площади поверхности культуры [1]. Ранее исследование микроводорослей на аквакультуре *Chlorella vulgaris* (с соблюдением условий роста и продукции клеточной массы) выявило улучшение качества и эффективности использования ресурсов, которое привело к увеличению продуктивности биомассы [2]. Целью настоящего исследования является изучение групп роста у микроводорослей рода *Chlorella* в зависимости от объема вносимой базовой питательной среды и температуры.

Материалы и методы

В настоящем исследовании было использовано 9 генетически неидентифицированных изолятов (*Chlorella* sp. B1, *Chlorella* sp. B2, *Chlorella* sp. B3, *Chlorella* sp. B4, *Chlorella* sp. B5, *Chlorella* sp. B6, *Chlorella* sp. B7, *Chlorella* sp. B8, *Chlorella* sp. B9) выделенных из водоемов Казани (Республика Татарстан, Россия) и один идентифицированный изолят (*C. vulgaris* Ch-010-09). Перед изучением групп роста микроводоросли были наращены до концентрации микроводоросли в инокуляте 0,1–0,2 ОЕ с использованием ранее апробированных условий [2]. Штаммы *Chlorella* были идентифицированы авторами только классическим методом с описанием морфологических характеристик и использованием световой микроскопии [3]. Выращивание изолятов микроводорослей рода *Chlorella* происходило в лабораторных фотобиореакторах с применением коммерческого удобрения «Фертика универсал» (гумат – 18 %, N – 8 %, P_2O_5 – 8 %, K_2O – 8 %, комплекс микроэлементов) путем растворения 5 г удобрения на 1 л дистиллята, при начальной концентрации микроводоросли в инокуляте 0,1–0,2 ОЕ, освещенностью 52 Вт, при 24 °С, 28 °С и 32 °С, в 2 л БПС, с подачей углекислого газа 0,3 г/л/день и постоянным перемешиванием 6 rpm. Культуру микроводорослей выращивали в течение четырех дней. На четвертый день измерили оптическую плотность при длине волны 680 нм на спектрофотометре Ultrospec 3300 pro UV/Visible UV (Amersham Biosciences, Кембридж, Великобритания). Измерение значения pH проводили с использованием стационарного pH-метра Starter 2100 pH Bench pH Meter ST2100-F RU (Ohaus, Шанхай, Китай). Измерение температуры осуществлялось с использованием термометра для аквариумов. Выращивание культур микроводорослей проводили в двух повторностях. Каждое измерение выполнялось трижды, а среднее значение экспериментальных полученных результатов рассчитывались с помощью MS-Excel. Минимальный объем вносимого удобрения (далее – $V_{\text{уд}}$) был определен исходя из роста отдельных изолятов рода *Chlorella* [4]. Увеличение $V_{\text{уд}}$ на объем жидкости проводилось до максимального значения pH в растворе (табл. 1).

Таблица 1

Характеристики базовой питательной среды

pH	5,0	5,1	5,5	5,6	6,0	6,1	6,5	6,6	7,0	7,1	7,5	7,6	8,0	8,1	8,5	8,6	9,0
$V_{\text{уд}}$ (гр)	5,5	5,6	6,1	6,2	6,6	6,7	7,2	7,3	7,7	7,8	8,3	8,4	8,8	9,0	9,4	9,5	10,0

Результаты и обсуждение

Все клетки изолятов микроводорослей рода *Chlorella* имели сферическую или субсферическую формы (рис. 1). Визуально у всех изолятов отсутствовали зооспоры.

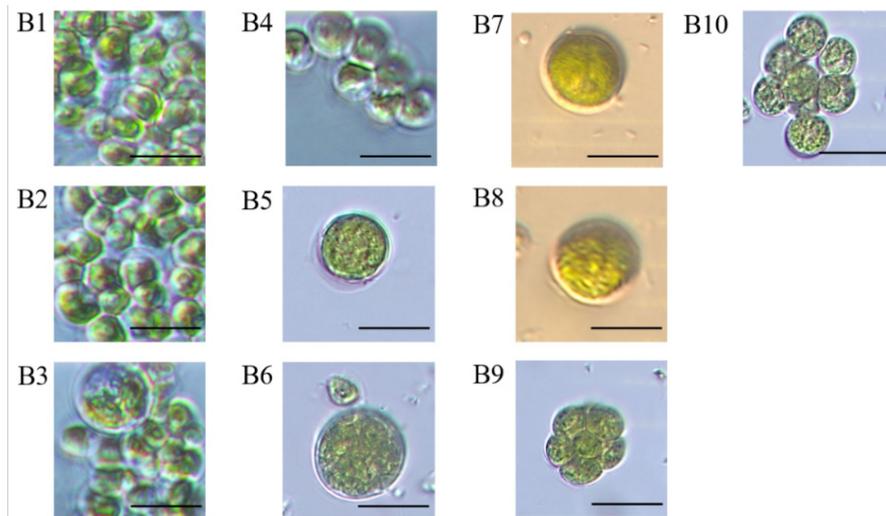


Рис. 1. Морфология изолятов микроводорослей рода *Chlorella*

Было выявлено различие в скорости роста изолятов *Chlorella* на 4-й день в зависимости от $V_{уд}$ (рис. 2). Кривая роста имеет тенденцию к увеличению в диапазонах pH 5,6–7,0 (*Chlorella* sp. B1, B4, B5, B6, B7, B8 и B9), 6,6–8,0 (*Chlorella* sp. B2, B3) и 7,1–8,5 (*C. vulgaris* Ch-010-09). При повторном культивировании была отмечена разница в скорости роста изолятов *Chlorella* в зависимости от температуры: 24 °C (*Chlorella* sp. B1, B3, B4) и 24–28 °C (*Chlorella* sp. B2, B5, B6, B7, B8 и B9) (рис. 3).

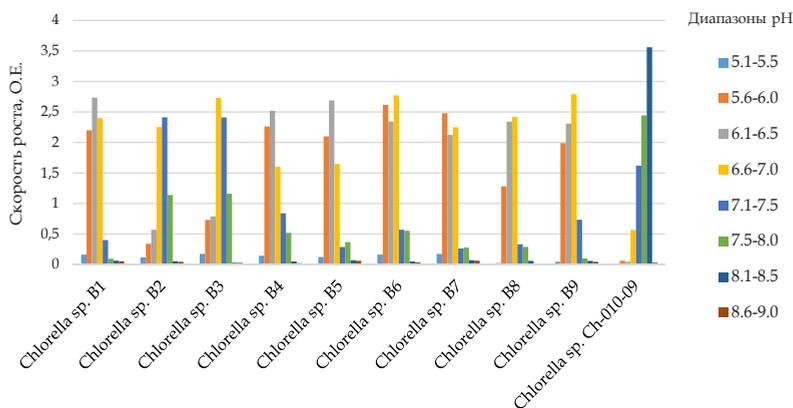


Рис. 2. Средние значения оптической плотности при культивировании изолятов микроводорослей рода *Chlorella* в зависимости от объема вносимого удобрения

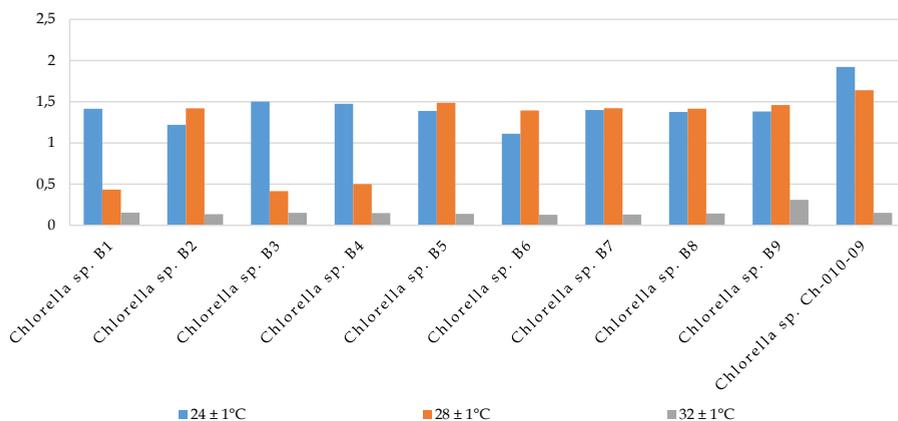


Рис. 3. Средние значения оптической плотности при культивировании изолятов микроводорослей рода *Chlorella* в зависимости от температуры

Был проведен поиск данных по рН интервалам, благоприятным для различных видов *Chlorella* sp., с целью предположения принадлежности изолятов, использованных в настоящем исследовании. В списке указаны виды, встречающиеся на территории Европейских стран, со схожим диапазоном размеров (2–10 мкм), адаптированные к жизни в пресноводной воде или широкому спектру солености воды (табл. 2).

Таблица 2

Данные о распространении, форме и чувствительности к солености воды различных видов *Chlorella* sp. из литературных источников

Распространение	Адаптация вида к спектру солености воды	Вид	Диапазон рН	Источник
Повсеместно	Пресноводный	<i>C. vulgaris</i>	7,5–8,5	[5]
Повсеместно	Эвригалинный	<i>C. autotrophica</i>	6,1–8,0	[6]
Повсеместно	Эвригалинный	<i>C. coloniales</i>	7,1–8,0	[7]
Европа	Пресноводный	<i>C. pituita</i>	7,1–7,5	[8]
Европа	Пресноводный	<i>C. pyrenoidosa</i>	5,1–5,5	[9]
Повсеместно	Пресноводный	<i>C. sorokiniana</i>	6,1–7,5	[10]
Европа	Пресноводный	<i>C. minutissima</i>	7,5–8,0	[11]
Европа	Пресноводный	<i>C. elongata</i>	7,1–7,5	[8]
Европа	Пресноводный	<i>C. protothecoides</i>	6,1–8,0	[12]
Европа	Пресноводный	<i>C. luteoviridis</i>	6,1–7,5	[13]

Согласно сформированным группам роста у микроводорослей рода *Chlorella* в зависимости от объема вносимой базовой питательной среды и температуры роста можно выделить 3 группы: 1) растущие при 24 °С в объеме вносимого удобрения в интервале от 6,1 до 7,7 г (*Chlorella* sp. B1 и B4); 2) растущие при 24 °С в объеме вносимого удобрения в интервале от 7,3 до 8,8 г (*Chlorella* sp. B2 и B3); 3) растущие при 24 и 28 °С в объеме вносимого удобрения в интервале от 6,1 до 7,7 г (*Chlorella* sp. B5, B6, B7, B8 и B9).



Согласно данным из таблицы 2, изоляты микроводорослей *Chlorella* sp. с B1 по B9 относятся к *C. autotrophica*, *C. luteoviridis* или *C. protothecoides*, но не *C. sorokiniana*, так как характерные свойства *C. sorokiniana* – это рост с получением высоких показателей биомассы при высоких температурах [13]. Если учесть, что температура 32 °С не выявила роста изолятов, то они не могут принадлежать *C. sorokiniana*. Контрольный образец *C. vulgaris* Ch-010-09 соответствует своему диапазону pH 7,1–8,5 г. В связи с тем, что, согласно литературным данным, *C. lewinii*, *C. rotunda*, *C. volutis*, *C. heliozoae* и *C. variabilis* не распространены в зоне настоящего исследования и не адаптированы к жизни в пресноводной воде или широкому спектру солености воды, то изоляты с B1 по B9 могут принадлежать новому виду *Chlorella* sp. и новому лектотипу *C. vulgaris*. Дальнейшая генетическая идентификация позволит подтвердить или опровергнуть полученные данные.

Заключение

В исследовании было использовано 10 изолятов микроводорослей рода *Chlorella*, в том числе 9 неидентифицированных изолятов и 1 идентифицированный контрольный образец *C. vulgaris* Ch-010-09. Было выявлено 3 группы роста в зависимости от объема вносимой базовой питательной среды и температуры: группа с ростом при 24 °С в объеме вносимого удобрения в интервале от 6,1 до 7,7 г (*Chlorella* sp. B1 и B4); группа с ростом при 24 °С в объеме вносимого удобрения в интервале от 7,3 до 8,8 г (*Chlorella* sp. B2 и B3) и группа с ростом при 24 и 28 °С в объеме вносимого удобрения в интервале от 6,1 до 7,7 г (*Chlorella* sp. B5, B6, B7, B8 и B9). Неидентифицированные изоляты могут принадлежать новому виду *Chlorella* sp. или новому лектотипу *C. vulgaris*.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности, проект № FZSM-2024-0004.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Шамаев Н. Д., Курынцева П. А., Селивановская С. Ю. Культивирование изолятов микроводорослей *Chlorella* sp. с оценкой продуктивности биомассы // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Сер.: Естественные и медицинские науки. 2024. № 4. С. 135–145. EDN: DYXJBA.
2. Azov Y. Effect of pH on Inorganic Carbon Uptake in Algal Cultures // Appl Environ Microbiol. 1982. Vol. 43 (6). P. 1300–1306. doi: 10.1128/aem.43.6.1300-1306.1982.
3. Komarek J., Fott B. Chlorophyceae (Grünalgen), Ordnung Chlorococcales // Nordic journal of botany. 1983. Vol. 5 (1). doi: 10.1111/j.1756-1051.1985.tb02080.x.
4. Makwin D. M., Obiora A. O., Ike K. E. et al. Biodiesel production by microalgal species isolated from water samples in Keffi, Nasarawa state, Nigeria // International Journal of Science and Technology Research Archive. 2023. Vol. 4 (1). P. 73–82. doi: 10.53771/ijstra.2023.4.1.0165.



5. Yadav N., Singh D.P. Photosynthetic efficiency and compositional alterations in microalgae *Chlorella vulgaris* in response to changes in the pH condition // *Vegetos*. 2021. Vol. 34. P. 119–126. doi: 10.1007/s42535-021-00186-1.
6. Su D. Biological toxicity of five metal ions on marine algae // *Applied Mechanics and Materials* 2013. Vol. 295–298. P. 17–20. doi: 10.4028/www.scientific.net/AMM.295-298.17.
7. Kamyar Y., Jalil J. Optimization of heavy metal biosorption onto freshwater algae (*Chlorella coloniales*) algae cells using response surface methodology (RSM) // *Chemosphere*. 2018. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.10.205.
8. Krivina E. S., Temraleeva A. D. Identification Problems and Cryptic Diversity of *Chlorella*-Clade Microalgae (Chlorophyta) // *Microbiology*. 2020. Vol. 89. P. 720–732. doi: 10.1134/S0026261720060107.
9. Samejima H., Myers J. On the heterotrophic growth of *Chlorella pyrenoidosa* // *Journal of General Microbiology*. 1958. Vol. 18 (1). P. 107–117. doi: 10.1099/00221287-18-1-107.
10. Kumar K., Dasgupta C.N., Das D. Cell growth kinetics of *Chlorella sorokiniana* and nutritional values of its biomass // *Bioresource Technology*. 2014. Vol. 167. P. 358–366. doi: 10.1016/j.biortech.2014.05.118.
11. Tang H., Chen M., Garcia M. E. D. et al. Culture of microalgae *Chlorella minutissima* for biodiesel feedstock production // *Biotechnology and Bioengineering*. 2011. Vol. 108 (10). P. 2280–2287. doi: 10.1002/bit.23160.
12. Day A. G., Brinkmann D., Franklin S. et al. Safety evaluation of a high-lipid algal biomass from *Chlorella protothecoides* // *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2009. Vol. 55 (2). P. 166–180. doi: 10.1016/j.yrtph.2009.06.014.
13. Conrad W., Kufferath H. Additions à la flore algologique de Belgique // *Bulletin de la Société Royale de Botanique de Belgique*. 1913. Vol. 49. P. 293–335.
14. Kessler E., Huss V. A. R. Comparative physiology and biochemistry and taxonomic assignment of the *Chlorella* (Chlorophyceae) strains of the culture collection of the university of Texas at Austin // *Journal of Phycology*. 1992. Vol. 28 (4). P. 550–553. doi: 10.1111/j.0022-3646.1992.00550.x.

Об авторах

Николай Дмитриевич Шамаев — канд. биол. наук, доц., Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия.

E-mail: nikolai.shamaev94@mail.ru

ORCID: 0000-0002-0575-3760

SPIN-код: 2602-2764

Полина Александровна Курынцева — канд. биол. наук, доц., Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия.

E-mail: polinazwerewa@yandex.ru

ORCID: 0000-0002-9274-7077

SPIN-код: 7028-8557

Светлана Юрьевна Селивановская — д-р биол. наук, проф. Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия.

E-mail: svetlana.selivanovskaya@kpfu.ru

ORCID: 0000-0001-6379-7166

SPIN-код: 4867-6900



N. D. Shamaev, P. A. Kuryntseva, S. Yu. Selivanovskaya

**CULTIVATION OF LOCAL MICRALGAE ISOLATES
WITH ASSESSMENT OF BIOMASS PRODUCTIVITY**

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

Received 05 July 2024

Accepted 20 October 2024

doi: 10.5922/vestniknat-2025-1-10

146

To cite this article: Shamaev N. D., Kuryntseva P. A., Selivanovskaya S. Yu., 2025, Cultivation of local micralgae isolates with assessment of biomass productivity, *Vestnik of Immanuel Kant Baltic Federal University. Series: Natural and Medical Sciences*, №1. P. 140–146. doi: 10.5922/vestniknat-2025-1-10.

*The technology for microalgae production in incubators involves optimizing cultivation conditions for a specific identified strain. However, when working with samples isolated from environmental objects, it is often necessary to deal with unidentified strains, making it challenging to maintain optimal cultivation conditions. In this study, 10 isolates of *Chlorella* species were used, which were subsequently divided into 3 growth groups based on the volume of the basic culture medium and temperature. According to the literature, these unidentified isolates may belong to a new *Chlorella* species or a new lectotype of *C. vulgaris*.*

Keywords: microalgae isolate, *Chlorella* sp., growth groups, basic nutrient medium

The authors

Dr Nikolai D. Shamaev, Associate Professor, Kazan (Volga Region) Federal University, Russia.

E-mail: nikolai.shamaev94@mail.ru

ORCID: 0000-0002-0575-3760

SPIN-code: 2602-2764

Dr Polina A. Kuryntseva, Associate Professor, Kazan (Volga Region) Federal University, Russia.

E-mail: polinazwerewa@yandex.ru

ORCID: 0000-0002-9274-7077

SPIN-code: 7028-8557

Prof. Svetlana Yu. Selivanovskaya, Professor, Kazan (Volga Region) Federal University, Russia.

E-mail: svetlana.selivanovskaya@kpfu.ru

ORCID: 0000-0001-6379-7166

SPIN-code: 4867-6900