

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ ГІДРОБІОЛОГІЇ

*Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису*

ЛЕОНТЬЄВА ТЕТЯНА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК 582.263 + 58.02 +57.084.1

ДИСЕРТАЦІЯ

**АДАПТИВНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ЗЕЛЕНИХ МІКРОВОДОРОСТЕЙ  
(CHLOROPHYTA) ПРИ ВИРОЩУВАННІ В ШТУЧНИХ УМОВАХ**

Спеціальність 091 Біологія

Галузь знань 09 Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 Т.О. Леонтєва

Наукові керівники:

Кірпенко Наталія Іванівна

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник,

Щербак Володимир Іванович

доктор біологічних наук, професор,

Крот Юрій Григорович

кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник

Київ-2022

## АНОТАЦІЯ

Леонтьєва Т. О. Адаптивний потенціал зелених мікроводоростей (Chlorophyta) при вирощуванні в штучних умовах

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 «Біологія» (09 «Біологія») – Інститут гідробіології НАН України, Київ, 2022.

У роботі з'ясовано адаптивний потенціал зелених мікроводоростей з родин Scenedesmaceae, Selenastraceae та Chlorellaceae за дії провідних абіотичних чинників (температура, щільність фотосинтетичного фотонного потоку (PPFD), довжина хвилі, концентрація поживних речовин) при періодичному культивуванні в штучних умовах. Визначено види із найвищим адаптивним потенціалом. Розроблено схему неперервно-циклічного культивування *Desmodesmus brasiliensis*, як найпродуктивнішого виду.

В основу роботи покладено результати експериментальних досліджень, проведених на базі біотехнологічного комплексу Інституту гідробіології НАН України. Для досліджень обрано 10 альгологічно чистих культур зелених мікроводоростей (Chlorophyta), що зберігаються в Колекції культур (HPDP) інституту. Дослідження впливу абіотичних чинників на особливості росту та розмноження мікроводоростей проводили у спеціально розроблених аквакамерах, обладнаних обігрівачами з терморегулятором, світильниками та реле часу. Особливості росту та розмноження зелених мікроводоростей досліджували за допомогою гідробіологічних, альгологічних, фізіологічних, біохімічних та гідрохімічних методів досліджень. Отримані експериментальні дані опрацьовувалися статистично.

Дію температурного чинника на ріст та розмноження зелених мікроводоростей вивчали за дії константного та динамічного режимів.

За показниками питомої швидкості росту, встановлено, що високим константним температурам віддавали перевагу *D. brasiliensis* ( $34\pm 1$  °C), *Tetradesmus* (= *Acutodesmus*) *obliquus* ( $34\pm 1$  °C), *Scenedesmus ellipticus*

( $31 \pm 1$  °C), *S. obtusus* ( $28 \pm 1$  і  $34 \pm 1$  °C), а низьким – *D. subspicatus* ( $22 \pm 1$  °C), *Messastrum* (= *Selenastrum*) *gracile* ( $22 \pm 1$  °C), *Monoraphidium griffithii* ( $22 \pm 1$  °C), *D. communis* ( $22 \pm 1$  і  $25 \pm 1$  °C). В той же час, для *T. dimorphus* найвищий показник був при  $28 \pm 1$  °C, а для *Chlorella vulgaris* у більш широкому діапазоні –  $25$ – $34$  °C.

Отримані показники середньодобових коефіцієнтів збільшення чисельності клітин, показали, що найбільший їх приріст відмічено у культур *D. brasiliensis* при  $34 \pm 1$  °C та *T. dimorphus* при  $28 \pm 1$  °C, що відповідно у 12,0 та 9,0 разів перевищували найменш продуктивний вид *D. communis*.

За умов динамічного підвищення температури середовища ( $22 \rightarrow 34$  °C) на експоненційній фазі росту мікроводоростей, найвищою питомою швидкістю росту серед досліджених видів характеризувалися *D. brasiliensis*, *S. obtusus* та *M. gracile*, які перевищували найменш продуктивний вид – *D. communis* у 3,6, 4,1 та 3,6 разів відповідно ( $p < 0,01$ ).

Порівняння показників питомої швидкості росту культур зелених мікроводоростей в умовах динамічного та статичного температурних режимів, виявило суттєві відмінності в реакціях різних видів мікроводоростей на їх дію. Зокрема, динамічне підвищення температури середовища, збільшувало показники для видів *T. obliquus*, *S. obtusus* та *M. gracile* у 1,5 разів ( $p < 0,05$ ), порівняно зі статичною. В той час, константні терморежими середовища виявилось сприятливим для *D. brasiliensis*, *D. communis*, *T. dimorphus* та *M. griffithii*, де значення були вищими відповідно у 1,8, 4,5, 2,4 та 1,5 рази ( $p < 0,05$ ;  $p \leq 0,01$ ), ніж при динамічному режимі. Отже, можна стверджувати, що зелені мікроводорості мають різні прояви до дії константного та динамічного температурних режимів.

Інтенсивність фотосинтезу та дихання вивчали на прикладі *D. brasiliensis*, як найбільш продуктивної культури. Встановлено, що дані показники максимальними були на експоненційній фазі росту при терморежимах  $25 \pm 1$ ,  $28 \pm 1$  і  $31 \pm 1$  °C, що у 1,4 рази ( $p \leq 0,05$ ) вище ніж при  $34 \pm 1$  °C. Завдяки регуляторному узгодженню процесів фотосинтезу та

дихання, це свідчить про успішну адаптацію мікродоростей до даних умов середовища.

При динамічному підвищенні температури середовища, порівняно з константною, питомий фотосинтез та дихання для культур *S. obtusus* та *D. brasiliensis* на експоненційній фазі росту відзначався достовірно вищими показниками у 2,5 ( $p \leq 0,01$ ) та 1,4 рази ( $p < 0,05$ ) відповідно, що може свідчити про підвищення ростових процесів обох видів за даних умов культивування.

Вплив щільності фотосинтетичного фотонного потоку (PPFD) на питому швидкість росту зелених мікродоростей (*D. brasiliensis*, *M. griffithii*, *C. vulgaris*) проводили у 3 режимах (22,1, 39,0 і 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>). З'ясували, що найвищі показники у досліджених культур зафіксовано при PPFD 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>.

Вплив спектрального складу світла на ріст зелених мікродоростей, показав, що для *T. dimorphus*, *M. gracile* та *M. griffithii* дані показники дещо збільшувалися при синьому спектрі з довжиною хвилі 400–480 нм, *D. communis* при червоному спектрі (580–700 нм), а *D. brasiliensis* як при червоному (580–700 нм), так і білому (400–700 нм).

Проведені експериментальні дослідження вмісту білків, ліпідів та вуглеводів на різних фазах росту у клітинах мікродоростей *D. brasiliensis* при дії абіотичних чинників (температури, PPFD та спектральний склад) характеризуються деякими особливостями.

Зокрема, максимальний вміст білків відзначали в інтервалі температур 28–31 °С у період пізньої фази експоненційного росту, при цьому з переходом на стаціонарну фазу відбувається достовірне зменшення їх кількості у 1,7 разів ( $p \leq 0,05$ ), що підтверджує загальну закономірність їх накопичення. В той же час, найвищий вміст вуглеводів у клітинах зафіксовано при 31±1 °С на експоненційній фазі росту з подальшим незначним зниженням на стаціонарній.

Водночас, у клітинах *D. brasiliensis* кількість білків була дещо вищою за щільності фотосинтетичного фотонного потоку на рівні 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>,

порівняно із 22,1 мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$  та при синьому (400–480 нм) і червоному (580–700 нм) спектрі, порівняно з білим (400–700 нм). При цьому, вміст ліпідів та вуглеводів при вищій щільності PPFД (47,5 мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$ ) зменшується відповідно на 10 % та 29 %. Водночас, вміст ліпідів дещо підвищувався за зміни спектрального складу з білого на червоний (580–700 нм) та синій (400–480 нм). В той же час, підвищення кількості вуглеводів на 28 %, ( $p \leq 0,05$ ) зафіксовано при червоному спектрі (580–700 нм), порівняно з білим.

Можна припустити, що адаптація *D. brasiliensis* до дії провідних абіотичних чинників: температури, фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу світла тісно пов'язана зі змінами протікання метаболічних процесів у клітинах мікроводоростей, що супроводжується активацією енергоємних процесів, на забезпечення яких використовується білок, вуглеводи та ліпіди.

Показано особливості росту та розмноження культур зелених мікроводоростей за дії поживних середовищ з різною концентрацією та співвідношенням нітратного азоту та фосфору фосфатів : Фітцджеральда – 11:1, Болда – 1:1, Тамія – 2:1. Аналіз середньодобових коефіцієнтів збільшення чисельності клітин зелених мікроводоростей показав, що помірні концентрації азоту та фосфору у співвідношенні 11:1 позитивно впливають на ріст всіх досліджених культур. Найвищий адаптивний потенціал за даних умов вирощування мав *D. brasiliensis*, що перевищував показники росту клітин порівняно з Болда та Тамія відповідно у 4,0 та 40,0 разів. Середовище з однаковим співвідношенням азоту та фосфору сприяло росту лише культур *T. dimorphus* та *C. vulgaris*. При цьому, *T. dimorphus* відзначився більш значними середньодобовими коефіцієнтами збільшення чисельності клітин у порівнянні з середовищем Фітцджеральда та Тамія. Водночас, високі концентрації біогенних елементів негативно впливають на протікання фотобіосинтезу всіх досліджених видів, що свідчить про нераціональність використання при періодичному культивуванні мікроводоростей.

Детально розглянуто вміст неорганічних форм азоту (амонійний, нітритний, нітратний) та фосфору фосфатів у середовищі Фітцджеральда при культивуванні *D. brasiliensis*.

Так, на початку досліду азот містився лише у формі нітратів (81,7 мг/дм<sup>3</sup>), який до кінця фази експоненційного росту знизився на 88 % ( $p \leq 0,01$ ). Можна припустити, що зменшення концентрації нітратного азоту в середовищі відбувалося за рахунок його асиміляції в клітинах мікроводоростей – відновлення за участю ферментів нітрат та нітритредуктази до амонію, глутамату та білку.

В той же час, упродовж проходження культурою лаг-фази та експоненційної, спостерігалось поступове збільшення у культуральному середовищі іонів амонію і нітритів. Вміст амонійного азоту у середовищі максимальним був на початку фази експоненційного росту (7 доба). При цьому, в умовах високих температур ( $31 \pm 1$  °C), він був у 1,3 рази меншим ( $p \leq 0,05$ ), ніж за низьких ( $22 \pm 1$  °C), а при PPFD 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> його рівень знижувався у 15,8 рази ( $p \leq 0,001$ ), порівняно із 22,1 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>.

Вміст нітритів у середовищі за щільності PPFD 47,5 поступово збільшувався до кінця фази експоненційного росту (21 доба), з подальшим зменшенням у 1,4 рази при виході на стаціонарну ( $p \leq 0,05$ ). Найвищі значення нітритів у поживному середовищі в цей період (21 доба) зафіксовано при температурному режимі  $31 \pm 1$  °C та PPFD 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>.

При цьому, концентрація фосфору фосфатів у культуральному середовищі з початкового рівня (7,1 мг/дм<sup>3</sup>), наприкінці експоненційної фази знизилася до 99 % ( $p \leq 0,01$ ).

На основі середньодобових коефіцієнтів збільшення чисельності клітин, встановлено, що культури *D. brasiliensis* та *T. dimorphus* порівняно з іншими дослідженими видами, характеризуються найвищими адаптивними можливостями, що проявляються за дії провідних абіотичних чинників (температура, PPFD, спектральний склад, поживні речовини) в певному діапазоні.

З урахуванням фізіологічних особливостей *D. brasiliensis* та абіотичних чинників, що підвищують його продуктивність, розроблено рекомендації та технологічна схема його культивування, що складається з наступних етапів: отримання інокуляту; безперервно-циклічне нарощування біомаси; отримання суспензії мікроводоростей; внесення наступної порції коригованого поживного середовища.

Враховуючи залишки неорганічних форм азоту та фосфору фосфатів у фітобіореакторі після кожного циклу вирощування, створено схему корегування поживного середовища за вмістом біогенних елементів. Таким чином, після кожного його внесення до фітобіореактора, вміст нітратного азоту та фосфору фосфатів буде оптимальним для інтенсивного росту *D. brasiliensis*.

**Ключові слова:** адаптивний потенціал, зелені мікроводорості, Chlorophyta, культивування, абіотичні чинники, температура, щільність фотосинтетичного фотонного потоку, спектральний склад світла, поживні речовини, неорганічні форми азоту, фосфор фосфатів.

## SUMMARY

Leontieva T. Adaptive potential of green microalgae (Chlorophyta) during cultivation in artificial conditions.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 091 "Biology" (09 "Biology") - Institute of Hydrobiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2021.

The proceedings clarifies the adaptive potential of green microalgae from the families Scenedesmaceae, Selenastraceae, and Chlorellaceae under the influence of leading abiotic factors (temperature, photosynthetic photon flux density (PPFD), wavelength, concentration of nutrients) during periodic cultivation in artificial conditions. Species with the highest adaptive potential have been identified. A scheme of continuous cyclic cultivation of *D. brasiliensis*, as the most productive species, has been developed.

The paper is based on the results of experimental research conducted on the basis of the biotechnological complex of the Institute of Hydrobiology of the National Academy of Sciences of Ukraine. For research, 10 algologically pure cultures of green microalgae (Chlorophyta) stored in the Culture Collection (HPDP) of the institute were selected. The study of the influence of abiotic factors on the growth and reproduction of microalgae was carried out in specially designed aqua chambers equipped with heaters with a thermostat, lamps and time relays. Features of the growth and reproduction of green microalgae were investigated using hydrobiological, algological, physiological, biochemical and hydrochemical research methods. The obtained experimental data were processed statistically.

The effect of the temperature factor on the growth and reproduction of green microalgae was studied under constant and dynamic regimes.

According to the indicators of the specific growth rate, it was established that high constant temperatures were preferred by *D. brasiliensis* ( $34\pm 1$  °C), *T. obliquus* ( $34\pm 1$  °C), *S. ellipticus* ( $31\pm 1$  °C), *S. obtusus* ( $28\pm 1$  and  $34\pm 1$  °C), and low - *D. subspicatus* ( $22\pm 1$  °C), *M. gracile* ( $22\pm 1$  °C), *M. griffithii* ( $22\pm 1$  °C), *D. communis* ( $22\pm 1$  and  $25\pm 1$  °C). At the same time, for *T. dimorphus*, the highest indicator was at  $28\pm 1$  °C, and for *C. vulgaris* in a wide range – 25–34 °C.

The obtained indicators of the average daily coefficients of the increase in the number of cells showed that the greatest increase was observed in the cultures of *D. brasiliensis* at  $34\pm 1$  °C and *T. dimorphus* at  $28\pm 1$  °C, which, respectively, exceeded the least productive species by 12.0 and 9.0 times *D. communis*.

Under the conditions of a dynamic increase in the temperature of the environment (22→34 °C) in the exponential phase of microalgae growth, the highest specific growth rate among the studied species was characterized by *D. brasiliensis*, *S. obtusus* and *M. gracile*, which exceeded the least productive species - *D. communis* by 3, 6, 4.1 and 3.6 times, respectively ( $p<0,01$ ).

Comparison of indicators of the specific growth rate of green microalgae cultures under dynamic and static temperature regimes revealed significant differences in the reactions of different types of microalgae to their action. In



particular, a dynamic increase in the temperature of the environment increased the indicators for the species *T. obliquus*, *S. obtusus* and *M. gracile* by 1.5 times ( $p < 0.05$ ), compared to the static one. At that time, the constant temperature regimes of the environment were favorable for *D. brasiliensis*, *D. communis*, *T. dimorphus* and *M. griffithii*, where the values were 1.8, 4.5, 2.4 and 1.5 times higher, respectively ( $p < 0.05$ ;  $p \leq 0.01$ ) than in the dynamic mode. Therefore, it can be stated that green microalgae have different manifestations under the action of constant and dynamic temperature regimes.

The intensity of photosynthesis and respiration was studied on the example of *D. brasiliensis*, as the most productive culture. It was established that these indicators were maximal in the exponential phase of growth at temperature regimes of  $25 \pm 1$ ,  $28 \pm 1$  and  $31 \pm 1$  °C, which is 1.4 times ( $p \leq 0.05$ ) higher than at  $34 \pm 1$  °C. Thanks to the regulatory coordination of the processes of photosynthesis and respiration, this indicates the successful adaptation of microalgae to these environmental conditions.

With a dynamic increase in the temperature of the environment, compared to a constant one, specific photosynthesis and respiration for *S. obtusus* and *D. brasiliensis* cultures in the exponential phase of growth were significantly higher by 2.5 ( $p \leq 0.01$ ) and 1.4 times ( $p \leq 0.05$ ), respectively, which may indicate an increase in the growth processes of both species under the given cultivation conditions.

The effect of photosynthetic photon flux density (PPFD) on the specific growth rate of green microalgae (*D. brasiliensis*, *M. griffithii*, *C. vulgaris*) was carried out in 3 modes (22.1, 39.0 and  $47.5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). It was found that the highest indicators in the studied cultures were recorded at a PPFD of  $47.5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

The influence of the spectral composition of light on the growth of green microalgae showed that for *T. dimorphus*, *M. gracile* and *M. griffithii* these indicators slightly increased in the blue spectrum with a wavelength of 400–480 nm, *D. communis* in the red spectrum (580–700 nm) and *D. brasiliensis* both at red (580–700 nm) and white (400–700 nm).

Experimental studies of the content of proteins, lipids and carbohydrates at different growth phases in cells of microalgae *D. brasiliensis* under the influence of abiotic factors (temperature, PPF and spectral composition) are characterized by some features.

In particular, the maximum content of proteins was noted in the temperature range of 28–31 °C during the late phase of exponential growth, while with the transition to the stationary phase, a significant decrease in their number occurs by 1.7 times ( $p < 0,05$ ), which confirms the general regularity of their accumulation. At the same time, the highest content of carbohydrates in cells was recorded at  $31 \pm 1$  °C during the exponential phase of growth, followed by a slight decrease during the stationary phase.

At the same time, in *D. brasiliensis* cells, the number of proteins was slightly higher for photosynthetic photon flux density at the level of  $47.5 \mu\text{mol} \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , compared to  $22.1 \mu\text{mol} \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  and at blue (400–480 nm) and red (580–700 nm) spectrum, compared to white (400–700 nm). At the same time, the content of lipids and carbohydrates at a higher density of PPF ( $47.5 \mu\text{mol} \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) decreases by 10 and 29 %, respectively, which is confirmed statistically ( $p \leq 0,05$ ). At the same time, the lipid content slightly increased due to changes in the spectral composition from white to red (580–700 nm) and blue (400–480 nm). At the same time, an increase in the number of carbohydrates by 28 % ( $p \leq 0,05$ ) was recorded in the red spectrum (580–700 nm) compared to white.

It can be assumed that the adaptation of *D. brasiliensis* to the action of the leading abiotic factors: temperature, photosynthetic photon flux and spectral composition of light is closely related to changes in the course of metabolic processes in microalgae cells, which is accompanied by the activation of energy-intensive processes, for the provision of which protein, carbohydrates and lipids

Features of the growth and reproduction of green microalgae cultures under the action of nutrient media with different concentrations and ratios of nitrate nitrogen and phosphorus phosphates are shown: Fitzgerald – 11:1, Bolda – 1:1, Tamia – 2:1. The analysis of average daily coefficients of increase in the number of

cells of green microalgae showed that moderate concentrations of nitrogen and phosphorus in the ratio of 11:1 have a positive effect on the growth of all studied cultures. *D. brasiliensis* had the highest adaptive potential under these growing conditions, which exceeded cell growth rates compared to Bold and Tamiya by 4.0 and 40.0 times, respectively. A medium with the same ratio of nitrogen and phosphorus promoted the growth of only *T. dimorphus* and *C. vulgaris* cultures. At the same time, *T. dimorphus* was distinguished by more significant average daily coefficients of increase in the number of cells in comparison with the Fitzgerald and Tamiya medium. At the same time, high concentrations of biogenic elements have a negative effect on the course of photobiosynthesis of all studied species, which indicates the irrationality of use in periodic cultivation of microalgae.

The content of inorganic forms of nitrogen (ammonium, nitrite, nitrate) and phosphorus phosphates in the Fitzgerald medium during the cultivation of *D. brasiliensis* was considered in detail.

Thus, at the beginning of the experiment, nitrogen was contained only in the form of nitrates (81.7 mg/dm<sup>3</sup>), which decreased by 88 % by the end of the exponential growth phase ( $p \leq 0,01$ ).

It can be assumed that the decrease in the concentration of nitrate nitrogen in the environment occurred due to its assimilation in the cells of microalgae - reduction with the participation of nitrate and nitrite reductase enzymes to ammonium, glutamate and protein.

At the same time, as the culture passed through the lag phase and the exponential phase, a gradual increase in ammonium and nitrite ions was observed in the culture medium. The content of ammonium nitrogen in the medium was maximum at the beginning of the phase of exponential growth (7 days). At the same time, under conditions of high temperatures ( $31 \pm 1$  °C), it was 1.3 times lower ( $p \leq 0,05$ ) than at low temperatures ( $22 \pm 1$  °C), and at PPFD  $47.5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  its level decreased by 15.8 times ( $p \leq 0,001$ ), compared to  $22.1 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

The nitrite content in the medium at a PPFD density of 47.5 gradually increased until the end of the exponential growth phase (21 days), followed by a 1.4-

fold decrease upon reaching the stationary phase ( $p \leq 0,05$ ). The highest values of nitrites in the nutrient medium during this period (21 days) were recorded at a temperature of  $31 \pm 1$  °C and a PPFD of  $47.5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

At the same time, the concentration of phosphorus phosphates in the culture medium decreased from the initial level ( $7.1 \text{ mg/dm}^3$ ) to 99 % at the end of the exponential phase ( $p \leq 0,01$ ).

On the basis of the average daily coefficients of the increase in the number of cells, it was established that the cultures of *D. brasiliensis* and *T. dimorphus*, compared to other studied species, are characterized by the highest adaptive capabilities, manifested under the action of the leading abiotic factors (temperature, PPFD, spectral composition, nutrients) in a certain range

Taking into account the physiological features of *D. brasiliensis* and abiotic factors that increase its productivity, recommendations and a technological scheme of its cultivation have been developed, consisting of the following stages: obtaining inoculum; continuous cyclic growth of biomass; obtaining a suspension of microalgae; introduction of the next portion of the corrected nutrient medium.

Taking into account the remains of inorganic forms of nitrogen and phosphorus phosphates in the phytobioreactor after each growing cycle, a scheme for adjusting the nutrient medium according to the content of biogenic elements was created. Thus, after each introduction to the phytobioreactor, the content of nitrate nitrogen and phosphorus phosphates will be optimal for the intensive growth of *D. brasiliensis*.

**Key words:** adaptive potential, green microalgae, Chlorophyta, cultivation, abiotic factors, temperature, photosynthetic photon flux density (PPFD), spectral composition of light, nutrients, nitrogen, phosphorus phosphates.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ

*Статті у наукових виданнях, що індексовані у наукометричній базі*

*даних Scopus:*

1. Leontieva T. A., Kirpenko N. I. Chlorophyta growth rate on different cultivation media. *International Journal on Algae*. 2020. Vol. 22, no. 1. P. 69–76.
2. Kirpenko N. I., Leontieva T. O., Tsarenko P. M. Morphometric characteristics of green microalgae in culture. *Hydrobiological Journal*. 2021. Vol. 57, no. 3. P. 37–47.
3. Kirpenko N. I., Tsarenko P. M., Usenko O. M., Leontieva T. O. Strain of the green microalga *Monoraphidium* sp. HPDP-105 – a producer of biologically valuable compounds. *Hydrobiological Journal*. 2021. Vol. 57, no. 6. P. 82–91.
4. Nezbrytska I., Usenko O., Konovets I., Leontieva T., Abramiuk I., Goncharova M., Bilous O. Potential use of aquatic vascular plants to control cyanobacterial blooms: A Review. *Water*. 2022. Vol. 14, no. 11. P. 1727.

*Статті у наукових фахових виданнях України:*

5. Kirpenko N., Leontieva T. Biotechnological prospects of microalgae. *Biotechnologia Acta*. 2019. Vol. 12, no. 6. P. 25–34.
6. Білик Т.І., Веренікін О.М., Леонтєва Т.О. Вплив сучасних мийних засобів на гідробіонти-фільтратори водних екосистем. *Науково-практичний журнал. Екологічні науки*. 2021. Вип. 34, № 7. С. 122–128.

*Матеріали конференцій:*

7. Коржов Є. І., Леонтєва Т. О. Зовнішній водообмін як один з факторів формування кількісних показників фітопланктону заплавних водойм пониззя Дніпра. *Сучасна Гідроекологія: Місце Наукових Досліджень У Вирішенні Актуальних Проблем: зб. мат. VII Всеукр. наук. конф. для молодих вчених присвяченої 100-річчю НАН України*. Київ, 2018. С. 23–24.

8. Kirpenko N. I., Leontieva T. O. Growth intensity of *Desmodesmus communis* Hegew and *D. subspicatus* Hegew. Et Schmidt in various environments. *Advances in Modern Phycology: Book of Abstracts of the VI International Conference*. Kyiv, 2019. P. 52–54.

9. Леонтьєва Т. О., Кірпенко Н. І. Вплив температури на інтенсивність росту зелених мікроводоростей. *Перспективи гідроекологічних досліджень в контексті проблем довкілля та соціальних викликів*: мат. VIII з'їзду гідроекол. тов. України присвяченої 110 річчю з дня заснування Дніпровської біологічної станції. Київ, 2019. С. 133–135.

10. Мардаревич М. Г., Сибірьова В. А., Леонтьєва Т. О., Кудрявцева Д. О. Продуктивність *Daphnia magna* при її харчуванні різними видами зелених мікроводоростей. *Перспективи гідроекологічних досліджень в контексті проблем довкілля та соціальних викликів*: мат. VIII з'їзду гідроекол. тов. України присвяченої 110 річчю з дня заснування Дніпровської біологічної станції. Київ, 2019. С. 138–140.

11. Кірпенко Н. І., Леонтьєва Т. О., Мусій Т. О. Варіабельність розмірних характеристик зелених мікроводоростей в умовах культур. *Біологічні дослідження – 2020*: зб. наук. праць. Житомир, 2020. С. 166–168.

12. Яновська Д. О., Леонтьєва Т. О., Усенко О. М. Вплив біофлаваноїдів кварцитну та рутину на функціональну активність культур зелених мікроводоростей за різного спектру освітлення. *зб. тез XIX Міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених*. Київ, 2021. С. 180–183.

13. Гончарова М. Т., Янюк М. А., Леонтьєва Т. О., Кудрявцева Д. О., Бондаренко А. О. Вплив синтетичних миючих засобів на ріст синьо-зелених (*Microcystis aeruginosa*) та зелених водоростей (*Desmodesmus brasiliensis*). *Біологічні дослідження – 2021*: зб. наук. праць. Житомир, 2021. С. 144–146.

14. Усенко О. М., Леонтьєва Т. О., Яновська Д. О. Ефективність використання біофлаваноїдів при вирощуванні зелених водоростей у біотехнологічних комплексах. *Новітні досягнення біотехнології*: мат. V Міжнар. наук.-практ. конф. Київ, 2021. С. 77–78.

15. Білоус О., Казанцев Т., Батог С., Абрам'юк І., Незбрицька І., Лісовий Г., Леонтєва Т. Дослідження гідроекосистем Київського та Канівського водосховищ (р. Дніпро, Україна) за результатами дистанційного моніторингу та експедиційних досліджень. *Актуальні проблеми ботаніки та екології*: мат. міжнар. конф. молодих учених. Київ: LAT & K, 2021. С. 9.

16. Незбрицька І. М., Білоус О. П., Батог Т. О., Леонтєва Т. О., Абрам'юк І. І. Оцінка функціональної активності фітопланктону в заростях макрофітів (на прикладі Канівського водосховища). *Актуальні проблеми ботаніки та екології*: мат. міжнар. конф. молодих учених. Київ: LAT & K, 2021. С. 62.

17. Усенко О. М., Леонтєва Т. О. Ступінь трансформації біогенних елементів у культуральному середовищі зеленої водорості *Monoraphidium griffithii* (Berk.) Komark.-Legner. за дії поверхнево активних речовин (без фосфатних та фосфатних порошків). *Проблеми та перспективи розвитку сучасної біології та біологічної освіти*: I Всеукр. наук.-практ. конф. Житомир, 2021. С. 52–55.

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	14
РОЗДІЛ І ЗЕЛЕНІ МІКРОВОДОРОСТІ (CHLOROPHYTA) ЯК ОБ'ЄКТ ВИРОЩУВАННЯ В ШТУЧНИХ УМОВАХ.....	24
1.1 Загальна характеристика Chlorophyta .....	24
1.2 Температурний режим середовища як провідний чинник в життєдіяльності мікроводоростей.....	27
1.3 Роль щільності фотосинтетичного фотонного потоку, спектрального складу та фотоперіоду для відтворення зелених мікроводоростей.....	33
1.4 Значення біогенних елементів в процесах росту і розмноження зелених мікроводоростей.....	39
1.5 Використання зелених мікроводоростей в якості харчової, кормової, технічної і фармакологічної сировини та біологічної очистки природних і стічних вод.....	44
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	53
РОЗДІЛ 3 ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ХАРАКТЕРИСТИК CHLOROPHYTA ЗАЛЕЖНО ВІД ТЕМПЕРАТУРНИХ УМОВ.....	62
3.1 Особливості росту мікроводоростей за дії константних та динамічних температур .....	63
3.2 Чисельність культур зелених мікроводоростей в умовах динамічного підвищення температури на різних фазах росту .....	72
3.3 Варіабельність морфометричних показників клітин мікроводоростей родини Scenedesmaceae за дії різних терморежимів.....	75
3.4 Особливості фотосинтезу та дихання зелених мікроводоростей залежно температури у константному і динамічному режимі.....	78
3.5 Вміст білків, ліпідів і вуглеводів у клітинах зелених мікроводоростей за дії константних температур .....	82
РОЗДІЛ 4 ВПЛИВ ЩІЛЬНОСТІ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО	



ФОТОННОГО ПОТОКУ ТА СПЕКТРАЛЬНОГО СКЛАДУ НА РІСТ ТА РОЗМНОЖЕННЯ ЗЕЛЕНИХ МІКРОВОДОРОСТЕЙ.....	86
4.1 Особливості росту культур мікроводоростей за дії щільності фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу .....	86
4.2 Варіабельність розмірів водоростевих клітин за різної щільності фотосинтетичного фотонного потоку.....	93
4.3 Вміст білків, ліпідів і вуглеводів у клітинах Chlorophyta за впливу щільності фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу.....	94
РОЗДІЛ 5 ОЦІНКА ДІЇ НЕОРГАНІЧНИХ ФОРМ АЗОТУ ТА ФОСФОРУ ФОСФАТІВ НА РОСТОВІ ПОКАЗНИКИ CHLOROPHYTA ЗА УМОВ ПЕРІОДИЧНОГО КУЛЬТИВУВАННЯ.....	100
5.1 Особливості росту зелених мікроводоростей за різного хімічного складу поживних середовищ та температурного режиму.....	101
5.2 Характеристики варіабельності морфометричних показників зелених мікроводоростей залежно від вмісту біогенних елементів.....	108
5.3 Вміст сполук неорганічного азоту та фосфору фосфатів у середовищі при культивуванні зелених мікроводоростей залежно температурних умов та щільності фотосинтетичного фотонного потоку.....	112
РОЗДІЛ 6 АДАПТИВНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ЗЕЛЕНИХ МІКРОВОДОРОСТЕЙ ЗА ДІЇ АБІОТИЧНИХ ЧИННИКІВ ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ В ШТУЧНИХ УМОВАХ .....	118
6.1 Формування адаптивних реакцій зелених мікроводоростей при періодичному культивуванні.....	118
6.2 Адаптивний потенціал мікроводорості <i>D. brasiliensis</i> за дії провідних абіотичних чинників при періодичному вирощуванні .....	121
6.3 Теоретичні засади для практичного впровадження <i>D. brasiliensis</i> в безперервно-циклічному культивуванні.....	124
6.4 Практичне використання біомаси зелених мікроводоростей.....	130
ВИСНОВКИ.....	133
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	135

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- г/дм<sup>3</sup> – грам на дециметр кубічний;  
год – година;  
м<sup>3</sup>/год – метр квадратний за годину;  
мг/дм<sup>3</sup> – міліграм на дециметр кубічний;  
мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> – мікромоль на метр квадратний за секунду;  
мл – мілілітр;  
млн/дм<sup>3</sup> – мільйон на дециметр кубічний;  
нм – нанометр;  
СО<sub>2</sub> – діоксид вуглецю;  
k – середньодобовий коефіцієнт збільшення чисельності клітин;  
M – середня величина;  
m – відхилення від середньої величини;  
n – кількість повторностей;  
NH<sub>3</sub> – аміак;  
NH<sub>4</sub><sup>+</sup> – амонійний азот;  
NO<sub>2</sub><sup>-</sup> – нітрити;  
NO<sub>3</sub><sup>-</sup> – нітрати;  
O<sub>2</sub> – кисень;  
p – рівень значимості t-критерію Стьюдента;  
pH – водневий показник;  
PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> – фосфор фосфатів;  
PPFD, мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> – щільність фотосинтетичного фотонного потоку,  
мікромоль на метр квадратний за секунду;  
R – достовірність апроксимації;  
μ – питома швидкість росту;  
μm – мікрометри;  
°C – градус Цельсія.

## ВСТУП

**Актуальність теми.** В природних умовах, у ході онтогенетичного та філогенетичного розвитку гідробіонтів різних трофічних рівнів та екологічних груп, сформовано екологічний потенціал, завдяки якому забезпечується їхня життєдіяльність за дії низки різноманітних абіотичних, біотичних та антропогенних чинників. В той же час, при культивуванні в штучних умовах, антропогенний чинник, як такий, відсутній, тому в цих випадках доцільно використовувати поняття «Адаптивний потенціал» до дії певного чинника.

Згідно літературних даних, поняття адаптивного потенціалу визначається назвою загальних понять, такими як:

- Спадково детермінована здатність організму пристосовуватися до мінливих умов середовища [15];
- Скриті притаманні виду властивості, що набуті в процесі генотипічної адаптації, які за відповідних умов, змінюють стратегію і тактику росту і відтворення живих організмів [22];
- Здатність популяції реагувати на відбір за допомогою фенотипічних або генотипічних змін [136];
- Здатність популяції чи організму розвивати генетично обумовлені ознаки у відповідь на зміни умов навколишнього середовища [153].

В той же час, чітке визначення адаптивного потенціалу в гідробіологічних дослідженнях відсутнє. Зокрема, зелені мікродорості є важливою складовою автотрофної ланки різнотипних водних екосистем та перспективною групою для культивування в штучних умовах, з метою отримання високопродуктивної сировини різноманітного призначення. Виходячи зі специфіки їх росту та розмноження, вважаємо, що адаптивний потенціал представників Chlorophyta – це комплекс генетично та метаболічно обумовлених специфічних реакцій, спрямованих на підтримання життєздатності за дії провідних абіотичних чинників (температура, енергія

ФАР та поживне середовище) на різних рівнях організації: популяційно-видовому та молекулярному.

Аналогічна точка зору викладена у роботах В.В. Грубінко [14] – це виявлення радикальних біохімічних, фізіологічних та морфо-структурних змін, що виникають за певних умов вирощування та надають їм нові сприятливі властивості.

Гідробіологічні дослідження враховують здатність водоростей рости і створювати біомасу у чітко визначених умовах (за певної температури, світла, складу поживного середовища тощо), а також їхні метаболічні особливості.

Наприклад, для одержання кормової сировини придатні види з оптимальним співвідношенням білків, вуглеводів, ліпідів, біологічно активних речовин, з високою поживною якістю та перетравлюваністю [107, 168, 208]; для енергетичного напрямку необхідно підбирати види з високим вмістом енергетичних компонентів, в першу чергу, ліпідів [257, 275] за необхідності очищення стічних вод водорості мають бути толерантними до наявності органічних речовин чи високих концентрацій біогенних елементів або забруднювальних сполук [224, 252] тощо.

Тому, актуальним питанням при культивуванні мікрководоростей в штучних умовах є вивчення їх адаптивного потенціалу та метаболізму за участю білків, жирів і вуглеводів.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана відповідно до наукових досліджень, що здійснювалися в Інституті гідробіології НАН України в межах держбюджетних тем: «Особливості фізіологічної адаптації та екологічний потенціал гідробіонтів різних трофічних рівнів при їх культивуванні в штучних умовах» (№ держреєстрації 0118U003541) і «Використання штучних біоценозів із гідробіонтів різних трофічних рівнів для очищення та відновлення якості поверхневих і стічних вод» (№ держреєстрації 0120U103039).

**Мета:** встановити адаптивний потенціал зелених мікрководоростей за дії абіотичних чинників при періодичному культивуванні в штучних умовах.

### **Завдання:**

1. За структурно-функціональними характеристиками представників зелених мікроводоростей родин Scenedesmaceae, Selenastraceae і Chlorrellaceae оцінити адаптивний потенціал при дії температури у статичному та динамічному режимах.

2. Встановити адаптивний потенціал зелених мікроводоростей з родин Scenedesmaceae, Selenastraceae та Chlorellaceae за показниками росту і розмноження залежно від щільності фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу світла.

3. Визначити адаптивний потенціал зелених мікроводоростей з родин Scenedesmaceae, Selenastraceae та Chlorellaceae залежно від концентрації та співвідношення нітратного азоту та фосфору фосфатів.

4. З'ясувати вміст біогенних елементів у середовищі на різних фазах росту при вирощуванні зелених мікроводоростей за дії різного рівня температури та щільності фотосинтетичного фотонного потоку

5. Визначити види зелених мікроводоростей з високим адаптивним потенціалом здатних до безперервно-циклічного культивування в штучних умовах.

**Об'єкт дослідження** – адаптивний потенціал зелених мікроводоростей за дії абіотичних чинників.

**Предмет дослідження** – з'ясування змін показників питомої швидкості росту, фотосинтезу, вмісту білків, ліпідів та вуглеводів зелених мікроводоростей залежно від рівня константної і динамічної температури, PPFD, довжини хвилі та поживного середовища при періодичному культивуванні.

**Методи дослідження** – гідробіологічні, альгологічні, фізіологічні, біохімічні, гідрохімічні, статистичні.

**Наукова новизна отриманих результатів.** На основі встановлених та узагальнених показників росту та розмноження (питома швидкість росту, середньодобові коефіцієнти збільшення чисельності клітин, розміри та об'єм

клітин, інтенсивність фотосинтезу та дихання, вміст білків жирів і вуглеводів у клітинах) зелених мікроводоростей з родин Scenedesmaceae, Selenastraceae та Chlorellaceae, з'ясовано особливості прояву комплексних реакцій у межах різного адаптивного потенціалу зелених мікроводоростей за дії провідних абіотичних чинників (температура, PPFD, довжина хвилі, співвідношення азоту та фосфору) при культивуванні в штучних умовах. Визначено види із найвищим адаптивним потенціалом.

**Практичне значення одержаних результатів.** На основі адаптивного потенціалу зелених мікроводоростей, вперше розроблено практичні рекомендації та технологічну схему безперервно-циклічного культивування високопродуктивного виду *D. brasiliensis* у штучних умовах з метою отримання сировини різноманітного призначення.

**Особистий внесок здобувачки.** Авторкою дисертації самостійно зібрано та проаналізовано фахову наукову літературу з питань обраної теми, проведено експериментальні дослідження та статистичну обробку отриманих даних. Формулювання мети, завдань та висновків проведено разом із науковими керівниками. Друковані роботи, у яких викладено основні положення дисертації, підготовлено при співавторстві зі співробітниками Інституту гідробіології та Інституту ботаніки НАН України.

**Апробація результатів роботи.** Основні результати представлені на VIII з'їзді Гідроекологічного товариства України присвяченого 110 річчю з дня заснування Дніпровської біологічної станції» (Київ, 2019) та конференціях: VII Всеукраїнській наукова конференція для молодих вчених присвячена 100-річчю Національної академії наук України (Київ, 2018 р.); VI International Conference «Advances in modern phycology» (Kyiv, 2019); «Біологічні дослідження – 2020» (Житомир, 2020); XIX Міжнародна наукова конференція студентів та молодих вчених» (Київ, 2021); «Біологічні дослідження – 2021» (Житомир, 2021); V Міжнародна науково-практична конференція «Новітні досягнення біотехнології» (Київ, 2021); I Всеукраїнська

науково-практична конференція «Проблеми та перспективи розвитку сучасної біології та біологічної освіти» (Житомир, 2021).

**Публікації.** Основні положення дисертаційної роботи відображено в 17 наукових публікаціях, із них 6 – у фахових виданнях (у тому числі 4 статті – у закордонних виданнях, індексованих у базі даних Scopus, з яких 1 статтю опубліковано в журналах 4-го квартилю, 2 статті 3-го квартилю та 1 – 1-го квартилю), 11 – у матеріалах і тезах міжнародних та вітчизняних конференцій.

**Структура та обсяг роботи.** Дисертаційна робота складається з анотації, вступу, огляду фахової літератури, матеріалів та методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, висновків та списку використаних літературних джерел (288 найменувань, з яких 218 – іншомовних). Загальний обсяг дисертації становить 163 сторінки. Текст ілюстровано 49 рисунками та 14 таблицями.

# РОЗДІЛ І ЗЕЛЕНІ МІКРОВОДОРОСТІ (CHLOROPHYTA) ЯК ОБ'ЄКТ ВИРОЩУВАННЯ В ШТУЧНИХ УМОВАХ

## 1.1 Загальна характеристика Chlorophyta

Chlorophyta є найчисленнішою та найбільш неоднорідною групою водоростей, що характеризуються широкою мінливістю форм, розмірів та кольорів [215]. Їх морфологічна структура представлена монадним та кокоїдним типом. Додаткова клітинна різноманітність включає півмісяцеві, прямокутні, яйцеподібні, видовжені форми. Окрім того водорості можуть мати різні види виростів та шипів [227, 265].

До складу фотосинтетичних пігментів зелених мікрowodоростей входять більшість пігментів, властивих як вищим так і нищим рослинам: хлорофіли  $\alpha$  і  $\beta$ , каротини ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  та  $\varepsilon$ -каротин), ксантофіли лютеїнового ряду (лютеїн, зеаксантин, неоксантин, віолаксантин, антераксантин). Більшість їхніх представників забарвлені у відтінки зеленого кольору, що обумовлено переважанням хлорофілу над іншими пігментами [190, 128]. В екстремальних умовах у деяких видів зелених водоростей «вмикається» механізм гіперсинтезу каротину, внаслідок чого клітини набувають червоного забарвлення. Основний продукт асиміляції – крохмаль, який відкладається у хлоропласті. Додаткові асиміляти – олія та лейкозин [255].

Предковими видами відділу Chlorophyta, швидше за все, були невеликі одноклітинні морські бігелати, що виникли приблизно 1 мільярд років тому. [227]. Добре вивченим прикладом одноклітинного бігелату є *Chlamydomonas reinhardtii* [266].

Зменшення розмірів клітин Chlorophyta відбулося неодноразово, що призвело до появи невеликих кокоїдних видів, таких як *Ostreococ*, які втратили фігелу і, ймовірно, зазнали геномного скорочення та упорядкування [145]. У той же час, представник даного відділу *Acetabularia*, має досить крупні та складні поодинокі клітини, що вимірюються у сантиметрах [210].



База даних AlgaeBase [77] показує, що на даний момент існує понад 7000 видів зелених водоростей (Chlorophyta), при цьому, нова інформація додається щодня.

Розмножуються зелені мікроводорості вегетативно (поділом навпіл), безстатево (аспланоспорами) та статеві (ізогамія) [44].

Зелені мікроводорості широкопоширені у водних і наземних умовах. Переважаюча більшість (90 %) усіх відомих видів – прісноводні. У наземних умовах вегетують у ґрунті і на ґрунті, скелях, каменях та корі дерев [12, 38]. Вони можуть поселятися як епіфіти та епізоїти на рослинах і тваринах, а також всередині інших організмів, як ендоефіти і ендозоїти [10, 197].

Їхній масовий розвиток може викликати зелене або червоне «цвітіння» води, ґрунту, снігу, скель, кори дерев тощо [233].

Багато видів пристосувались до екстремальних середовищ існування: пустелі, арктичні умови, гіперсалінові середовища, морські глибокі води, глибоководні гідротермальні місця проживання, які зазнають надзвичайних змін температури, світла та солоності. [150, 191, 193, 272].

Зелені водорості можуть поширюватися в дуже малих екосистемах як "фітотельмати" (дупла в деревах, наповнені водою в мертвих або живих стовбурах, але також у листових пазухах бромеліад) та «каменниця» (невеликі басейни, утворені в карбонатичних породах при комбінованій дії дощу та ендолітичних водоростей) [215].

Ряд представників живуть у симбіозі з іншими організмами [165], наприклад, з грибами, утворюючи лишайники [143]. Актинії *Anthopleura elegantissima* та *A. xanthogrammica* містять зелені водорості, що належать до родини *Zoochlorellae* та динофітів роду *Symbiodinium* [194]. Зелена гідра (*Hydra viridissima*) є типовим прикладом ендосимбіозу, так як у своїх шлунково-шкірних міоепітеліальних клітинах утримує особин одноклітинної зеленої водорості – *Chlorella* [269]. Кожна особина вбудована в окрему вакуолярну мембрану, яка називається симбіосомою [219]. Зв'язок між ембріонами плямистої саламандри (*Ambystoma maculatum*) та зеленими

водоростями *Oophila amblystomatis* вважається ектосимбіотичним мутуалізмом [161].

Деякі поширені види гетеротрофної зеленої водорості *Prototheca* є патогенними і здатні спричиняти прототекоз – інфекційне захворювання у людей і тварин [226].

Завдяки широкій поширеності зелених водоростей, узагальнити їх екологічні взаємозв'язки дуже важко, оскільки вони є архетипними щодо неймовірно великої адаптивної здатності [215].

Розвиток мікроводоростей у водних об'єктах обумовлений комплексним впливом різноманітних абіотичних, біотичних та антропогенних чинників [16, 48, 228]. До перших відносять гідрологічний режим (швидкість течії, інтенсивність водообміну тощо) [30] та фізико-хімічні умови (температура, освітлення, концентрація біогенних речовин, рН, вміст розчиненого кисню тощо).

До найпоширеніших біотичних чинників належать взаємний вплив водоростей [23], що спостерігається в межах однієї або різних екологічних груп та характер впливу вищих водяних рослин, а саме – щільність і площа заростання водних об'єктів вищою рослинністю, видоспецифічні особливості та стадія їх росту [151, 212, 228]. Одним із важливих механізмів зниження чисельності фітопланктону на ділянках зарослих вищою водною рослинністю є зменшення доступу світла [251] та конкуренція за поживні речовини [276].

Культивування монокультур зелених мікроводоростей в штучних умовах залежить від абіотичних чинників, провідними із яких є температурний режим [34, 124–126, 230] енергія світла [21, 120, 121, 130–132, 134] та вміст поживних речовин у середовищі, зокрема мінеральні форми азоту та фосфор фосфатів [122, 124, 133, 175]. Окрім того, у якості стимулятора росту можна використовувати біологічно активні речовини [62, 70]. Оптимальний та критичний рівень кожного чинника відрізняється залежно від видової і штамової приналежності [237, 245]. Тому, при культивуванні в штучних

умовах особливої уваги з теоретичної та практичної точки зору заслуговує розкриття їх адаптивного потенціалу за дії абіотичних чинників.

## **1.2 Температурний режим середовища як провідний чинник в життєдіяльності мікроводоростей**

Температура є провідним чинником, що впливає на ріст, метаболічну активність та реакцію водоростей на різноманітні екологічні стреси. Дослідження особливостей росту мікроводоростей залежно від температури навколишнього середовища важливе як з теоретичної, так і з практичної точки зору [34, 95, 110, 124-126, 140, 230].

Зокрема, в умовах глобальних кліматичних змін, встановлення меж їх оптимальних та критичних значень є важливим в рамках проблеми збереження біорізноманіття та необхідне для прогнозування формування біопродуктивності водойм і водотоків. Водночас, мікроводорості знаходять практичне застосування для вирішення низки важливих проблем – продовольчих, медичних, енергетичних, охорони довкілля, навіть освоєння космічного простору [278]. При цьому термотолерантність та діапазон оптимальних температур є однією з найголовніших характеристик мікроводоростей при виборі штамів для промислового їх вирощування як джерела органічної сировини різноманітного призначення [95, 188].

Інтенсивність росту, як правило, відображає енергетичний баланс у клітині між фотосинтетичною енергією (у тилакоїдних мембранах) та споживанням енергії в циклі Кальвіна. Дисбаланс між енергопостачанням та споживанням, викликаний змінами навколишнього середовища, призводить до зміни фотосинтетичного апарату (розмір одиниці, активність Rubisco) [230]. Важливо, що інтенсивність фотосинтезу, дихання та росту знижуються при перевищенні оптимальних температур, що пояснюється дисбалансом між потребою в енергії та виробництвом аденозинтрифосфорної кислоти, і більшою

мірою через інактивацию або денатурацію білків, що беруть участь у фотосинтезі [231].

Також, за оптимальної для росту мікроводоростей температури, спостерігається зменшення розмірів клітин, у той час як, температура нижче або вище оптимального рівня, призводить до їх збільшення [235].

Діапазон температур між оптимальними і летальними може бути більш-менш широким в залежності від виду. Вузкий діапазон вказує на види, чутливі до температури, тоді як широкий діапазон – на види, які здатні виживати при застосуванні методів аклімації чи адаптації [230].

Переважає більшість зелених мікроводоростей є мезофільними, тобто розвиваються в умовах температур 20–35 °С, вище 40 °С для них є критичними, що супроводжується втратою фізіологічної активності клітин [166, 230]. Оптимальний температурний діапазон для росту представників відділу Chlorophyta залежить від видової та штамової приналежності: *Scenedesmus acutus* – 25–30 °С [125], *S. obliquus* – 31–33 °С [261], *Desmodesmus communis* – 20–27 °С [43, 157], *Nannochloropsis oceanica* – 25–29 °С [106], *Selenastrum capricornutum* (Printz) – 24–27 °С [134]; *Monoraphidium* sp. 22–28 °С [257]; *Tetraedron caudatum* – до 20 °С [43]; 22 штами 6 видів роду *Ankistrodesmus* – до 33 °С [170].

Дослідження видів роду *Chlorella* показало, що температурний оптимум для них знаходиться в межах 25–37 °С: *Chlorella vulgaris* – 25–28 °С [72, 102]; *C. prothotecooides* – 26 °С [171]; *C. pyrenoidosa* – 33 °С [154]; *C. thermophila* – 33 °С [102]; *C. fusca* і *C. kessleri* – 36 °С [171]; *C. marina* – 37,5 °С [268]. Однак, існують більш стійкі штами, зокрема – *Chlorella* sp. P-06/2, що має температурний діапазон 26–39 °С і не гине під час безперервного культивування при 44 °С [144].

Особливою групою є термофільні водорості, які витримують температури понад 35–40 °С, що на думку деяких авторів, робить їх більш продуктивними [89, 155]. До термофільних видів можна віднести низку представників зелених мікроводоростей: *Closteriopsis acicularis*,

оптимальними для росту якої є температури 34–36 °С, а критичними, при яких припиняється поділ її клітин – 37–39 °С [33], *Scenedesmus* sp. – 20–40 °С [155], *S. almeriensis* – 30–40 °С [90, 155], *Acutodesmus dimorphus* – 35–38 °С [89]. Проте, в умовах штучного культивування, для більшості видів зелених мікроводоростей вплив високих температур є критичним і супроводжується втратою фізіологічної активності клітин.

Однак, відомо, що деякі штами водоростей здатні до адаптації в широкому діапазоні температур. Це, свідчить про їх широку адаптаційну можливість до екстремальних умов, а також, відкриває перспективи одержання штамів водоростей із значно ширшими діапазонами толерантності до зовнішніх чинників, тобто розширення потенційних можливостей альгобіотехнології і узгодження їх з господарськими потребами [110].

Водорості здатні до повільної генераційної адаптації [225]. Показано, що *Scenedesmus intermedius* відібраний у континентальних водах, адаптувався до 30 °С після 15 поколінь, до 35 °С після 30 поколінь і до максимуму 40 °С після 135 поколінь. Отже, поступова адаптація виду до підвищених температур, може збільшувати їх оптимальний діапазон для росту та розмноження [280].

На оптимальний температурний діапазон може впливати зміна навколишніх умов. Так, при вирощуванні *Tetraselmis* sp. в середовищі, близькому до природних вод, виявили нижчі оптимальні температури, порівняно зі збагаченими поживними середовищами [198].

На молекулярному рівні температура середовища відіграє важливу роль на формування біохімічного складу зелених мікроводоростей [124, 262], що залежить від видових особливостей, віку, а також величини температури та тривалості її впливу [43].

В умовах штучного культивування, максимальний вміст білків відмічають в інтервалі температур, оптимальних для росту водоростей. Зокрема, у клітинах *Desmodesmus brasiliensis*, як термотолерантного виду, з підвищенням температури він продовжував зростати, що підтверджує наявність у виду потенціалу до подальшого посилення інтенсивності росту. Водночас, у клітинах

*Scenedesmus obtusus* кількість білків була максимальною при 26,2–30,5 °С і знижувалась з подальшим зростанням температури [88, 177, 178].

В умовах теплового стресу, що виникає за дії верхньої критичної для росту організму температури, вміст білків зменшується і виробляється абсцизова кислота – гормон стресу [82]. Якщо гормон стресу виробляється, він вважається ключовим фактором контролю за реакціями вниз за течією, такими як ріст та експресія генів. Так, при підвищенні температури вище 40 °С *Chlorella vulgaris* була менш стійкою до кислого рН, ніж при вирощуванні при 35 °С або нижчих температурах [201].

Якщо вміст білків максимальний при оптимальному температурному діапазоні, то збільшення вмісту вуглеводів та ліпідів відбувається при підвищенні чи зниженні температури порівняно з оптимальною, що підтверджує їхні захисні функції для підтримання гомеостазу і забезпечення потенціалу виживання клітин при відхиленні температури від оптимального рівня [177, 178].

Показано, що найбільш суттєво під впливом температури, як і в інших несприятливих для росту умовах, змінюється кількість вуглеводів. Подібні тенденції відмічені і щодо ліпідів: у деяких видів при температурі, оптимальній для росту, визначено мінімальний вміст ліпідних сполук. Кількість ліпідів в основному характеризується дещо нижчою амплітудою коливань, тобто, на перший погляд, менше залежить від температури [177, 178].

Вміст білків у клітинах видів *Chaetoceros* sp., *Rhodomonas* sp. та *Cryptomonas* sp. при культивуванні з високими температурами знижувався, тоді як тенденція щодо вмісту вуглеводів, не спостерігалась [126].

До того ж слід враховувати, що рівень накопичення біологічно цінних сполук помітно перерозподіляється протягом життєвого циклу культур водоростей. Вміст білків частіше позитивно корелює з інтенсивністю ростових процесів, тому найвищим є на стадії інтенсивного росту культур, тоді як накопичення вуглеводів та ліпідів швидше характеризує старіння клітин – найбільш помітні відмінності у кількості вуглеводних та ліпідних сполук

спостерігаються при переході культур на стаціонарну стадію росту. Амплітуда коливань інтенсивності цих процесів суттєво відрізняється у різних видів, тому необхідне порівняльне вивчення динаміки накопичення біологічно цінних сполук з метою встановлення оптимальної тривалості їх вирощування, що забезпечить максимальний вихід цільового продукту [177, 178].

Було з'ясовано [73], що вміст ліпідів у клітинах монокультур *Nannochloropsis oculata* та *Scenedesmus obliquus* збільшується майже вдвічі при підвищенні температури з 20 °С до 25 °С, в той час як для *Chlorella vulgaris* підвищення з 25 °С до 30 °С спричинило зниження їх вмісту у 2,5 рази [124].

Низка робіт [146, 237, 256], присвячена впливу температури на вміст і склад мембранних ліпідів. Її зниження нижче оптимального рівня для росту мікроводоростей, збільшує ступінь ненасиченості ліпідів. Зміна температури у фізіологічно толерантному діапазоні може чинити значний вплив на відносний клітинний вміст класів ліпідів [273].

Температура також впливає на каротиноїдний склад. При підвищенні температури з 25 °С до 35 °С у культур *Chlorococcum sp.* спостерігалось збільшення вмісту астаксантину втричі за рахунок переважно *b*-каротину та кантаксантину [196].

Літературні дані [100], що ґрунтуються на дослідженні інших відділів водоростей показують, що динамічне підвищення температури середовища в діапазоні оптимальних для росту, сприятливо впливає на їх метаболічні характеристики. Перевищення оптимальних значень температури середовища порушує швидкість ферментативних реакцій у клітинах мікроводоростей, а подальше її зростання супроводжується денатурацією багатьох білків, що призводить до метаболічного дисбалансу [63].

Низку досліджень щодо впливу температурного режиму на особливості росту зелених мікроводоростей було виконано співробітниками інституту гідробіології НАН України, зокрема:

– показано значні відмінності формування ростових процесів культур зелених мікроводоростей залежно від температури середовища: *Scenedesmus*

*obtusus* та *Desmodesmus brasiliensis* є термофільними видами, а *Mesastrum* (= *Selenastrum*) *gracile*, *D. subspicatus*, *D. communis* і *Tetraedron caudatum* – мезофільними [43, 177];

– температура впливає на біосинтетичні процеси водоростей. Зокрема, кількість білків є максимальною в діапазоні температур, оптимальних для росту *Chlorophyta*, а вуглеводів та ліпідів – при її підвищенні чи зниженні [177, 186];

– короткочасні коливання температури здатні змінювати співвідношення білків ліпідів та вуглеводів. Зокрема, у *Mesastrum* (= *Selenastrum*) *gracile*, спостерігається помітне збільшення вмісту вуглеводів, а у *Monoraphidium contortum* – ліпідів [180];

– показано, що при підвищенні температури до з 20 до 26 °С, у *D. communis* збільшувалася активність глутаматгегідрогенази, що є однією з її адаптивних реакцій до впливу підвищених температур [217];

– підвищення культурального середовища з 26 до 32 °С стимулює накопичення каротиноїдів у *D. communis* та *T. caudatum*, що очевидно, обумовлено захисною функцією цих пігментів [216].

В той же час, відсутні дослідження спрямовані на з'ясування адаптивного потенціалу зелених мікродоростей за дії динамічного температурного режиму при періодичному культивуванні в штучних умовах. Крім того, кількість видів *Chlorophyta*, що можуть знайти практичне застосування значно більша, тому актуальними є дослідження, що спрямовані на їх пошук, що включає в себе дослідження їх адаптивного потенціалу за дії абіотичних чинників, зокрема температури.

Отже, температура є вагомим чинником, що істотно впливає на ростові та біосинтетичні процеси зелених мікродоростей. Маніпуляції з величиною температури можна використовувати для регуляції вмісту біохімічних компонентів у клітинах водоростей, зокрема для суттєвого підвищення вмісту окремих сполук. Можливість адаптації до екстремальних умов відкриває перспективи одержання штамів мікродоростей зі значно ширшими



діапазонами толерантності до зовнішніх чинників, що розширить потенційні можливості альгобіотехнології.

### **1.3 Роль щільності фотосинтетичного фотонного потоку, спектрального складу та фотоперіоду для відтворення зелених мікроводоростей**

Проходження фотосинтетичних процесів мікроводоростей залежить від світлової енергії, зокрема, його інтенсивності, спектрального складу та фотоперіоду [71, 79, 101, 110, 120, 160, 172, 189, 218, 281, 282]. Кожен із цих показників може виступати лімітуючим як за надлишку, так і за недостатнього надходження та в першу чергу проявляється, через порушення діяльності фотосинтетичного апарату, що згодом позначається на усьому комплексі процесів метаболізму.

Дослідження впливу інтенсивності освітлення на функціонування водоростей вітчизняними вченими проводилися переважно за допомогою одиниць вимірювання – люксів [109, 204, 205] або  $\text{Вт}/\text{м}^2$  [21], проте, дані одиниці вимірювання базуються на сприйнятті яскравості людиною та не відображають кількості світла, що використовується рослинами для фотосинтезу [202]. Відомо [36, 202], що мікроводорості використовують енергію в діапазоні 400-700 нм, тому при вивченні інтенсивності освітлення доцільно виміряти лише їх кількість. Світло на цій спектральній ділянці називається фотосинтетично активною радіацією (ФАР), вимірюється в показниках щільності фотосинтетичного фотонного потоку (PPFD) та виражається в молях на квадратний метр в секунду ( $\text{мкмоль м}^{-2} \text{с}^{-1}$ ). 1  $\text{мкмоль м}^{-2} \text{с}^{-1}$  дорівнює приблизно 55 люкс спектру ФАР, хоча дана пропорція є індивідуальною для конкретного джерела світла.

Адаптація до його режиму може відбуватися за допомогою кількох механізмів: зміна типів і кількості пігментів, швидкість росту, темнове дихання або доступність незамінних жирних кислот [264]. Морфологічна

фотоакліматация супроводжується зміною об'єму клітин, кількості та щільності тилакоїдних мембран. Водорості долають обмеження світла шляхом денатурації мембран хлоропластів [211]. Збільшення його інтенсивності понад межі насичення викликає фотоінгібування [130, 286]. Це пов'язано з порушенням ламелей хлоропластів, викликаним високою інтенсивністю світла та інактивацією ферментів, які беруть участь у фіксації вуглекислого газу. Наприклад, швидкість росту *Dunaliella viridis* зменшувалася до 63 % зі збільшенням інтенсивності світла від 700 до 1500 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> [167].

Рівень PPFD у цьому середовищі зменшується з глибиною, особливо у популяціях з високою концентрацією клітин. Тому, для збільшення поглинання світла, фітобіореактори повинні бути сконструйовані з високим відношенням площі поверхні до об'єму у поєднанні з коротким шляхом світлової енергії [108, 236].

Співробітниками Інституту гідробіології НАН України було встановлено, що:

- реакція різних видів Chlorophyta на зміну інтенсивності освітлення та фотоперіоду є видоспецифічною [204];
- збільшення тривалості темного періоду сприяє росту зелених водоростей [205];
- питомий вміст хлорофілу *a* та каротиноїдів не співпадає із максимальним збільшенням біомаси водоростей. [205];
- формування вмісту білків, вуглеводів і ліпідів у клітинах деяких представників Chlorophyta, культивованих за різних умов освітлення, є видоспецифічним [109];
- істотним регулятором росту зелених водоростей є співвідношення світлового і темного періодів. Найбільш сприятливим для росту зелених водоростей *Scenedesmus obtusus*, *Desmodesmus brasiliensis*, *Selenastrum gracile* є біле світло, світловий період тривалістю 12 год та освітлення інтенсивністю 40 Вт/м<sup>2</sup>. [21];
- зростання інтенсивності освітлення сприяє збільшення величин

пігментного індексу. Максимальною кількістю хлорофілу *b* характеризувалася *Desmodesmus brasiliensis*. [21].

Аналіз літературних даних показав, що для росту зелених мікроводоростей щільність PPFД є оптимальною в межах 30–420 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, в залежності від видової та штамової приналежності. Так, для *Chlorella protothecoid* – 30 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> [121]; *C. minutissima* – 30 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> [74]; *C. vulgaris* – 37,5–250 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> [160, 172, 187, 247]; *C. kessleri* – 120 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> [121]; *Scenedesmus sp. (ADIITEC-II)* та *Scenedesmus sp. (GUBIOTJT116)* – 81 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> [120]; *Botryococcus braunii* – 87,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> [240]; *Desmodesmus communis* – 300 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> [157]; *Coelastrum microporum* та *Cosmarium subprotumidum* – 400 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> [97]; *Selenastrum minutum* – 420 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> [97].

В літературі показано, що оптимальна інтенсивність освітлення для росту зелених мікроводоростей суттєво залежить від умов вирощування, зокрема, в толерантному діапазоні температур та при необхідному вмісті поживних речовин у середовищі її рівень підвищується.

Енергія PPFД суттєво впливає на накопичення біологічно цінних сполук у клітинах зелених мікроводоростей. Зокрема, у низки досліджених видів *Nannochloropsis oculata*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Botryococcus braunii* та *C. vulgaris*, *Dunaliella tertiolecta*, *Scenedesmus sp.*, із підвищенням інтенсивності освітлення вміст ліпідів збільшується, вуглеводів зменшується, а білків є відносно постійним [108, 120, 167]. Проте, існують виключення, зокрема, у *Nannochloropsis sp.* [258] та *Ankistrodesmus falcatus* [129] дані умови призвять до зниження вмісту ліпідів.

Вміст каротиноїдів у клітинах *C. vulgaris* збільшується при підвищенні інтенсивності ФАР понад оптимального для росту рівня [187, 247].

В літературі показано, що зелені мікроводорості мають значну амплітуду пластичності щодо зміни освітлення, яка пов'язана з унікальним набором адаптивних механізмів і реакцій, що змінюють морфологію,

анатомію, ультраструктуру, метаболізм і енергетику фотосинтезуючих систем [237].

При зменшенні інтенсивності освітлення у клітинах зелених мікроводоростей зростає вміст хлорофілу *a* і *b*, водночас, при її збільшенні, зменшується кількість хлорофілів, що безпосередньо беруть участь у фотосинтезі, тоді як вміст вторинних каротиноїдів (наприклад, зеаксантину, *b*-каротину, астаксантину) збільшується. Каротиноїди накопичуються в спеціальних структурах, таких як пластоглобули [86] або цитоплазматичні ліпідні тіла [277], відіграючи важливу роль у запобіганні потрапляння до фотосинтетичного апарату надлишку енергії світла.

Енергія ФАР забезпечує клітину не лише інтенсивність фотосинтезу, а також виконує і регуляторну функцію. Причому фотосинтетичні пігменти в цих процесах не є головними, основну функцію виконують специфічні фоторецептори – фітохромні пігменти. Отже, функціонування рослин визначається не тільки кількістю, але і якістю світлової енергії [21, 93, 160].

Для поліпшення росту мікроводоростей, існують спеціально розроблені лампи, що мають збільшену частку спектру, який краще поглинається хлорофілом *a* і *b*. Зазвичай це два піки: у синьому (400–500 нм) та червоному (600-700 нм) спектрах [119, 169].

Використання довжин хвиль 600–700 нм (червоний) та 400–500 нм (синій), стимулює продуктивність біомаси, швидкість росту та вміст ліпідів у мікроводоростях [207, 287, 288].

Аналіз численних літературних даних щодо впливу синього та червоного спектрів на структурно-функціональні особливості росту зелених мікроводоростей показує певну видоспецифічність. Зокрема, використання червоного спектру при вирощуванні зелених мікроводоростей, збільшує питому швидкість росту *Chlamydomonas reinhardtii* [119], *Scenedesmus obliquus* [100] та *Nannochloropsis* sp. [118]; пришвидшує процес фотосинтезу *Chlorella vulgaris* [160]; значно збільшує об'єм клітин *Scenedesmus obliquus*

[100], а також, накопичення ліпідів у *Chlamydomonas reinhardtii* [119] та *Chlorella vulgaris* [160].

В той же час, при вирощуванні мікродоростей *N. salina*, *N. oceanica*, *N. oculata*, синій спектр значно збільшує виробництво біомаси [132], *Nannochloropsis* sp. [138], *C. vulgaris* [93, 187], а також, підвищує вміст ліпідів у *Ankistrodesmus falcatus*, *C. vulgaris* [156], *Chlorella* sp. [131] та *Nannochloropsis* sp [118].

Співвідношення світлого та темного періодів у циклі є вирішальним для росту мікродоростей [21, 112, 214 .]. Найпоширеніші фіотоперіоди, що використовують при вирощуванні зелених мікродоростей в штучних умовах – 12:12, 16:8 та 18:6 год (світло : темрява). Показано, що за показниками питомої швидкості росту, оптимальний фотоперіод для *Nannochloropsis* sp. – 18:6 год (світло : темрява) [279], для *Chlorella vulgaris* – 16:8 [172; 247], а для *Scenedesmus obtusus*, *Desmodesmus brasiliensis*, *Mesastrum* (= *Selenastrum*) *gracile* – 12:12 [21]

Вплив тривалого фотоперіоду (24:0 світло: темрява) призводить до накопичення продуктів, відтік яких зазвичай відбувається у темновий період, що інгубують процес фотосинтезу [232, 250].

За наявності тривалого темного періоду, відбувається зміна біохімічного складу водоростей, зокрема респіраторна витрата резервних сполук, що, у свою чергу, може призводити до зниження інтенсивності дихання [220].

Показано, що при фотоперіоді 16:8 (світло: темрява), вплив інтенсивності освітлення 15,0 тис лк., у порівнянні з 2,5 та 10,0 тис лк. викликає стимуляцію ростових процесів, накопичення хлорофілу *a* та каротиноїдів у *Mesastrum* (= *Selenastrum*) *gracile*, *D. brasiliensis* та *Sc. obtusus*. Однак, в умовах збільшення темного періоду до 8:16 (світло:темрява), висока інтенсивність освітлення, викликає лише стимуляцію ростових процесів, але зменшує вміст хлорофілу *a* та каротиноїдів [205].

Інтенсивність освітлення, також, визначає спрямованість біосинтетичних процесів зелених мікроводоростей. Вони характеризуються видоспецифічними особливостями накопичення білків, ліпідів та вуглеводів в залежності від нього. Зокрема, найвищий вміст білків у *Tetradesmus (=Acutodesmus) dimorphus* виявлений при 25 клк, *Monoraphidium contortum* – 25 клк, а у *S. obtusus* за обох рівнів коливання цього показника були близькі тенденції. Вміст ліпідів найпомітніше змінювався під впливом короткочасного підвищення інтенсивності освітлення – зменшувався у клітинах *T. dimorphus*, але зростав у *M. contortum* та *S. obtusus* [109].

Таким чином, щільність фотосинтетичного фотонного потоку, спектральний склад та фотоперіод суттєво впливають на ріст зелених мікроводоростей різних рівнів організації: популяційно-видовому та молекулярному. За показниками питомої швидкості росту, оптимальний показник PPFD в залежності від виду зелених мікроводоростей відрізняється більш ніж у 10 разів (30–420 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>), при цьому, вони мають адаптивні механізми та реакції щодо зміни світла. Фотоперіод оптимальним для росту мікроводоростей є при співвідношенні світло : темрява 16:8 або 18:6 год. Маніпуляції з використанням синього та червоного спектрів, що характеризуються різного довжиною хвилі, підвищують певні показники росту та розмноження зелених мікроводоростей, проте їх адаптивний потенціал за дії різних абіотичних чинників розкритий не у повній мірі, та потребує подальших досліджень.

В той же час, існує нагальна потреба в розкритті адаптивного потенціалу зелених мікроводоростей за комплексного впливу параметрів світла – PPFD, спектральний склад та фотоперіод. З'ясування оптимальних меж даних чинників є необхідними при подальшій розробці рекомендацій та технологічної схеми для масового культивування культур, з метою отримання сировини певного призначення.

## **1.4 Значення біогенних елементів в процесах росту і розмноження зелених мікроводоростей**

Склад поживного середовища, в якому розчинено весь комплекс необхідних для мікроводоростей елементів, має важливе значення для інтенсивного вирощування мікроводоростей в штучних умовах [50].

Найпоширенішими поживними середовищами, що використовують при культивуванні зелених мікроводоростей є Фітцджеральда, Тамія, Болда, Прата, Упітіс, Майерса, Кнопа, Буреллі, Заррука, ЧУ-10 тощо [78, 115]. Їх створюють на основі певних положень, що визначають кількісні потреби мікроводоростей в основних фізіологічно необхідних елементах і чинників, які сприяють розширенню або звуженню діапазону їх оптимальної концентрації, взаємодію елементів (антагонізм чи синергізм), можливості використання цих складових для зниження токсичності надлишку окремих елементів. У різних лабораторіях світу проводяться роботи зі створення збалансованих поживних середовищ за макро- й мікроелементами для різних видів зелених мікроводоростей [29, 39].

Численні дослідження впливу азоту та фосфору фосфатів на функціональність різних груп водоростей, також, проводилися в інституті гідробіології НАН України [26, 27, 47, 203]. Водночас, співвідношення та концентрація біогенних елементів в штучних умовах, за яких мікроводорості проявляють адаптивний потенціал, може суттєво відрізнятися від натурних, тому дослідження даної закономірності є актуальними.

Для оптимізації поживного середовища, необхідно знати потребу організму в тих чи інших елементах живлення. Слід зазначити, що оптимальні для росту концентрації мікроелементів не є сталими, а залежать від багатьох чинників: концентрації клітин, рН поживного середовища, температури, інтенсивності освітлення тощо [49].

Головними біогенними елементами, для росту та метаболізму клітин зелених мікроводоростей є мінеральні форми азоту та фосфору. Їхній вміст в

сухий біомасі мікроводоростей варіюється в межах 2 – 15 %. Мінімальні значення у клітинах водоростей спостерігаються при їх нестачі у середовищі, а максимальні – зі збільшенням вмісту біогенних елементів.

*Мінеральний азот* – найбільш необхідний елемент для росту рослин, у тому числі і зелених водоростей, оскільки входить до складу білків, таких як пептиди, а також, ферментів, хлорофілів та молекул, що переносять енергію [173; 243]. За поширеністю є другим елементом у клітинах мікроводоростей після вуглецю (1–14 % їх сухої маси) [199, 200].

Мікроводорості можуть споживати різні форми неорганічного азоту: нітрати, нітрити, амоній або органічний азот (наприклад, сечовина, амінокислоти), та найбільш сприятлива форма відрізняється залежно від виду [26, 159, 241].

Так, зелені мікроводорості в умовах культур характеризуються засвоєнням переважно амонійної форми азоту. В той же час, асиміляція нітратного азоту супрооводжується накопиченням нітритів, які є екологічно небезпечними речовинами [26].

Амонійний азот засвоюється безпосередньо амінокислотами за допомогою ферментів глутамінсинтетази і глутаматсинтази [174, 242], тоді як нітратний спочатку відновлюється до нітритного в цитозолі, та до амонійного азоту в хлоропластах або пластидах [116]. Відповідно, нітратредуктаза та нітритредуктаза каталізують ці реакції відновлення [113, 141]. Додатковий процес відновлення, тобто асиміляція нітратного азоту, вимагає більше енергії, тому амонійний азот вважається більш ефективним, з точки зору використання енергії [239]. Однак, амонійний азот може бути токсичним для мікроводоростей [80, 200], зокрема: транспорт  $\text{NH}_4^+$  порушує внутрішньоклітинний баланс рН [223], процес асиміляції амонійного азоту руйнує вуглецевий і азотний баланс у клітинах [117], тривале використання  $\text{NH}_4^+$  призводить до втрати в клітині таких катіонів, як  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{K}^+$ , що призводить до дисбалансу поживних речовин [163]. При використанні амонійної форми азоту, підвищення рН вище 9, викликає виділення аміаку,



концентрації якого є токсичними. Тому найбільш доцільним є використання азоту у нітратній формі [81].

Форма азоту у середовищі впливає на накопичення біомаси зеленими мікроводоростями. Зокрема, найвища продуктивність культур *Scenedesmus acuminatus* і *Ankistrodesmus fusiformis* спостерігалася при вирощуванні на вуглеамонійних солях [26].

В обмежених або позбавлених азоту культурах мікроводоростей знижується виробництво біомаси, проте підвищується накопичення ліпідів. [122, 133, 270, 285]. Типовою реакцією на обмеження азоту є знебарвлення клітин, що обумовлено зниженням хлорофілів та збільшенням каротиноїдів [111].

Фосфор є біогенним елементом, що необхідний для росту мікроводоростей, поділу клітин, виробництва клітинних компонентів (фосфоліпіди, ДНК, РНК, АТФ), для метаболічних шляхів, які включають передачу енергії та синтез нуклеїнових кислот [114, 148, 274].

Його частка у клітині становить до 1% сирі біомаси водоростей і потреба в ньому відрізняється у різних видів зелених мікроводоростей [114, 123]. Однак, вміст фосфору у клітинах схильний до більших коливань, ніж азот, що пов'язано з їх здатністю накопичувати фосфор «про запас». Тому біомасу водоростей не рекомендується виражати у фосфорних або азотних одиницях, а найбільш достовірним елементом для вираження біомаси водоростей є вуглець.

Цей елемент легко зв'язується з іншими іонами (діоксид вуглецю, залізо), що призводить до їх осадження та недоступності для поглинання клітинами. Зокрема, фосфати у мікроводорях є формою захисту клітин від токсичних металів купруму та кадмію [123].

При нестачі фосфору порушуються фотохімічні та темнові реакції фотосинтезу [50]; відбувається невелика деградація фікобілісом [104]; накопичення *b*-каротину в клітинах *Dunaliella* [86] та накопичення астаксантину в клітинах *Haematococcus* [96].

*Вуглець*, також, є одним із основних поживних речовин, який необхідний водоростям для фотосинтезу. Коли він фіксований водоростями, то має 3 призначення: для дихання, як джерело енергії або як сировина для утворення додаткових клітин [87]. Знижена швидкість фіксації вуглецю означає зменшення швидкості росту водоростей. Для здійснення фотосинтезу всі види водоростей потребують неорганічного джерела вуглецю. Для автотрофного росту вуглець можна використовувати у формі CO<sub>2</sub>, карбонату або бікарбонату. CO<sub>2</sub> у воді може бути присутнім у будь-якій із цих форм, що залежить від величини рН, температури та вмісту поживних речовин.

Солі *калію, магнію і кальцію*, що діють як стабілізатори структури в рибосомах, хромосомах та мембранах є необхідними для обміну речовин, що проходить у клітинах мікрободоростей [206]. Крім того, магній бере участь у синтезі хлорофілу, а калій впливає на осмотичний тиск та водно-сольовий баланс у клітині.

*Сірка* необхідна для синтезу деяких амінокислот та утворення сульфогруп у коферментах. Нестача сірки характеризується збільшенням середнього розміру клітини і руйнуванням хлорофілу [271].

*Залізо* – один із перших елементів, важливість якого була доведена для розвитку мікрободоростей. За його дефіциту, ріст гальмується, фотосинтез знижується та з'являється хлороз [39, 50]. Найчастіше концентрацію заліза у вигляді сульфату, хлориду або цитрату [60] в поживному середовищі підтримують у межах 0,2–0,8 мг/дм<sup>3</sup>. Більшість мікроскопічних водоростей стійкі до наявності заліза в середовищі й гірше витримують його дефіцит, ніж високі концентрації. Наприклад, культури *Dunaliella tertiolecta*, *Ankistrodesmus braunii*, *Chlamydomonas reinhardtii* нормально ростуть і розвиваються за концентрації заліза в поживному середовищі 20—25 мг/дм<sup>3</sup> [60].

*Манган* — мікроелемент, необхідний для росту і розвитку як водоростей, так і супутніх організмів – грибів та бактерій [84]. За його дефіциту, крім гальмування росту, відбуваються морфологічні зміни в клітинах, пригнічується фотосинтез [46]. У водоростей, що не містять гідрогенази (види

родів *Chlorella*, *Ankistrodesmus*, *Scenedesmus*), нестача мангану викликає хлороз [49].

*Цинк* – мікроелемент, що входить до складу ферментів, які регулюють фосфорний, вуглеводний, білковий обміни, інтенсивність фотосинтезу та окисно-відновний потенціал у клітинах. Його вміст у ферментах – 0,2–0,3 %. [60]. Для нормального росту зелених водоростей концентрація цинку в поживному середовищі має становити 0,08–4,0 мг/дм<sup>3</sup> [49].

*Мідь* у мікрководоростях відіграє важливу роль у реакціях фотосинтезу. Для водоростей мідь потрібна у дуже низьких концентраціях, як домішка до солей. Симптоми нестачі міді виявляються у *Chlorella* за її концентрації, нижчої від 0,006 мг/л. Токсичність її високих концентрацій пов'язують з пригніченням фотосинтезу, особливо за високої інтенсивності світла [49, 60].

*Молибден* – незамінний елемент для відновлення нітратів, оскільки він входить до складу нітратредуктази, яка каталізує процес відновлення нітратів до нітритів. За відсутності молибдену в клітинах виявляються ознаки голодування на азот, оскільки водорості не здатні відновлювати нітрати до нітритів та синтезувати амінокислоти і білки. Однак, при заміні нітратів на амонійний азот або сечовину, мікрководорості не відчують його дефіциту. [49].

Основні фізіологічно необхідні мікроелементи для мікрководоростей — залізо, манган, цинк, мідь, молибден за оптимальних умов вирощування поглинаються клітинами водоростей у співвідношеннях 100-250 : 10 : 2 : 1 : 0,5 відповідно.

*Кремній* відіграє роль утримання заліза в поживному середовищі у доступній для водоростей формі. Крім того, він входить до складу їх клітинної оболонки.

В той же час, токсичними для мікроскопічних водоростей є *кадмій*, *нікель* і *хром*, оскільки в певних концентраціях (до 10 мг/дм<sup>3</sup>) поживного середовища пригнічують ріст культур, порушують пігментну систему й біосинтез білка. Менш токсичні – ванадій, вольфрам, алюміній, пригнічують

ріст і фізіологічні функції клітин мікроскопічних водоростей у концентраціях до 50 мг/дм<sup>3</sup>. Важливо зазначити, що за низького забезпечення поживного середовища фізіологічно необхідними мікроелементами (N, P, C) токсичність супутніх елементів (Cd, Ni, Cr) виявляється за нижчих їх концентрацій у середовищі [49].

Отже, ріст та розмноження культур зелених мікроводоростей залежать насамперед від складу поживного середовища, зокрема концентрацій та співвідношення азоту і фосфору фосфатів. Недостатня кількість одного із цих елементів у середовищі знижує швидкість поділу клітин, біосинтетичні процеси та порушує внутрішні структури клітин. Окрім того, оптимальні для росту зелених мікроводоростей концентрації елементів не є сталими, а залежать від низки чинників: щільності суспензії клітин, рН, наявності хелатуючих агентів, інтенсивності освітлення тощо. Тому, встановлення адаптивного потенціалу зелених мікроводоростей, першочергово залежить від підбору поживного середовища, що буде узгоджений з їх технологією культивування.

### **1.5 Використання зелених мікроводоростей в якості харчової, кормової, технічної і фармакологічної сировини та біологічного відновлення якості природних і стічних вод**

Культивування мікроводоростей відносно нова галузь біотехнології. Так, перші спроби штучного вирощування альгологічно чистої зеленої водорості *Chlorella vulgaris* зроблені М. Беєрінком у 1890 р. Пізніше О. Варбург почав дослідження процесу фотосинтезу цієї мікроводорості, для чого на початку ХХ століття налагодив її лабораторне культивування [50]. На основі досліджень, проведених у США, Німеччині та Китаї, були розроблені принципи масового культивування мікроводоростей, після чого, у 1960-х роках в Японії розпочалося промислове культивування *C. vulgaris* [98].

Виробництво біомаси зелених мікроводоростей поступово стає традиційним для багатьох країн світу. В Угорщині регулярно відбуваються симпозиуми Європейського товариства мікроводоростевих біотехнологій, де аналізуються нові досягнення та поточні завдання галузі. У США перші підприємства по вирощуванню мікроводоростей у штучних ставках створені ще у 1977 р. і промислове виробництво мікроводоростей поступово нарощує обсяги. Найбільші потужності зосереджені у США, Китаї, Індії, Японії, Таїланді, Німеччині, Австралії, Ізраїлі. Відомими виробниками біомаси мікроводоростей є компанії Royal, DutchShell (Гавайські острови), AlgaeBioFuels та Solazyme (США), Aquaflow Bionomic Corporation (Нова Зеландія), Mitsubishi (Японія). У Європі компанія Ingrepro B.V. (Голандія) пропонує технологічні схеми одержання збагаченої ліпідами біомаси мікроводоростей [181].

У країнах Європи, Азії та Америки відомі різноманітні продукти з *Chlorella*: фірма «Джепан хлорелла» виробляє її біомасу для харчових цілей, на острові Тайвань щорічно одержують біля 1,5 тис. т сухої біомаси, Малайзія і Філіпіни витрачають на харчові потреби більше 500 т водоростей.

У Середній Азії традиційним є вирощування мікроводоростей для потреб сільського господарства – тваринництва, рослинництва, звіроводства та шовківництва [19, 31].

В Україні активне вирощування мікроводоростей почалося з 70-х років минулого століття, з подальшим використанням у тваринництві [2].

Значний доробок у цьому напрямі було зроблено науковцями Інституту гідробіології НАН України. Зокрема, виконано великий комплекс біотехнологічних робіт з пошуку нових напрямків використання біомаси мікроводоростей [11, 20, 55].

Для потреб тваринництва та рибництва активно розроблялися технології культивування мікроводоростей у трубчастих фотобіореакторах і впровадження її в цеху промислового вирощування мікроводоростей на базі Ладжинської ТЕЦ [6, 175, 238].

В інституті створена колекція живих культур мікроводоростей, що існує та активно використовується до теперішнього часу [28, 29].

На сьогодні, у світовій практиці водорості використовують доволі широко, що зумовлено їх фізіолого-біохімічними особливостями. Серед Chlorophyta найбільш відомі і досліджені *Chlorella vulgaris* Beijer, *Dunaliella salina* Teod та *Desmodesmus communis* E.Negew. Проте, для практичного застосування придатна значно більша кількість видів водоростей.

Сучасний світовий досвід показує, що біомаса мікроводоростей все частіше стає важливим додатковим джерелом цінної природної сировини для технічного, кормового, харчового, косметичного, лікувально-профілактичного й фармакологічного застосування [8, 49, 50, 85, 149, 248].

Деякі з мікроводоростей відзначаються терапевтичним та лікувально-профілактичним ефектом при порушенні діяльності імунної, ендокринної, травної, серцево-судинної і нервової системи тварин і людини, мають протипухлинну, протидіабетичну, радіопротекторну та імуномодулюючу активність. Вони знайшли застосування у медичній та фармакологічній галузях, у дієтичному харчуванні, лікувальній косметології, у виробництві біологічно активних добавок [221, 248].

У низки мікроводоростей виявлено регенеративні властивості, їх використовують для лікування ран та опіків. Зокрема, в Інституті гідробіології НАН України розроблено спосіб одержання з мікроводоростей хлорофіл-каротинової пасти – основи лікувального препарату «Альгофін», мазі з регенеративними та протизапальними властивостями [57].

Загалом, мікроводорості є перспективною сировиною і для одержання антиоксидантів, вітамінів, біомаркерів,  $\beta$ -каротину, фікоціаніну та ін. Ці організми є багатим джерелом натуральних харчових барвників, що знаходять застосування, зокрема, у дитячому харчуванні. Підвищенню інтересу до застосування водоростей сприяє їхня здатність до спрямованого біосинтезу певних біологічно активних речовин – йод-вмісних сполук гормональної природи, алкалоїдів, стероїдів тощо.

Перевагами застосування мікроводоростей у тваринництві є збільшення продуктивності тварин за рахунок підвищення імунітету й зменшення витрат на ветеринарні препарати, збільшення ефективності споживання кормів, можливість цілорічного їхнього збагачення вітамінами й натуральними біологічно-активними сполуками. Останнє набуває особливо великого значення, оскільки наразі значну кількість продуктів виробляють із застосуванням харчових замінників та синтетичних препаратів, що становить суттєву небезпеку для живих організмів, що їх споживають.

Найбільш широко для потреб тваринництва використовують *Chlorella vulgaris* та *Arthrospira platensis* [152, 168, 263].

Досить ефективним вважається додавання до складу комбікормів нативної суспензії водоростей, в якій міститься значна кількість цінних позаклітинних речовин – антибіотик хлорелін, арахідонова кислота, амінокислоти, вітаміни, ферменти, особливо на початкових етапах росту культури [147, 208]. Введення в раціон харчування курей-несучок та курей-бройлерів 1–5 % мікроводоростей *Chlorella vulgaris* показує сприятливий вплив на їхнє здоров'я, продуктивність та якість продукції [127, 234, 267].

В тваринництві і птахівництві позитивні результати одержані при використанні й інших зелених водоростей – із родів *Chlorococcum* та *Scenedesmus* [209]. Слід додати, що біомасу водоростей можна збагачувати йодом, селеном або іншими необхідними елементами [9].

Мікроводорості у вигляді сухого порошку, пасти або суспензії можуть знайти застосування у рослинництві для підвищення родючості і мікробіологічної активності ґрунтів, збільшення врожайності сільськогосподарських культур і прискорення їхньої вегетації, зниження норм застосування мінеральних добрив, пестицидів та регуляторів росту [45]. Найбільш позитивно впливають водорості на врожай рослин в умовах помірної зони та неполивного землеробства.

Для рекультивації ґрунтів, особливо зрошуваних, доцільне використання суспензії клітин зелених водоростей (*Chlorella vulgaris* та

представників р. *Scenedesmus*). Свого часу було доведено ефективність використання як цінного органічного добрива сестону під час «цвітіння» дніпровських водойм [42]. Сестон може також стати основою для виробництва екологічно чистого клею «Фітон», розробленого за участю спеціалістів з Інституту гідробіології НАН Украни [25, 56], перспективного для дражування насіння сільськогосподарських рослин.

Значна кількість досліджень стосується можливості використання біомаси водоростей для створення альтернативних видів палива – біодизелю, біоетанолу, водню, метану. З цієї точки зору інтерес становлять такі водорості, як *Chlorella sp.*, *Neochloris oleoabundans*, *Nannochloropsis sp.*, *Botryococcus braunii*, *Dunaliella tertiolecta*, *Scenedesmus* TR-84 [50, 103, 195, 259].

Як відомо, мікробіодорості містять нейтральні і полярні ліпіди. Полярні ліпіди здебільшого синтезуються у сприятливих умовах, відзначаються високою біологічною активністю і зазвичай використовуються як харчові та біологічно активні добавки. Нейтральні ліпіди більше накопичуються у несприятливих умовах чи при стресових впливах, є основними запасними речовинами клітин і перспективні для виробництва біопалива, біополімерів тощо [65, 89, 162]. Таке біопаливо є CO<sub>2</sub> нейтральним, його використання зменшить кількість газоподібних викидів, що сприяють глобальним змінам клімату.

З метою вдосконалення технологій одержання біопалива продовжуються пошуки перспективних видів і штамів мікробіодоростей, шляхів оптимізації їхнього культивування і підвищення кількості ліпідної фракції, методів переробки водоростевої маси, зокрема, способів руйнування клітинної оболонки і екстракції ліпідних речовин, розробка конструкцій фотобіореакторів тощо [65, 89, 162]. Поліпшення режиму термічної обробки водоростевої біомаси дозволяє скоротити її тривалість і перетворювати на т. зв. «штучну нафту», від 50 до 65 % сировини. Така технологія не потребує попереднього зневоднення біомаси, тоді як зазвичай висока вологоємність перешкоджає повному розділенню фаз і знижує ефективність екстракції



ліпідів. Додаткова каталітична обробка біомаси мікродоростей дозволяє включати в процес одержання біопалива ще й протеїни і вуглеводи, деструкція яких збільшує вихід продукту [103, 195, 259].

Як сировину для альтернативної біоенергетики запропоновано низку мікродоростей, що характеризуються високим вмістом ліпідів: *Chlorella sp.*, *Neochloris oleoabundans*, *Nannochloropsis sp.*, *Botryococcus braunii*, *Dunaliella tertiolecta*, *Scenedesmus* TR-84 [65, 275]. Крім того, зелені водорості розглядають як перспективні об'єкти, здатні продукувати водень для водневої енергетики [17], а вуглеводні сполуки багатьох з них можуть бути використані як субстрат для одержання біоетанолу [58].

Мікродорості є одним з найважливіших компонентів у системі біологічного очищення господарсько-побутових та промислових стічних вод. Як відомо, в Україні на більшості очисних споруд застосовують традиційні технології, які не забезпечують ефективне видалення фосфатів та нітратів. Водночас мікродорості здатні використовувати для росту саме біогенні елементи, крім того вони насичують воду киснем, що прискорює окисні процеси і мінералізацію органічних домішок у стічних водах [252]. Показана можливість використання зелених водоростей для біоремедіації водного середовища, забрудненого нафтопродуктами та відходами целюлозно-паперових підприємств [92, 224]

Висока концентрація сполук фосфору, що надходить у водойми, викликає інтенсивний ріст біомаси вищих водяних рослин та водоростей, що зумовлює «цвітіння води» з подальших виділенням токсинів деякими видами. У зв'язку з цим, співробітниками Інституту гідробіології НАН України проведено низку досліджень, присвячених перспективам очистки водних екосистем від синтетичних миючих засобів за допомогою гідробіонтів різних трофічних рівнів, зокрема Chlorophyta [4, 13, 61].

Вирощування зелених водоростей на стоках тваринницьких комплексів дозволяє вилучити надлишок органічних речовин, нормалізувати запах та

колір, при цьому значна частина азоту повертається у біомасу водоростей і знову може надходити у корм тваринам [135].

Культивування водоростей дозволяє використовувати такі побічні продукти технологічних процесів, як надлишок теплоти та вуглекислого газу, зменшуючи їх надходження в атмосферу. В інтенсивних умовах вирощування водорості здатні видалити 70 % CO<sub>2</sub> протягом восьми годин [99]. Зокрема, показана можливість культивування деяких зелених хлорококових водоростей з використанням концентрацій CO<sub>2</sub> у газо-повітряній суміші від 0,2 до 16 % [244].

Дослідження, зроблені вченими Інституту гідробіології НАН України показали, що зелені мікрководорості родів *Chlorella* та *Desmodesmus* відзначаються значним потенціалом асиміляції діоксиду вуглецю, суттєво збільшуючи при цьому інтенсивність росту [253, 254].

Відомо, що при утворенні 1 кг фітомаси мікрководорості поглинають з навколишнього повітряного простору понад 1,8 кг CO<sub>2</sub>, крім того, вони здатні асимілювати оксиди азоту з частковим перетворенням у газоподібний азот, а також інші мінеральні речовини, до складу яких входять біогенні елементи фосфор, сульфур, калій, магній, кальцій тощо [54]. У зв'язку з цим, актуальним є пошук штамів водоростей з підвищеною здатністю до асиміляції CO<sub>2</sub> та стійкістю до оксидів сульфуру та нітрогену [275].

Одним із можливих варіантів боротьби з «цвітінням» водойм синьозеленими водоростями є альголізація – внесення концентрату зелених мікрководоростей, які здатні кункурувати за ресурсну базу азоту і фосфору [7, 59].

Для очищення стічних вод лісопромислового комплексу можуть бути застосовані *Nostoc muscorum* Elenkin, *Scenedesmus acutus* Meyer, *Chlorella vulgaris* Beijer., види р. *Neosporangiococcum*, для очищення міських стічних вод – *Acutodesmus obliquus*. Ці водорості знижують біохімічне споживання кисню у стоках, акумулюють ферум, здатні розкладати фенольні сполуки тощо [164].

Показано, що представники р. *Chlamidomonas* активно продукують вуглеводи, р. *Ankistrodesmus* – ліпіди, р. *Dunaliella* – каротин і токоферол [19]. Для одержання кетокаротиноїда астаксантина, надзвичайно цінного препарату для аквакультури, вміст якого досягає 4 % у сухій речовині клітин, у Японії (Fuji Chemical Industry) та США (Cyanotech) освоєно вирощування *Haematococcus pluvialis* Flotow [66].

На сьогоднішній день, в Україні, потреби задовольняються в основному за рахунок зарубіжних поставок, бо існує лише декілька підприємств вітчизняного виробництва. Зокрема, Барська філія «Цукорпромводоналадка» (Вінницька область) вирощує *Chlorella* та *Scenedesmus* для очищення стічних вод підприємств харчової промисловості [3], а також, «Хлорелла Україна» (м. Біла Церква) пропонує хлорелу для різноманітних потреб у вигляді суспензії, концентрату, пасти чи сухого порошку [51].

Останнім часом наша держава намагається сприяти розвитку аква- та марикультури у відповідності зі світовими стандартами, з метою виробництва органічної продукції аквакультури, зокрема, вирощування низки видів прісноводної і морської риби та моллюсків. У зв'язку з цим, перспективним є також вирощування мікродоростей, як компонента кормів для риби та безхребетних. Перешкодою є неготовність підприємців до довгострокових інвестицій та досить висока собівартість водоростевої продукції. Сприяти її зниженню може активізація дослідницьких робіт, спрямованих на підвищення продуктивності водоростей та збільшення виходу цільових продуктів, вдосконалення методів вирощування і комплексної переробки біомаси тощо.

Аналіз досягнень альгобіотехнології свідчить про доцільність створення в Україні нової повноцінної галузі сільського господарства для вирішення різнопланових технологічних завдань, що стосуються очищення стічних вод, одержання натуральних збалансованих кормів для тварин, риби та птиці, а також сировини для подальшої переробки (отримання біологічно цінних сполук, біогазу, біодизелю) [181]. З цією метою, враховуючи значний науково-практичний доробок вчених, доцільно створити реєстр культур водоростей з

різними діапазонами екологічної валентності та корисних фізіологічних властивостей, вивчити адаптивний потенціал різних видів водоростей щодо коливань абіотичних та біотичних чинників, визначити шляхи цілеспрямованої регуляції продуктивності, біохімічного складу й накопичення біологічно цінних сполук у біомасі.

Приведений літературний огляд наглядно показує багатогранність використання сировини різних видів Chlorophyta. Враховуючи те, що останнім часом в Україні значно скоротилося виробництво даного продукту, необхідним є активізація дослідницьких робіт, спрямованих на підвищення продуктивності водоростей, збільшення виходу цільових продуктів, вдосконалення методів вирощування та комплексної переробки біомаси. Тому, нагальною необхідністю є проведення комплексних експериментальних досліджень, направлених на встановлення адаптивного потенціалу низки зелених мікроводоростей за дії провідних абіотичних чинників: температура, енергія ФАР та поживне середовище.

## РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

В основу дисертаційної роботи покладено результати експериментальних досліджень, які проведено на базі біотехнологічного комплексу Інституту гідробіології НАН України.

Об'єктами для досліджень обрані альгологічно чисті культури зелених мікроводоростей (Chlorophyta), що зберігаються в Колекції культур (HPDP) Інституту гідробіології НАН України [28], зокрема це *Scenedesmus obtusus* Meyen HPDP-113, *Scenedesmus ellipticus* Corda HPDP-117, *Desmodesmus communis* E.Hegew HPDP-109, *Desmodesmus subspicatus* (Chodat) E. Hegew. et A. Schmidt HPDP-103, *Desmodesmus brasiliensis* (Bohlin) E.Hegew HPDP-102, *Tetradesmus obliquus* (Turpin) M.J. Wynne (= *Acutodesmus obliquus* (Turpin) E. Hegew. et Hanagata) HPDP-104, *Tetradesmus dimorphus* (Turpin) M.J.Wynne (= *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) P. Tsarenko) HPDP-108, *Messastrum gracile* Reinsch (= *Selenastrum gracile* Reinsch) HPDP-115, *Monoraphidium griffithii* (Berkeley) Komark.-Legn. HPDP-105, *Chlorella vulgaris* Beijerinck HPDP-119.

Вибір даної низки культур обумовлений тим, що з літературних даних, про них відомі досить нечисленні фрагментарні дані, які в повній мірі роблять їх перспективними об'єктами альгобіотехнології для отримання сировини із заданими характеристиками, проте адаптивний потенціал розкритий не у повній мірі.

**Дослідження впливу температурного режиму** на особливості росту та розмноження зелених мікроводоростей проводили у спеціально розроблених аквакамерах, обладнаних обігрівачами з терморегулятором, світильниками та реле часу, авторами яких є Кірпенко Н. І., Крот Ю. Г., Леонтєва Т. О. та Усенко О. М. (рис. 2.1).



Рис. 2.1 Аквакамера для дослідження дії температури за константного та динамічного режимів на ріст та розмноження мікроводоростей при неперервному культивуванні.

За константного температурного режиму упродовж періоду культивування середовище підтримували на рівні  $22\pm 1$ ,  $25\pm 1$ ,  $28\pm 1$ ,  $31\pm 1$  та  $34\pm 1$  °C. Водночас, у динамічному режимі температуру кожної доби підвищували на 3 °C, починаючи з  $22\pm 1$  °C і до  $34\pm 1$  °C. Вибір даних температур обумовлений тим, що більшість зелених мікроводоростей є мезофілами, тобто активно розвивають в діапазоні помірних температур 20–35 °C (рис. 2.2).



Рис. 2.2 Культура *A. dimorphus*, вирощена за різних статичних температур в діапазоні  $22-34\pm 1$  °С.

Посів інокуляту проводили на середовище Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горема [41], у колби об'ємом  $250 \text{ дм}^3$ . Використовували лампи з щільністю PPFД  $47,5 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$  та в режимі із чергуванням світло : темрява – 16:8 год. Ручне перемішування проводили 1 раз на добу. Експозиція тривала щонайменше до закінчення фази експоненційного росту та, зазвичай, становила 29–34 доби.

**Дослідження впливу щільності фотосинтетичного фотонного потоку (PPFD) на особливості росту та розмноження зелених мікроводоростей проводили шляхом установки дослідних колб до аквакамери, обладнаної лампами, з 3 режимами PPFД: 22,1; 39,0 та  $47,5 \text{ мкмоль м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ , авторами якої є Крот Ю. Г., Леонтєва Т. О., Усенко О. М., Мардаревич М. Г. (рис. 2.3).**





Рис. 2.3 Аквакамера для дослідження впливу PPFD та спектрів з різними довжинами хвиль на ріст зелених мікродоростей.

Температуру середовища регулювали для кожної культури окремо, на основі попередньо отриманих даних (розділ 3), що сприяла найвищим показникам питомої швидкості росту. Фотоперіод – 16:8 год (світло : темрява). Посів проводили на середовище Фітцджеральда у колби на 250 дм<sup>3</sup>. 1 раз на добу проводили ручне перемішування.

**Дослідження впливу спектрального складу з різною довжиною хвилі** на особливості росту та розмноження зелених мікродоростей проводили у спеціально розробленій аквакамері (див рис. 2.3) обладнаній фітолампами, що забезпечували 3 режими: білий (400–700 нм), червоний (580–700 нм), синій (400-480 нм). Дані спектри обрані згідно літературних даних [119, 169], як найбільш оптимальні для росту та накопичення біологічно цінних сполук у клітинах зелених мікродоростей.



Температуру середовища регулювали для кожної культури окремо, на основі попередньо отриманих даних (розділ 3), що сприяла найвищій питомій швидкості росту ( $22\pm 1$ ,  $25\pm 1$ ,  $28\pm 1$ ,  $31\pm 1$  або  $34\pm 1$  °C). Фотоперіод - 16:8 год (світло : темрява). Посів проводили на середовище Фітцджеральда у колби на  $250 \text{ дм}^3$ . 1 раз на добу проводили ручне перемішування.

**Дослідження впливу поживних елементів** на особливості росту та розмноження зелених мікроводоростей проводили у спеціально розроблених аквакамерах, обладнаних обігрівачами з терморегулятором, світильниками та реле часу (див. рис. 2.1).

Температуру середовища регулювали для кожної конкретної культури водоростей окремо, на основі попередньо отриманих даних (розділ 3), що сприяла найвищим показникам питомої швидкості росту ( $22\pm 1$ ,  $25\pm 1$ ,  $28\pm 1$ ,  $31\pm 1$  або  $34\pm 1$  °C). PPFD =  $47,5 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ . Фотоперіод – 16:8 год (світло : темрява). Посів культур водоростей проводили на середовище Фітцджеральда у колби на  $250 \text{ дм}^3$ . 1 раз на добу проводили ручне перемішування.

Для вирощування водоростевих культур виготовляли поживні середовища, що зазвичай використовують при культивуванні зелених мікроводоростей, склад яких є сталий наведений у літературі: Фітцджеральда в модифікації Цендера і Горема, Болда та Тамія [41]. Наважки солей вносили у середовище в строгому порядку, з використанням дистильованої води.

Зелені мікроводорості з колекції культур Інституту гідробіології НАН України HPDP (Culture Collection of Algae in Hydrobiological Practice, Distribution and Perspective) вирощували на рідкому середовищі Фітцджеральда. Задля уникнення стресу при переведенні їх на інше середовище, в якості інокуляту використовували культури після попереднього витримування не менше 1-2 міс на відповідних середовищах (Болда та Тамія).

Посів культур мікроводоростей здійснювали у стерильному боксі. В простерилізовані конічні колби об'ємом  $0,5 \text{ дм}^3$  вливали поживне середовище і 15 % інокуляту та закривали ватно-мерлевою пробкою.

Температуру середовища підтримували на рівні  $25 \pm 1$  °C. В якості джерела світла використовували лампи з щільністю PPFD  $47,5$  мкмоль  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$  в режимі із чергуванням світло : темрява – 16:8 год. Крім того, 1 раз на добу проводили ручне перемішування (рис. 2.3).

*Методи досліджень на популяційно-видовому рівні:* чисельність клітин із подальшим перерахунком у питому швидкість росту ( $\mu$ ) та коефіцієнт збільшення чисельності клітин ( $k$ ); розмірні характеристики водоростевих клітин.

*Методи досліджень на молекулярному рівні:* первинна продукція і деструкція (дихання) органічної речовини методом склянок у кисневій модифікації; вміст білків, ліпідів, вуглеводів у клітинах; вміст амонійного азоту, нітратів, нітритів та фосфору фосфатів у середовищі.

**Чисельність клітин мікроводоростей** підраховували під світловим мікроскопом Ломо Микмед-2 з використанням камери Горяєва у п'яти повторностях [41].

Обрахунок чисельності клітин ( $N$ ) у  $\text{см}^3$  проводили за формулою:

$$N = m \cdot 10^4$$

де,  $m$  – кількість клітин під мікроскопом у 25 великих квадратах.

Дані представлені графіками, з кривими росту, де  $R^2$  – достовірність апроксимації (Розділи 3, 4, 5).

**Питому швидкість росту ( $\mu$ , доба<sup>-1</sup>)**, що показує приріст біомаси за одиницю часу на одиницю біомаси, розраховували на експоненційній фазі росту за формулою [246]:

$$\mu = \frac{\ln N^t - \ln N^0}{\Delta t},$$

де  $N^0$  – кількість клітин під мікроскопом у 25 великих квадратах на початку досліджуваного періоду часу;

$N^t$  – кількість клітин під мікроскопом у 25 великих квадратах наприкінці досліджуваного періоду часу;

$t$  – досліджений період часу Результати обробляли статистично із застосованням  $t$ -критерію Стьюдента у Excel 2010.

**Коефіцієнти збільшення чисельності клітин ( $k$ )** визначали за формулою [50]:

$$k = \frac{\Delta X}{\Delta t}$$

де  $X$  – чисельність клітин у  $\text{см}^3$ ;

$t$  – досліджений період часу.

**Визначення розмірних характеристик клітин** мікроводоростей проводили за допомогою мікроскопу Axio Imager-2 та програмного забезпечення Axio Vision 4. Вимірювали довжину та ширину клітин мікроводоростей за допомогою мікрометрів ( $\mu\text{m}$ ) наприкінці фази експоненційного росту, у 50 повторностях (рис. 2.4).

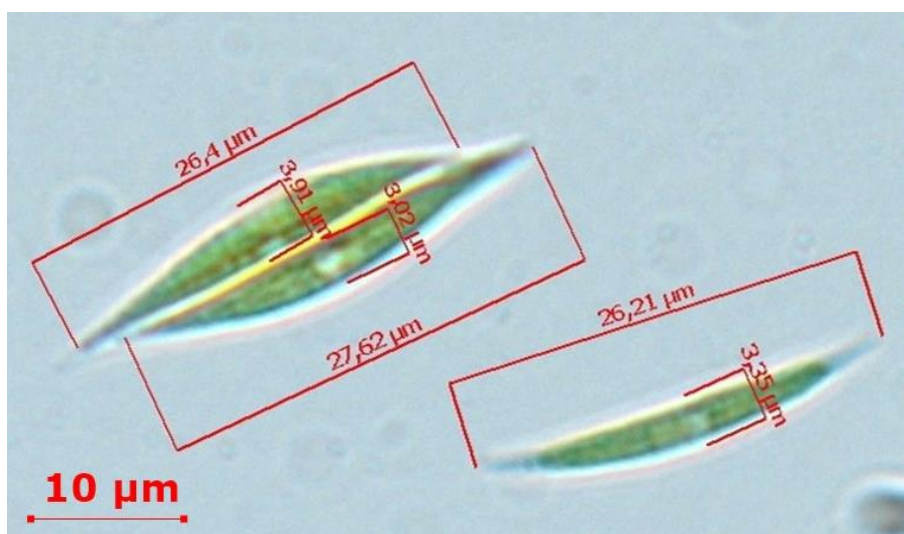


Рис. 2.4 Визначення довжини ( $\mu\text{m}$ ) та ширини ( $\mu\text{m}$ ) клітин на прикладі *M. griffithii*.

**Об'єм клітин мікроводоростей** вимірювали у  $\mu\text{m}^3$  стереометричним методом, використовуючи загальновідомі геометричні формули, з використанням лінійних розмірів конкретного виду водоростей, до яких порівнювали форму клітин конкретного виду [91].

Наприклад, для *D. brasiliensis* використовували формулу сферичного еліпсоїду:

$$V = \frac{\pi}{6} d^2 \cdot h,$$

а для *T. dimorphus* та *M. griffithii* - конусів:

$$V = \frac{\pi}{12} d^2 \cdot h \cdot 2,$$

де V – об'єм клітини; d – діаметр (ширина) клітини; h – довжина клітини.

Обрахунки розмірів та об'єму проводили у програмі MS Excel 2010. Результати представлені у вигляді  $M \pm m$  (M – середнє арифметичне; m – стандартне відхилення).

**Визначення біомаси** проводили розрахунково-об'ємним методом у мг/дм<sup>3</sup> [68]. Знайдений для кожного виду об'єм клітини (μm<sup>3</sup>) множили на чисельність клітин (млн/см<sup>3</sup>) та відносну щільність прісноводних водоростей до води, яка становить 1,05.

Суша біомаса становила 20% від отриманого значення.

**Первинну продукцію та деструкцію (дихання)** визначали методом склянок у кисневій модифікації [68, 69]. Для кожної досліджуваної культури мікробіодоростей використовували 4 кисневі склянки об'ємом 50 см<sup>3</sup>: 1 – контрольна, для визначення початкової концентрації кисню, 2 світлі й 1 темна склянка для експонування проб, які заповнили частиною дослідної проби. Темні склянки вміщували у чорні непрозорі мішечки та разом зі світлими повертали в звичні для них умови культивування на 1 годину.

Для визначення кисню методом Вінклера на титрування пробу фіксували 1–2 см<sup>3</sup> KI + KOH + MnCl<sub>2</sub>. Після відстоювання, утворений осад розчиняли 2–4 см<sup>3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:1), і титрували розчином гіпосульфїту до солом'яно-жовтого кольору. В якості індикатору використовували кілька крапель крохмалю до появи синього кольору.

Кількість кисню, що знаходиться у воді розраховували за формулою:

$$O_2 = \frac{8 \cdot 1000 \cdot n \cdot x}{v_1 - v_2}$$

Де,  $n$  – нормальність гіпосульфиту, що становить 0,02;  $x$  – об'єм гіпосульфиту, витрачений на титрування,  $\text{см}^3$ ;  $V_1$  – об'єм взятої для титрування аліквоти,  $\text{см}^3$ ;  $V_2$  – об'єм внесених в експериментальну склянку реактивів для фіксації розчиненого кисню –  $\text{KI} + \text{KOH} + \text{MnCl}_2$  та  $\text{H}_2\text{SO}_4$  для розчинення осаду, що утворився після додавання у склянку фіксаторів,  $\text{см}^3$ .

Валову первинну продукцію ( $A_B$ ) розраховували за різницею вмісту кисню у різних склянках,  $\text{мг/дм}^3$ :

$$A_B = (\text{O}_2_{\text{світ}} - \text{O}_2_{\text{тем}}) \cdot t,$$

Дихання (деструкцію,  $R_{II}$ ) по формулі:

$$R_{II} = (\text{O}_2_{\text{контр}} - \text{O}_2_{\text{тем}}) \cdot t,$$

Чисту продукцію ( $A_C$ ) обчислювали:

$$A_C = (A_B - R_{II}) \cdot t,$$

де  $t$  - експозиція (години, доба).

Для **визначення біохімічних показників** біомасу мікроводоростей відділили від поживного середовища через фільтрувальний папір (стрічка №4). Отриману сиру біомасу у трьох повторностях зважували та зберігали у замороженому стані до аналізу. Паралельно встановлювали масу сухої речовини водоростей шляхом висушування наважок при температурі  $105^\circ\text{C}$  до постійного значення.

В подальшому для проведення біохімічних аналізів біомасу гомогенізували у фарфоровій ступці із кварцевим піском. Визначали загальний вміст (%) білків згідно методики Лоурі [229], ліпідів згідно Фолча [184] (рис. 2.5) та вуглеводів [64]. Результати обробляли статистично із застосуванням  $t$ -критерію Стьюдента у Excel 2010.

**Вміст біогенних елементів** (амонійного азоту, нітратів, нітритів та фосфору фосфатів) у середовищі визначали за загальноприйнятими в гідрохімії методами досліджень [53, 40].

Весь масив експериментальних даних опрацьовували статистично у Excel 2010 із застосуванням критерію Стьюдента та  $M \pm m$  ( $M$  – середнє арифметичне,  $m$  – стандартна похибка).

### **РОЗДІЛ 3 ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ХАРАКТЕРИСТИК CHLOROPHYTA ЗАЛЕЖНО ВІД ТЕМПЕРАТУРНИХ УМОВ**

Температура є провідним абіотичним чинником, що впливає на ріст та метаболічну активність мікроводоростей. Дослідження особливостей росту мікроводоростей залежно від температури оточуючого середовища важливе як з теоретичної, так і з практичної точки зору [43, 95, 140, 183, 216, 230, 249, 262]. Зокрема, встановлення меж оптимальних значень різних видів водоростей, особливо в умовах глобальних кліматичних змін, становить інтерес в рамках проблеми збереження біорізноманіття та необхідне для прогнозування формування біопродуктивності водойм і водотоків.

З іншого боку, мікроводорості знаходять все більше практичне застосування для вирішення низки глобальних проблем – продовольчих, медичних, енергетичних, охорони довкілля, освоєння космічного простору тощо [8, 179].

При цьому, діапазон оптимальних температурних значень на різних фазах росту мікроводоростей є однією з найголовніших характеристик при виборі штамів для промислового вирощування як джерела органічної сировини різноманітного призначення [95, 230].

В зв'язку з цим, постає нагальна необхідність проведення досліджень, що спрямовані на визначення оптимальних та критичних величин для різних видів зелених мікроводоростей за дії константних та динамічних температурних режимів їх культивування в штучних умовах. Виконання цих робіт є необхідною умовою для встановлення адаптивного потенціалу Chlorophyta при вирощуванні в штучних умовах.

### 3.1 Особливості росту мікроводоростей за дії константних та динамічних температур

На популяційно-видовому рівні організації культур мікроводоростей, проаналізовано особливості росту низки перспективних для вирощування в штучних умовах видів Chlorophyta за дії константних температур. Так, було порівняно інтенсивність росту культур мікроводоростей із родин Scenedesmaceae, Selenastraceae та Chlorrellaceae на експоненційній фазі за періодичного культивування [34].

Виявлено, що штами *Scenedesmus obtusus*, *Tetradesmus* (= *Acutodesmus*) *obliquus* та *T. dimorphus*, які належать до родини Scenedesmaceae, досить швидко (1–3 доби) вийшли на фазу експоненційного росту, де за всіх досліджених терморежимів знаходилися щонайменше до кінця експерименту (31 доба) (рис. 3.1).

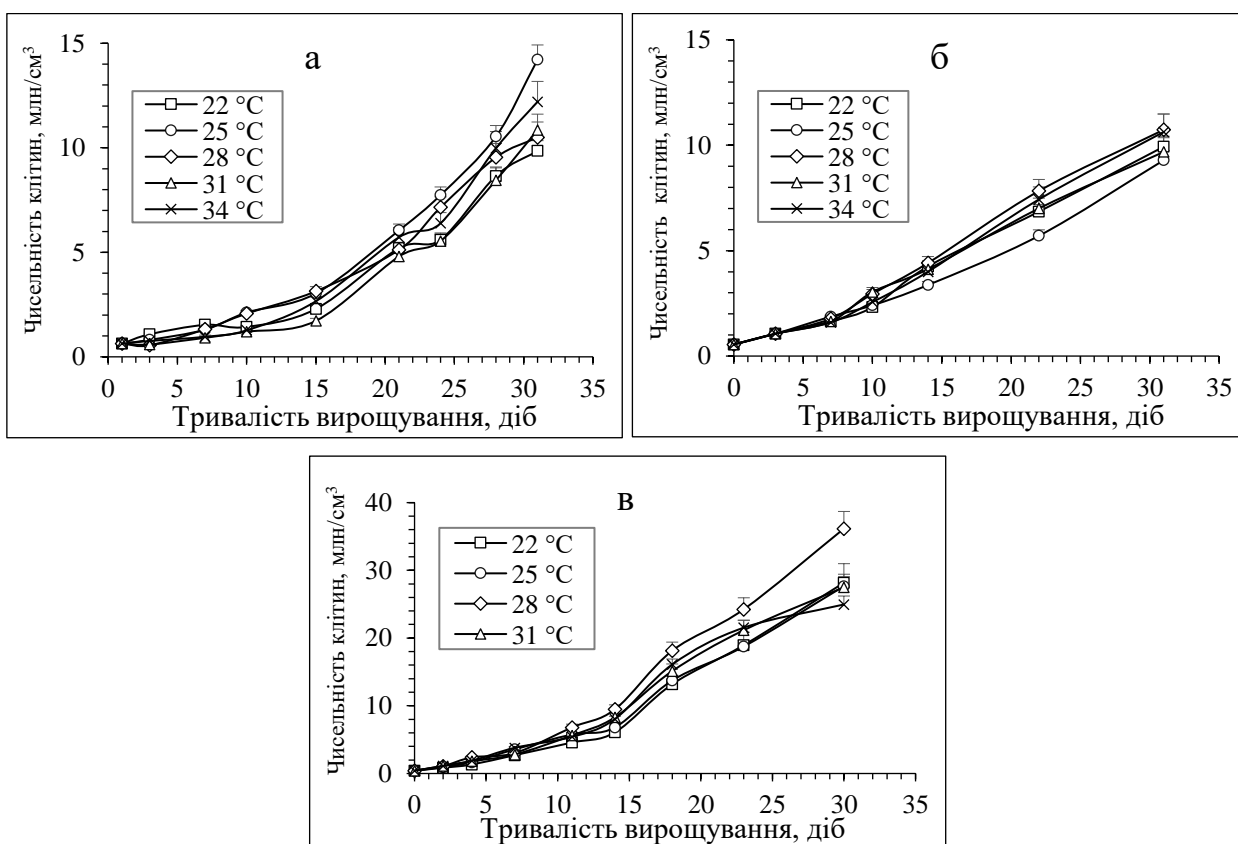


Рис. 3.1 Чисельність клітин в культурах *S. obtusus* (а); *T. obliquus* (б) та *T. dimorphus* (в) при вирощуванні за константних температур.

За аналогічних експериментів встановлено, що види *Desmodesmus subspicatus* та *D. brasiliensis* мали найкоротшу фазу експоненційного росту (29 і 25 діб) при температурах  $22\pm 1$  та  $34\pm 1$  °C відповідно. В той час, як за інших терморежимів ( $25\pm 1$ ,  $28\pm 1$ ,  $31\pm 1$  °C), мікроводорості характеризувалися більш тривалою фазою експоненційного росту – щонайменше до 33-ї доби. Можна припустити, що це пов'язано з тим, що за умов інтенсивнішого росту водоростей, в культуральному середовищі швидше закінчуються біогенні елементи, що спонукає їх до переходу на стаціонарну фазу (рис. 3.2).

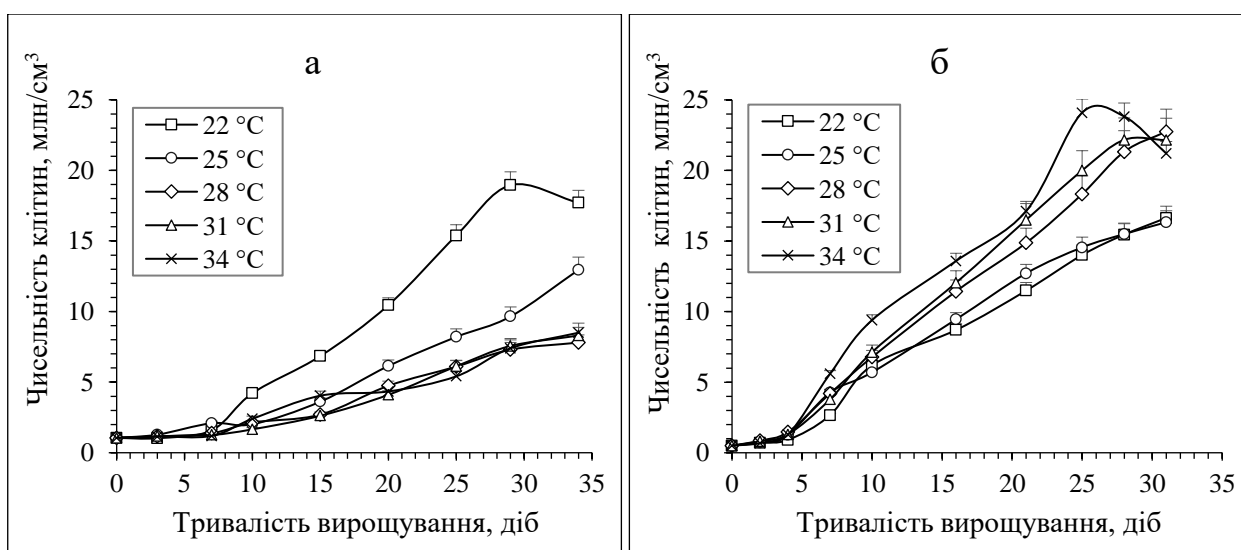


Рис. 3.2 Чисельність клітин в культурах *D. subspicatus* (а); *D. brasiliensis* (б) при вирощуванні за константних температур.

В результаті експериментів встановлено, що на відміну від попередніх видів, у *S. ellipticus* менший період тривалості фази експоненційного росту відмічено за температурних режимів  $25\pm 1$ ,  $28\pm 1$  та  $31\pm 1$  °C – на 25–27 добу. В той же час, *D. communis* не виявляв чіткої температурної залежності, що пов'язано з їх різницею реакції на зовнішні чинники (рис. 3.3).



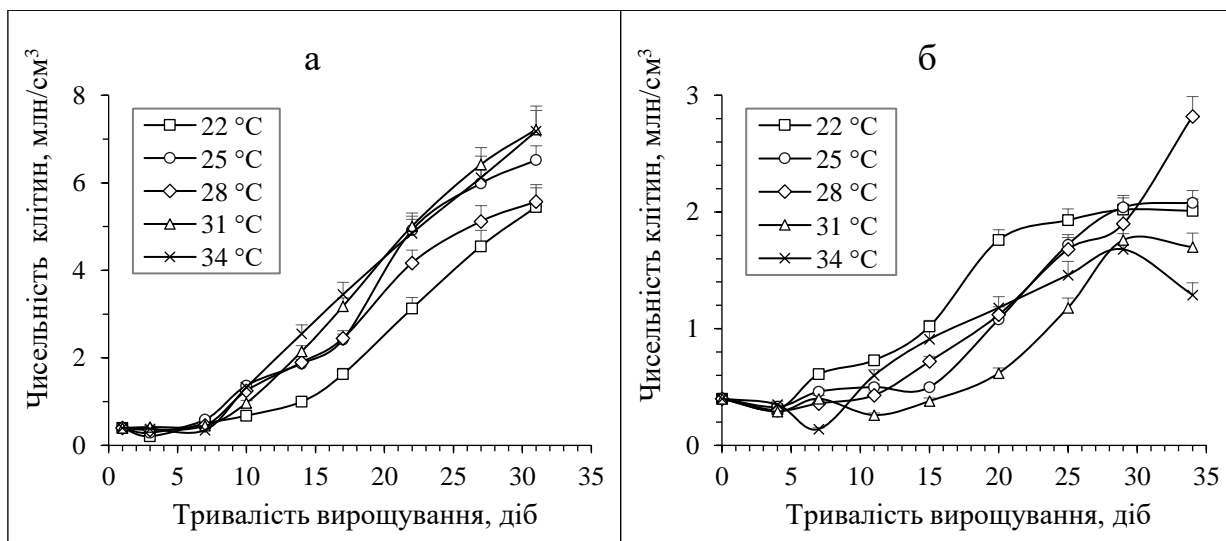


Рис. 3.3 Чисельність клітин в культурах *S. ellipticus* (а) та *D. communis* (б) в процесі вирощування за константних температур.

Також, експериментально встановлено, що мікроводорості *Mesastrum* (*Selenastrum*) *gracile* та *Monoraphidium griffithii*, які належать до родини Selenastraceae, характеризуються різною тривалістю фази експоненційного росту. Так, у *M. gracile* за температур 28±1, 31±1 та 34±1 °С, не була чітко виражена фаза експоненційного росту, а при 22±1 та 25±1 °С продовжувалася як мінімум до моменту закінчення дослідів (30 діб) (рис. 3.4).

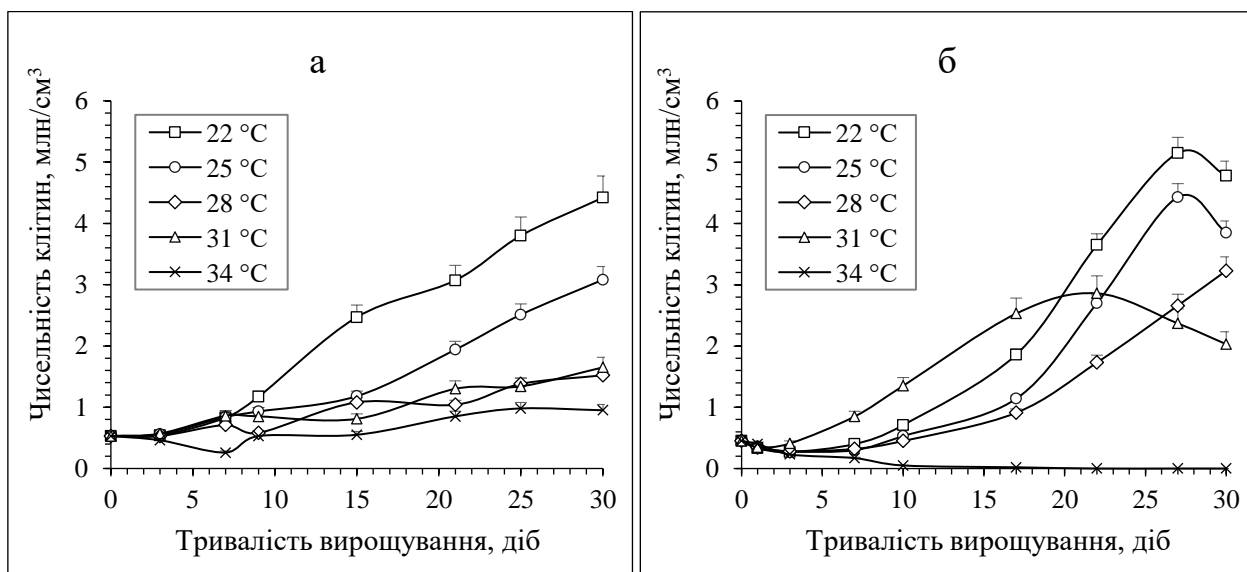


Рис. 3.4 Чисельність клітин в культурах *M. gracile* (а) та *M. griffithii* (б) в процесі вирощування за константних температур.

В той же час, досліджено, що *M. griffithii* має більш суттєві відмінності інтенсивності росту залежно від температури культивування. Так, за температури середовища  $22\pm 1$  та  $25\pm 1$  °C ріст культури (закінчення експоненційної та вихід на стаціонарну фазу) відбувався до 28 доби досліджу; при  $28\pm 1$  °C – щонайменше 30 діб; при  $31\pm 1$  °C – 22 добу. В той же час, температура 34 °C характеризувалася проходженням фази відмирання мікроводоростей вже на початку експерименту (див. рис. 3.4). Очевидно це пояснюється тим, що для росту культур родини Selenastraceae сприяють більш низькі температури (до  $28\pm 1$  °C), у порівнянні з Scenedesmaceae.

В ході проведення експериментальних досліджень показано, що у *Chlorella vulgaris*, яка належить до родини Chlorrellaceae, на експоненційній фазі ріст за всіх досліджених температурних режимів тривав упродовж всього періоду експерименту (30 діб), що обумовлено її широкою термотолерантністю, яка підтверджується даними із літератури [102, 144] (рис. 3.5).

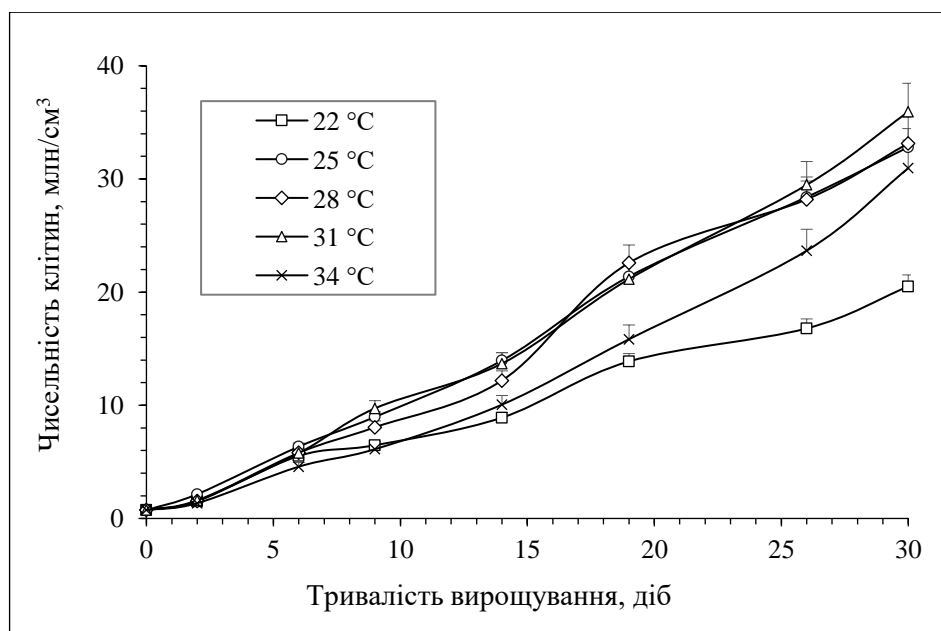


Рис. 3.5 Чисельність клітин в культурі *C. vulgaris* в процесі вирощування за константних температур.

Розраховані в ході експерименту показники питомої швидкості росту культур із родини Scenedesmaceae показали, що більш високим константним температурам віддавали перевагу види *D. brasiliensis* ( $34\pm 1$  °C), *T. obliquus* ( $34\pm 1$  °C), *S. ellipticus* (31 °C), *S. obtusus* ( $28\pm 1$  і  $34\pm 1$  °C), низьким *D. subspicatus* ( $22\pm 1$  °C), *D. communis* ( $22\pm 1$  і  $25\pm 1$  °C, а *T. dimorphus* – 28 °C (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

**Показники питомої швидкості росту ( $\mu_{\text{сер}}$ , доба<sup>-1</sup>) культур зелених мікродоростей на експоненційній фазі росту за константних температур,  $M\pm m$ ,  $n=5$**

Вид	Показники питомої швидкості росту ( $\mu_{\text{сер}}$ , доба <sup>-1</sup> )				
	22±1 °C	25±1 °C	28±1 °C	31±1 °C	34±1 °C
<i>S. obtusus</i>	0,07±0,006	0,08±0,008	0,09±0,007	0,08±0,008	0,09±0,010
<i>S. ellipticus</i>	0,10±0,010	0,12±0,010	0,12±0,012	0,14±0,012	0,12±0,009
<i>D. communis</i>	0,09±0,010	0,08±0,007	0,07±0,005	0,08±0,008	0,07±0,006
<i>D. subspicatus</i>	0,11±0,009	0,08±0,006	0,07±0,006	0,07±0,005	0,07±0,005
<i>D. brasiliensis</i>	0,12±0,015	0,12±0,011	0,12±0,010	0,13±0,011	0,14±0,011
<i>T. obliquus</i>	0,07±0,005	0,07±0,005	0,07±0,004	0,07±0,008	0,08±0,006
<i>T. dimorphus</i>	0,14±0,016	0,14±0,013	0,15±0,013	0,14±0,011	0,14±0,012
<i>M. gracile</i>	0,08±0,006	0,06±0,007	0,04±0,003	0,04±0,004	0,03±0,011
<i>M. griffithii</i>	0,16±0,012	0,15±0,013	0,12±0,012	0,07±0,004	0,00±0,00
<i>C. vulgaris</i>	0,09±0,008	0,10±0,010	0,10±0,009	0,10±0,009	0,10±0,008

Водночас, за аналогічних умов культивування, мікродорості *M. gracile* та *M. griffithii*, що належать до родини Selenastraceae, характеризувалися найвищими показниками питомої швидкості росту за більш низьких температур –  $22\pm 1$  °C.

В той же час, питома швидкість росту *C. vulgaris*, що належить до родини Chlorrellaceae, найвищою була у широкому температурному діапазоні – 25–34±1 °С, що свідчить про його широку термотолерантність.

Порівняння середньодобових коефіцієнтів збільшення чисельності клітин (k) зелених мікроводоростей залежно температурних режимів, вказує на відмінності, навіть у видів одної родини (рис. 3.6).

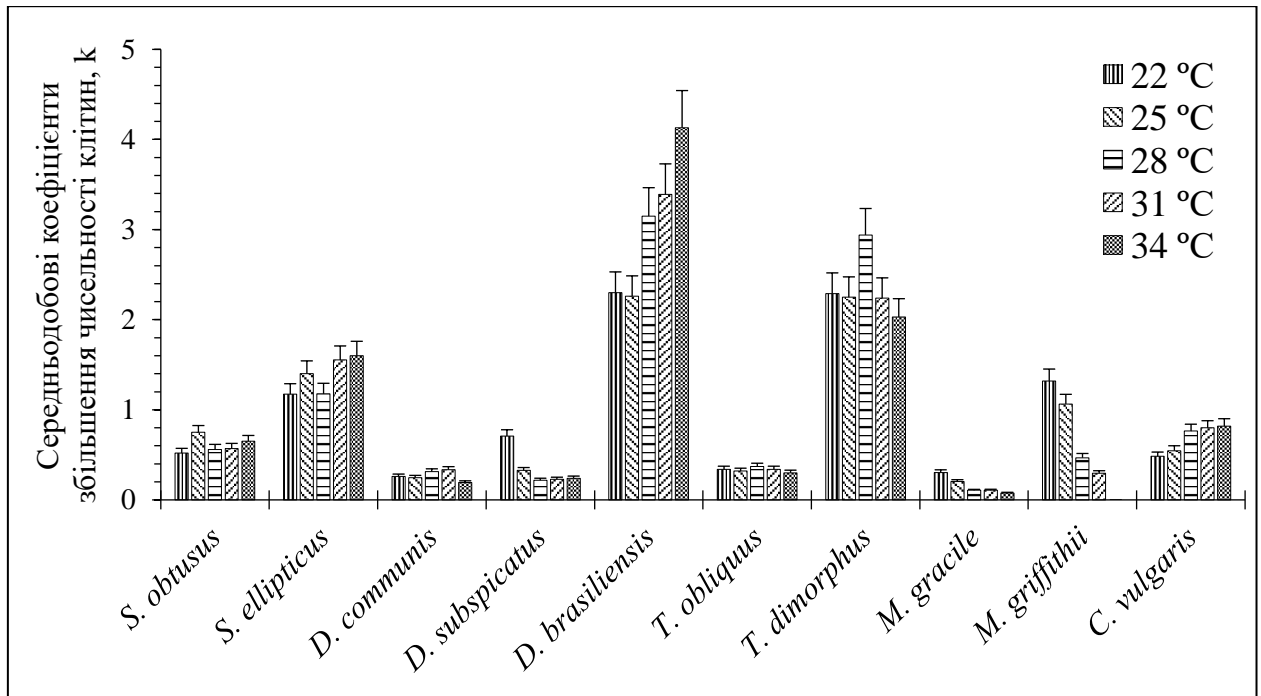


Рис. 3.6 Середньодобові коефіцієнти збільшення чисельності клітин (k) у культурах зелених мікроводоростей на експоненційній фазі росту за константних температур,  $M \pm m$ ,  $n=5$ .

Так, для культур *S. obtusus* ( $p \leq 0,05$ ), *D. communis* ( $p \leq 0,01$ ) та *T. obliquus* ( $p=0,01$ ) за досліджених температурних режимів коефіцієнти достовірно не відрізнялися один від одного, що свідчить про широкий спектр адаптивних реакцій даних видів (див. рис. 3.6).

Максимальні показники приросту чисельності для *S. ellipticus*, *D. brasiliensis* та *C. vulgaris* відмічено при температурі 34±1 °С, що вказує на здатність даних видів значно підвищувати продуктивність в діапазоні високих температур (див. рис. 3.6).

Для *T. dimorphus* підвищення коефіцієнтів зафіксовано при  $28 \pm 1$  °C.

Мікроводорості *D. subspicatus*, *S. gracile* та *M. griffithii* віддавали перевагу більш низькій температурі ( $22 \pm 1$  °C). Підвищення температурного режиму до  $34 \pm 1$  °C викликало різке зменшення приросту чисельності клітин, а для *M. griffithii* загибель (див. рис. 3.6).

На основі отриманих результатів, серед всіх досліджених видів мікроводоростей, найбільший приріст чисельності клітин при періодичному культивуванні відмічено у представників родини Scenedesmaceae: для *D. brasiliensis* і *S. ellipticus* при  $34 \pm 1$  °C та *T. dimorphus* –  $28 \pm 1$  °C, що свідчить про їх високий адаптивний потенціал щодо температурного чинника (рис. 3.7).

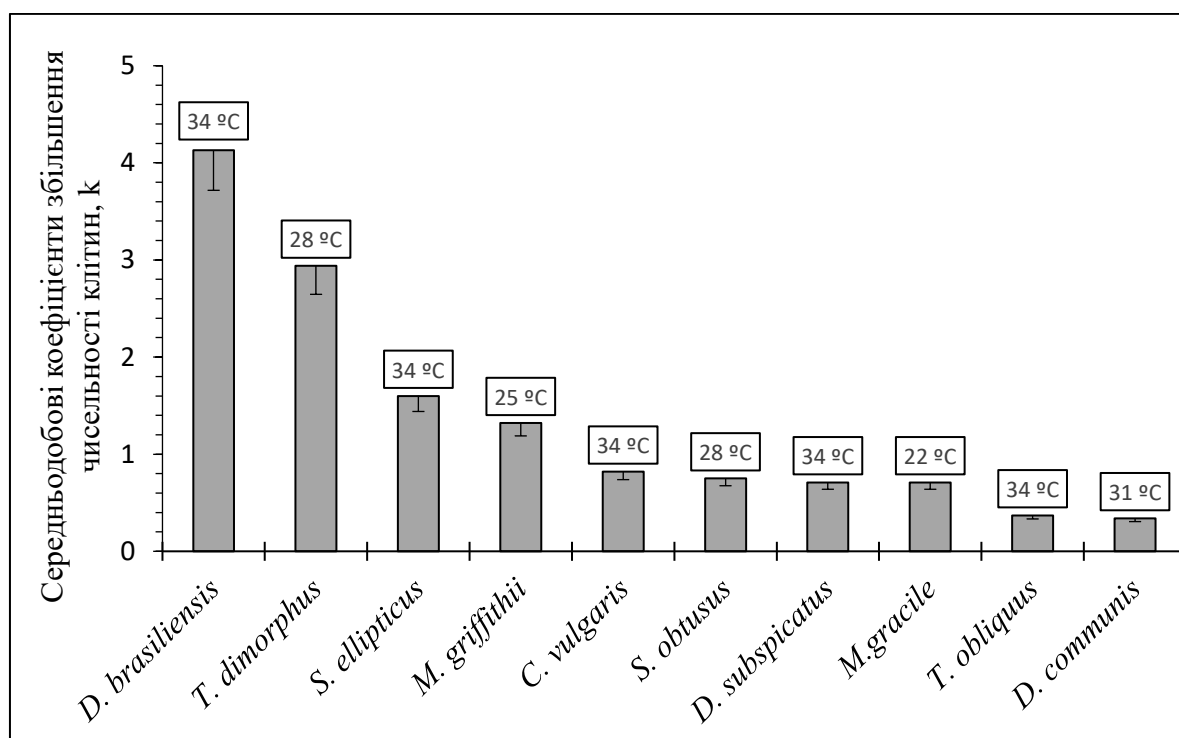


Рис 3.7 Середньодобові коефіцієнти збільшення чисельності клітин (k) культур зелених мікроводоростей,  $M \pm m$ ,  $n=5$ .

Культури *D. brasiliensis*, *T. dimorphus* та *S. ellipticus* за показниками збільшення чисельності клітин у 12,1 ( $p=0,01$ ), 8,6 ( $p=0,01$ ) та 1,8 разів ( $p=0,01$ ) відповідно перевищували штам *D. communis*, що мав найнижчі показники серед всіх досліджених зелених мікроводоростей. При цьому, *D. brasiliensis* за

цими показниками у 1,4 рази ( $p \leq 0,05$ ) перевищував *T. dimorphus*, та у 2,6 ( $p \leq 0,01$ ) разів *S. ellipticus*, а *T. dimorphus* у 1,8 ( $p \leq 0,01$ ) разів *S. ellipticus*.

Враховуючи те, що динамічне підвищення температури середовища в діапазоні оптимальних для росту водоростей, сприятливо впливає на їх ростові характеристики, було досліджено її вплив на представників із родин Scenedesmaceae і Selenastraceae на експоненційній фазі при культивуванні в штучних умовах.

Показано, що найвищою питомою швидкістю росту низки досліджених видів характеризувалися *S. obtusus*, *D. brasiliensis* та *M. gracile*, що перевищували найменш продуктивний вид – *D. communis* відповідно у 4,1 ( $p \leq 0,01$ ), 3,6 ( $p \leq 0,01$ ) та 3,6 разів ( $p \leq 0,01$ ) (рис. 3.8).

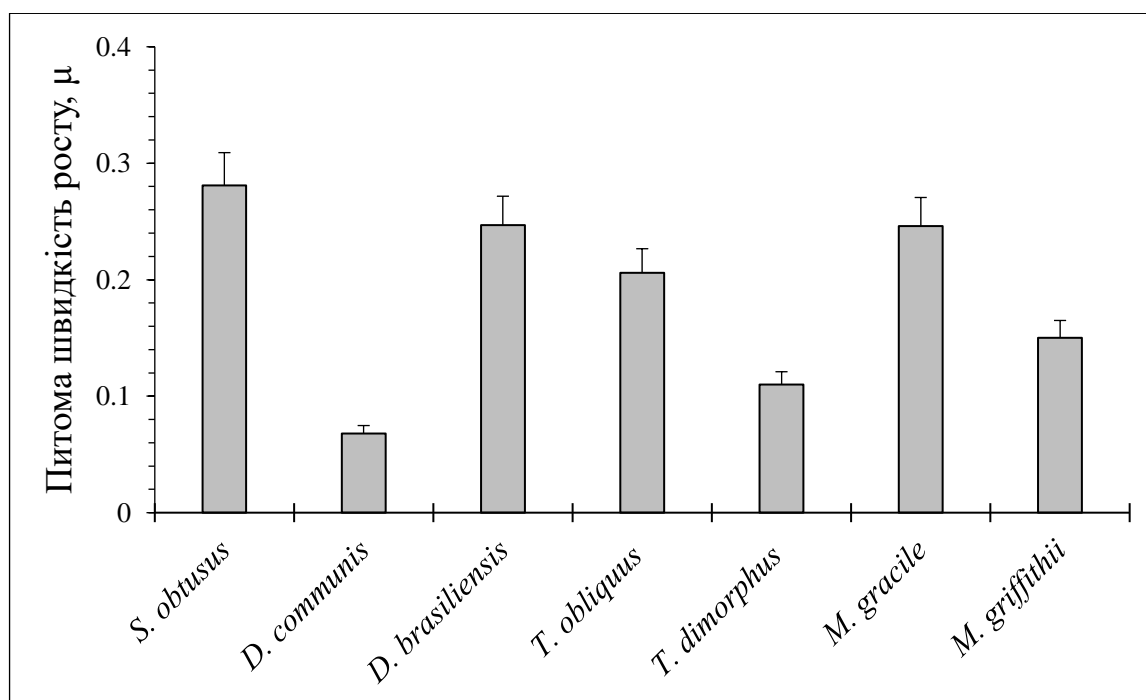


Рис. 3.8 Питома швидкість росту ( $\mu$ ) зелених мікроводоростей за умов динамічного підвищення температури (експоненційна фаза),  $M \pm m$ ,  $n=5$ .

Порівняння показників питомої швидкості росту культур зелених мікроводоростей на експоненційній фазі росту в умовах динамічного та статичного температурних режимів, виявило суттєві відмінності в реакціях різних видів зелених мікроводоростей на їх дію (рис. 3.9).

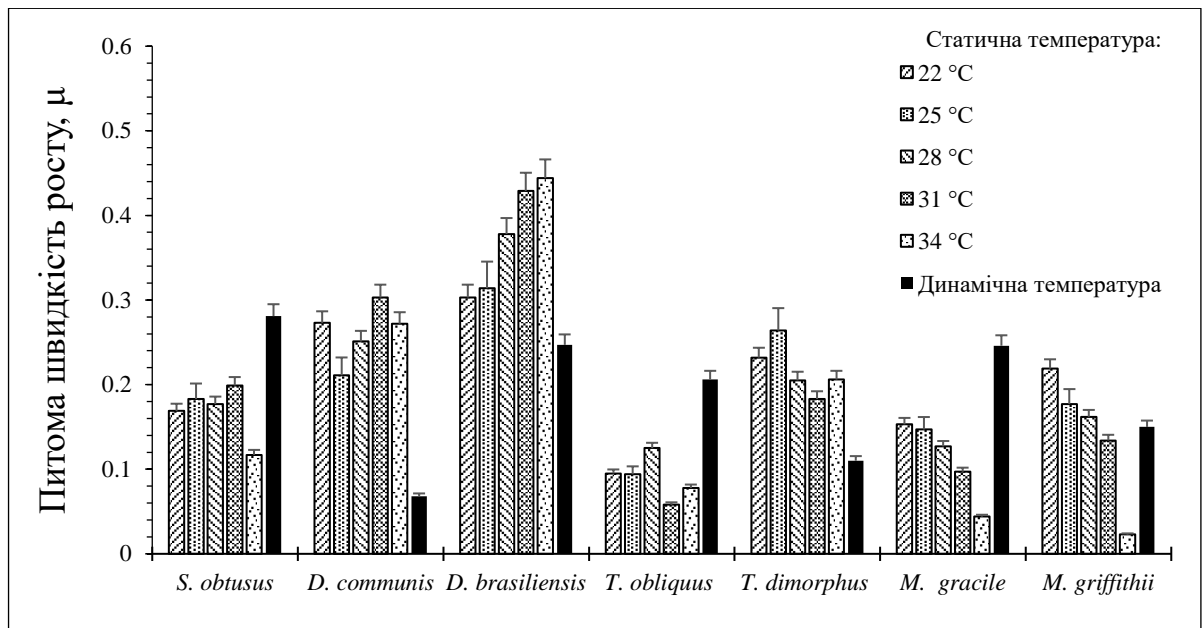


Рис. 3.9 Питома швидкість росту ( $\mu$ ) зелених мікрободоростей на експоненційній фазі при вирощуванні культур в умовах статичного та динамічного температурного режиму,  $M \pm m$ ,  $n=5$ .

Так, умови динамічного підвищення температури середовища при культивуванні зелених мікрободоростей сприяли збільшенню показників питомої швидкості росту, фотосинтезу та дихання для *S. obtusus*, *T. obliquus* та *M. gracile*. Зокрема, питома швидкість росту культури *S. obtusus* у 1,4 рази ( $p \leq 0,05$ ) достовірно перевищувала оптимальні показники константних терморегимів ( $31 \pm 1$  °C), а для *T. obliquus* ( $28 \pm 1$  °C) та *M. gracile* ( $22 \pm 1$  °C) у 1,6 разів ( $p \leq 0,05$ ;  $p \leq 0,01$ ). Статичне підвищення температури середовища виявилось більш сприятливим для видів *D. brasiliensis*, *D. communis*, *T. dimorphus* та *M. griffithii*, де їх максимальні значення перевищували константні відповідно у 3,1, 3,4, 2,2 та 1,4 рази ( $p \leq 0,01$ ;  $p \leq 0,01$ ;  $p \leq 0,01$ ;  $p \leq 0,05$ ).

Отже, на основі отриманих і статистично опрацьованих результатів експериментальних даних, стверджуємо, що на експоненційній фазі росту досліджені культури зелених мікрободоростей мають різний адаптивний потенціал відповідно за дії константного (*D. brasiliensis*, *D. communis*, *T. dimorphus*, *M. griffithii*) та динамічного (*S. obtusus*, *T. obliquus*, *M. gracile*) температурного режимів.

### 3.2 Чисельність культур зелених мікроводоростей в умовах динамічного підвищення температури на різних фазах росту.

За умов періодичного культивування мікроводоростей, культуральне середовище містить обмежений вміст поживних речовин. Коли з часом їх величина зменшується, відбувається сповільнення росту та подальше відмирання культури. Типова крива росту дозволяє виділити чотири основні фази росту, які проходять у певній послідовності і залежно від умов культивування відрізняються тривалістю: лаг-фаза, експоненційна, стаціонарна та відмирання [50].

Так, проведено низку експериментів, які дозволяють проаналізувати щільність *T. obliquus* (родина Scenedesmaceae) та *M. griffithii* (родина Selenastraceae) в умовах динамічного підвищення температури на різних фазах росту.

Культури мікроводоростей *T. obliquus* та *M. griffithii* проходили лаг-фазу упродовж 5 діб в умовах оптимального для даних видів поживного середовища (Фітцджеральда) та температури ( $22 \pm 1$  °C).

З переходом на експоненційну фазу росту, температуру середовища щоденно підвищували на 3 °C ( $22 \rightarrow 34$  °C). При цьому, культура *T. obliquus* досить стрімко збільшувала інтенсивність росту до 4-ої доби ( $31 \pm 1$  °C), тоді як збільшення температури до  $34 \pm 1$  °C, супроводжувалось відмиранням клітин (див. рис. 3.10 а).

У той час, щільність культури *M. griffithii* (родина Selenastraceae), за таких же умов зросла у 7,6 разів ( $p \leq 0,001$ ), що демонструє її потенційно високу продуктивність, вищу ніж у попереднього виду. Слід зазначити, що саме на початок фази експоненційного росту дана культура була найбільш толерантною до підвищення температури середовища (див. рис. 3.10 б).



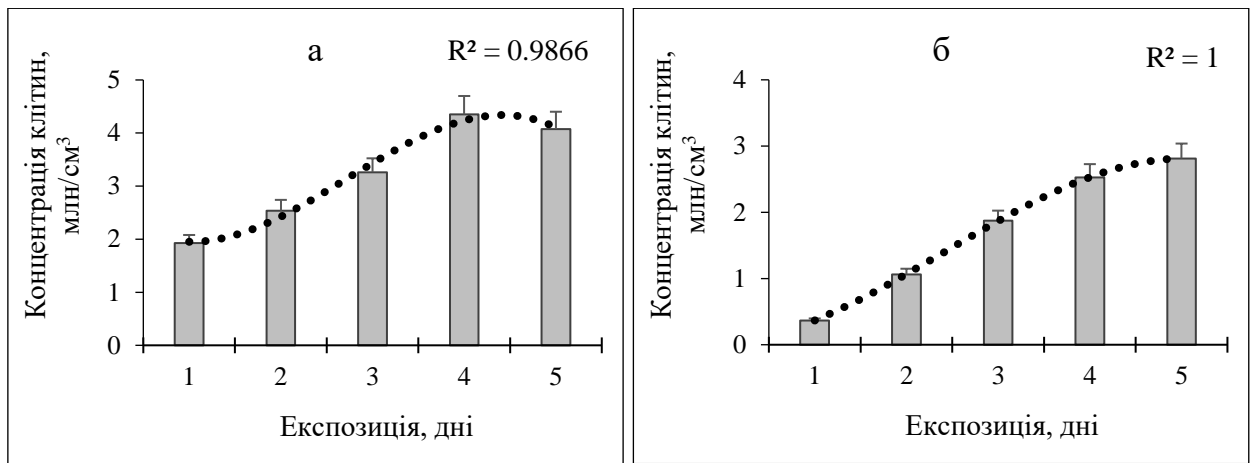


Рис. 3.10 Щільність культур *T. obliquus* (а) та *M. griffithii* (б) в умовах динамічного температурного режиму на початку фази експоненційного росту. (Рис. 3.10 – 3.13  $R^2$  – достовірність експоненційної апроксимації середнього арифметичного).

В середині фази експоненційного росту культура *T. obliquus* виявилася найбільш толерантною до поступового підвищення температури. Загалом чисельність клітин за цей період підвищилася більш ніж удвічі ( $p=0,01$ ). Водночас, тривалість інтенсивного росту *M. griffithii* в даному періоді скоротилася до 3 діб, після чого спостерігалось зниження щільності культури (рис. 3.11).

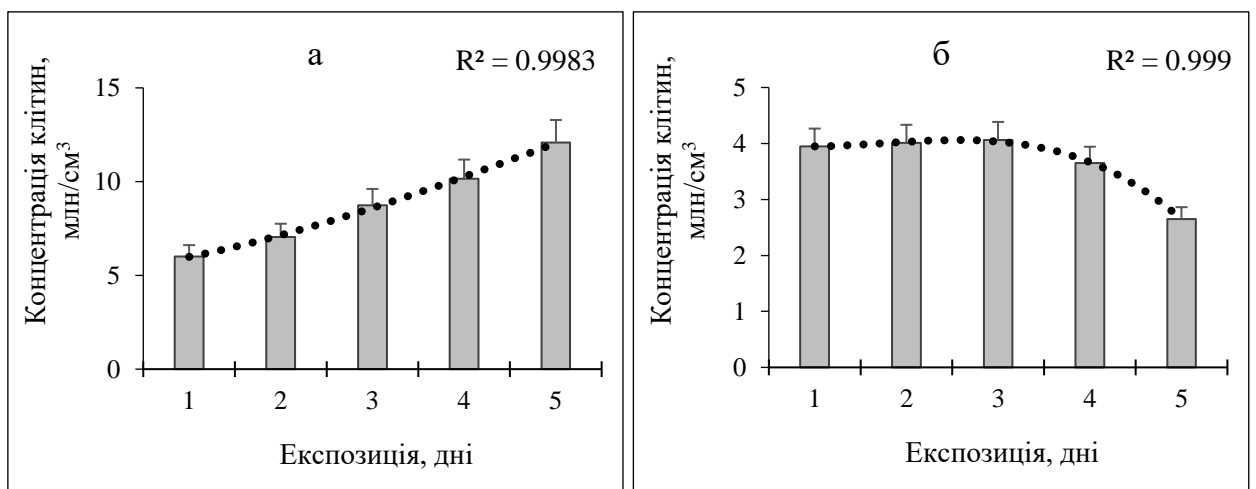


Рис. 3.11 Щільність культур *T. obliquus* (а) та *M. griffithii* (б) в умовах динамічного температурного режиму по середині експоненційної фази росту.

Наприкінці експоненційної фази приріст клітин в культурах *T. obliquus* та *M. griffithii* був нижчим, ніж на середині у 1,3 ( $p=0,01$ ) та 1,1 ( $p=0,19$ ) рази відповідно (рис. 3.12), що свідчить про припинення зростання чисельності клітин міководоростей та виходу культури на стаціонарну фазу росту.

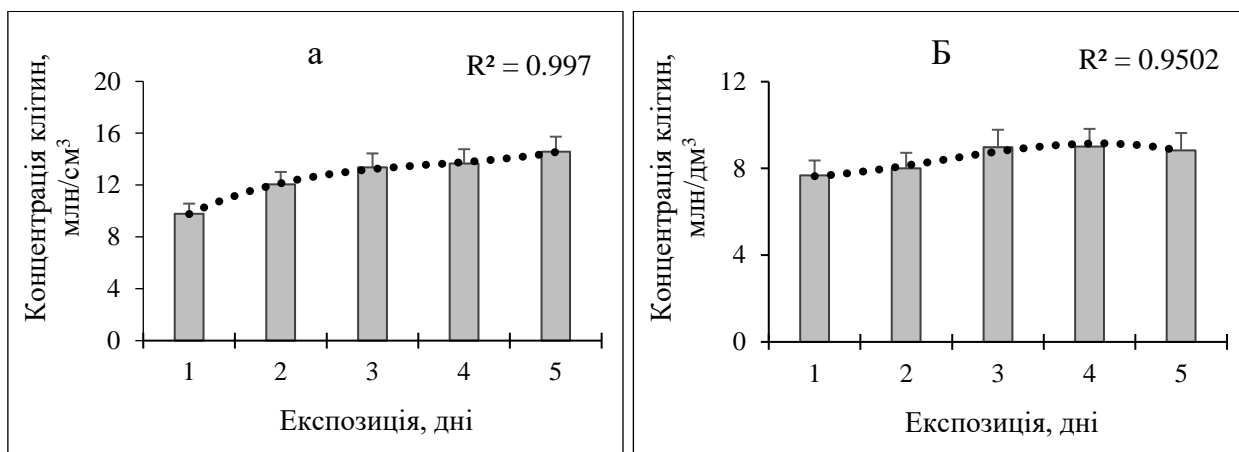


Рис. 3.12 Щільність культур *T. obliquus* (а) та *M. griffithii* (б) в умовах динамічного температурного режиму наприкінці фази експоненційного росту.

При цьому для культури *T. obliquus* приріст клітин на даній фазі збільшився лише у 1,1 рази, а для *M. griffithii* був відсутнім (рис. 3.13).

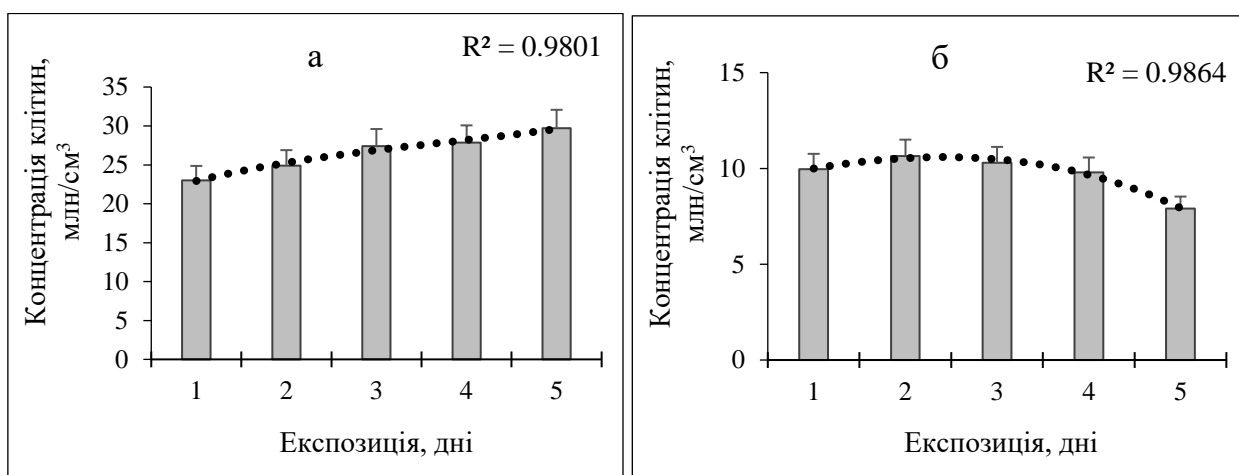


Рис. 3.13 Щільність культур *T. obliquus* (а) та *M. griffithii* (б) в умовах динамічного температурного режиму при виході на стаціонарну фазу росту.

Отже, показано, що ріст мікроводоростей Chlorophyta залежить як від динамічного підвищення температури середовища, так і від фази росту культури. За динамічного підвищення температури середовища, найвищу інтенсивність росту мають культури *M. griffithii* та *T. obliquus* відповідно на початку фази експоненційного росту та її середині. Можна припустити, що пов'язано з тим, що на даному етапі росту мікроводоростей, поживне середовище містить у своєму складі більшу концентрацією сполук азоту та фосфору фосфату, ніж послідувачі, а також, за рахунок меншої чисельності клітин, відбувається менше затінення. Отримані результати доцільно враховувати при подальшому культивуванні зелених мікроводоростей.

### **3.3 Варіабельність морфометричних показників клітин мікроводоростей родини Scenedesmaceae за дії різних терморежимів**

На популяційно-видовому рівні організації культур мікроводоростей розміри клітин є однією з їхніх діагностичних ознак. Проте, навіть у визначниках та зведеннях щодо різних таксономічних груп водоростей у окремих авторів немає однаковості щодо цього питання [75, 76].

Разом з цим, в літературі відзначено, що у природних умовах є певна залежність розмірних характеристик окремих видів роду *Desmodesmus* не лише від температури та інсоляції, а і від їх штамової приналежності та географічного чинника [83]. Це дає підстави припускати, що розмірні характеристики мікроводоростей не є сталою величиною, а їх варіабельність може бути пов'язана як з генетично обумовленими особливостями видів, так і з впливом зовнішніх, зокрема абіотичних, чинників. Відхилення розмірних характеристик мікроводоростей від певних меж та середніх значень особливо помітні за умов їх штучного культивування [1, 24, 182, 283].

В процесі проведених експериментальних досліджень, зокрема культивування зелених мікроводоростей в аквакомплексі інституту гідробіології НАН України показано, що розміри клітин зазнають суттєвих

змін залежно від віку та фази росту культури. При цьому необхідно зазначити, що довжина та ширина клітин може змінюватись різноспрямовано. Аналіз довжини клітин *D. brasiliensis*, упродовж 21-ї доби з моменту пересіву культури, виявив її обернений зв'язок зі швидкістю росту, тоді як показник ширини поступово збільшувався впродовж усього періоду інтенсивного росту [182]. Відповідні результати представлені на рисунку 3.14.

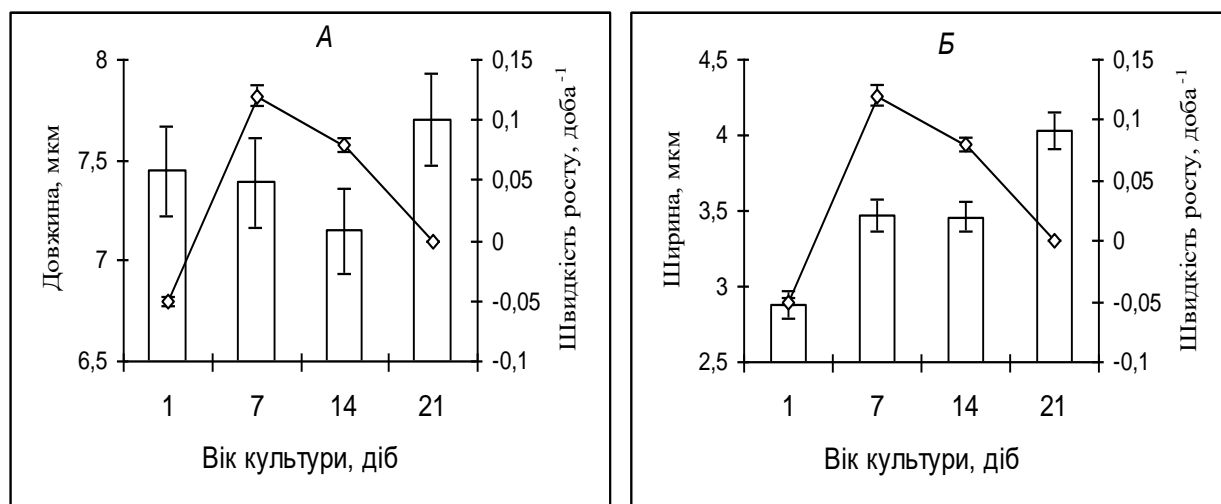


Рис. 3.14 Розмірні характеристики ( $\mu\text{m}$ ,  $n=100$ ) та питома швидкість росту ( $\mu$ ,  $n=5$ ) культури *D. brasiliensis*.

Тобто в період активного розмноження культури (експоненційна фаза) довжина клітин мікрowodоростей поступово зменшувалась, тоді як зниження інтенсивності росту (стаціонарна фаза) сприяло значному її зростанню.

Результати низки експериментів, також, наглядно свідчать, що температура суттєво впливає на розміри клітин. Так, у *D. brasiliensis*, як одного з найпродуктивніших видів Chlorophyta, при її підвищенні, спостерігається здрібнення клітин. Динаміка змін їх розмірних показників за різних терморегимів приведено в таблиці 3.2.

**Розмірні характеристики клітин *D. brasiliensis* за різної температури культивування, n=50**

Температура, °C	Довжина клітин (µm)		Ширина клітин (µm)		Об'єм клітин (µm <sup>3</sup> )	
	Межі коливань	Середні значення	Межі коливань	Середні значення	Межі коливань	Середні значення
25±1	8,4÷15,3	11,5±0,3	4,4÷8,3	6,4±0,2	84,1÷619,1	248,9±6,2
28±1	7,6÷14,4	11,4±0,2	3,9÷9,2	6,4±0,3	58,7÷635,6	240,7±6,6
31±1	8,2÷11,9	10,3±0,2	3,2÷7,1	5,1±0,2	45,0÷313,2	139,0±3,8
34±1	8,6÷12,5	10,3±0,2	3,5÷7,9	5,2±0,2	55,2÷403,6	147,0±4,1

Зокрема, середні показники об'єму клітин при 31±1 °C були у 1,8 разів достовірно нищими, порівняно з 25±1 °C ( $p \leq 0,05$ ). Проте доцільно зазначити, що за температури 28±1 °C суттєво змінювався ступінь коливання їх довжини, ширини та об'єму, що загалом проявлялось у збільшенні частки дрібніших клітин. Певно, діапазон температур 28–31±1 °C деякою мірою відображав добрий стан популяції *D. brasiliensis*.

В процесі вирощування культури *M. griffithii* в умовах динамічного підвищення температури середовища (22±1→25±1→28±1 °C), також, зафіксовано зміни розмірів клітин. Так, їх довжина в середньому становила: 27,25±0,11; 25,38±0,14 і 24,12±0,09 µm, а ширина – 4,08±0,12; 3,74±0,07 і 3,51±0,03 µm відповідно.

Отже, встановлено, що при динамічному підвищенні температури середовища відбувалось суттєве здрібнення клітин. Подібне явище відмічали й інші дослідники [188]. В цілому вважаємо, що дрібнішання клітин є одним із проявів адаптивного потенціалу.

Необхідно констатувати, що отримані статистично-достовірні експериментальні дані, які доказують вплив зростання температури на зменшення розмірів Chlorophyta та підтверджують натурні дані для

фітопланктону Дніпровських водосховищ [5, 67, 249], що чітко вказує на здрібнення розмірних характеристик водоростей фітопланктону при зростанні аномальних температур води в останні десятиліття, що є проявом адаптивних реакцій. Отже, отримані експериментальні дані про вплив температурного режиму на розмірні характеристики зелених мікроводоростей є певним вкладом в гідробіологічну науку.

### **3.4 Особливості фотосинтезу та дихання зелених мікроводоростей залежно температури у константному і динамічному режимі**

Згідно з приведених вище експериментальних даних, встановлено, що температурний чинник суттєво змінює розміри клітин, інтенсивність та питому швидкість росту мікроводоростей, проте вони є інтегральними показниками, що характеризують процес більш інерційно, ніж інші фізіологічні функції клітин, які більш швидше реагують на зміну умов середовища. Зокрема, це фотосинтез та дихання, комплекс яких обумовлює їх ріст та розмноження [23]. Успішне пристосування рослинного організму до умов середовища відбувається завдяки регуляторному узгодженню процесів фотосинтезу та дихання [52, 260].

Результати численних експериментів щодо впливу константних температур на ріст культури *D. brasiliensis*, проведених в аквакомплексі Інституту гідробіології НАН України, доказують, що максимальні показники питомого фотосинтезу виявлені при  $25 \pm 1$  °C та зниженні у 1,4 рази ( $p \leq 0,05$ ) за більш високих температур ( $34 \pm 1$  °C) (рис. 3.9). (див. табл. 3.6).

При цьому, найбільш інтенсивне протікання фотосинтезу *D. brasiliensis* зафіксовано на експоненційній фазі росту (21 доба). З виходом на стаціонарну фазу росту (28 доба) при температурах  $31 \pm 1$  та  $34 \pm 1$  °C, відмічено його достовірне зниження у 1,5 ( $p \leq 0,05$ ) та 2,0 ( $p \leq 0,05$ ) рази відповідно (рис. 3.15).

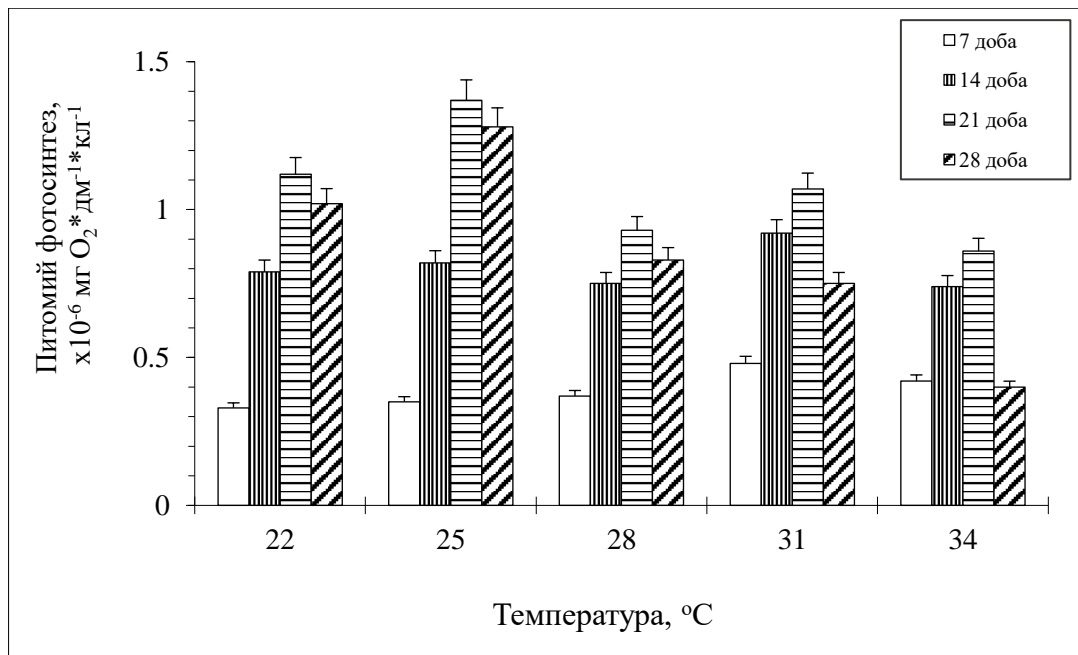


Рис. 3.15 Питомий фотосинтез *D. brasiliensis* залежно від температури середовища,  $M \pm m$ ,  $n=5$ .

Показником функціональної стійкості рослин, який діалектично пов'язаний із фотосинтезом, елементом продукційного процесу, є дихання [284].

Експериментально встановлено, що у культури *D. brasiliensis* показники дихання максимальними були при  $25 \pm 1$ ,  $28 \pm 1$  та  $31 \pm 1$  °C на експоненційній фазі росту, проте амплітуда коливань виражена не так чітко як в процесі фотосинтезу (рис. 3.16). Також, при температурах  $31 \pm 1$  та  $34 \pm 1$  °C, за яких на 28 добу культура вийшли на стаціонарну фазу, спостерігалось зниження дихання у 1,5 ( $p \leq 0,05$ ) та 2,0 ( $p \leq 0,05$ ) рази відповідно.

Отримані експериментальні дані співпадають з літературними, згідно яких, дихання вважають менш чутливим показником до дії високих температур, ніж фотосинтез [139, 260].

Можна стверджувати, що для *D. brasiliensis*, найбільш ефективно проходження фотосинтезу відбувалося за температури культурального середовища  $25 \pm 1$  °C. Більш високі температури ( $28 \pm 1$  та  $31 \pm 1$  °C) призводили

до гальмування фотосинтезу та підвищення інтенсивності дихання мікроводоростей.

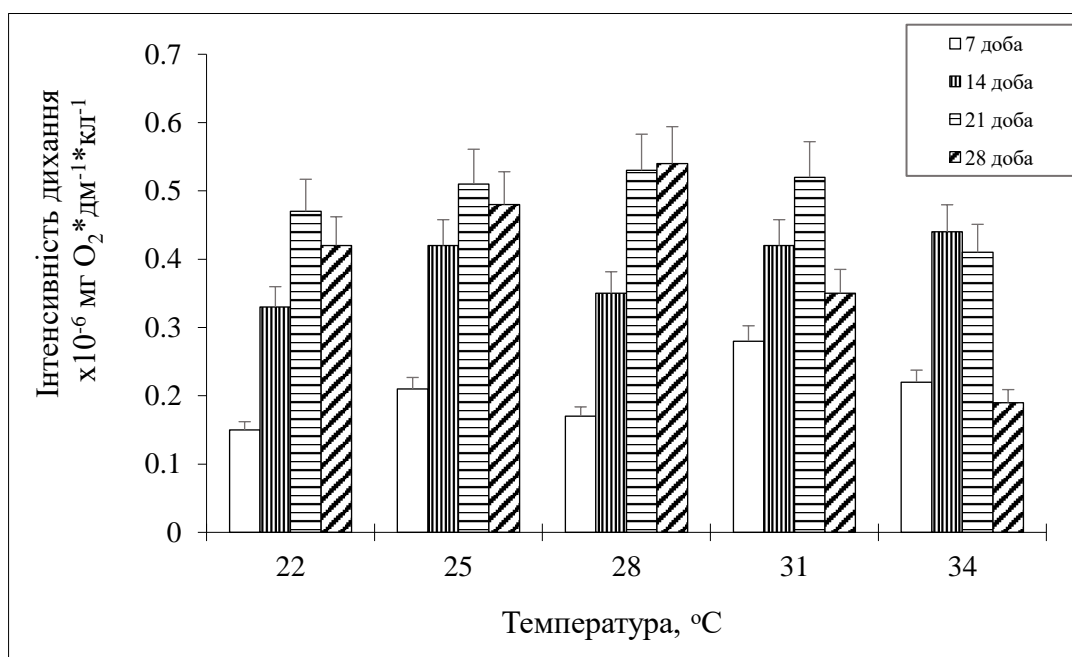


Рис. 3.16 Інтенсивність дихання *D. brasiliensis* залежно від температури середовища,  $M \pm m$ ,  $n=5$ .

В результаті проведених експериментальних досліджень щодо впливу динамічного підвищення температури середовища в умовах періодичного культивування, встановлено, що для культур *S. obtusus* та *D. brasiliensis*, як питомий фотосинтез, так і дихання, збільшувалися у 2,5 ( $p \leq 0,01$ ) та 1,4 разів ( $p \leq 0,05$ ) відповідно, порівняно з константними, що може свідчити про збільшення ростових процесів обох видів за даних умов культивування. Водночас, *T. obliquus* та *M. griffithii* за даних умов відзначалися зниженням процесів фотосинтезу та дихання (рис. 3.17).

Отримані результати підтверджуються літературними даними про успішне пристосування мікроводоростей до умов середовища відбувається завдяки регуляторної взаємодії процесів фотосинтезу та дихання [52].



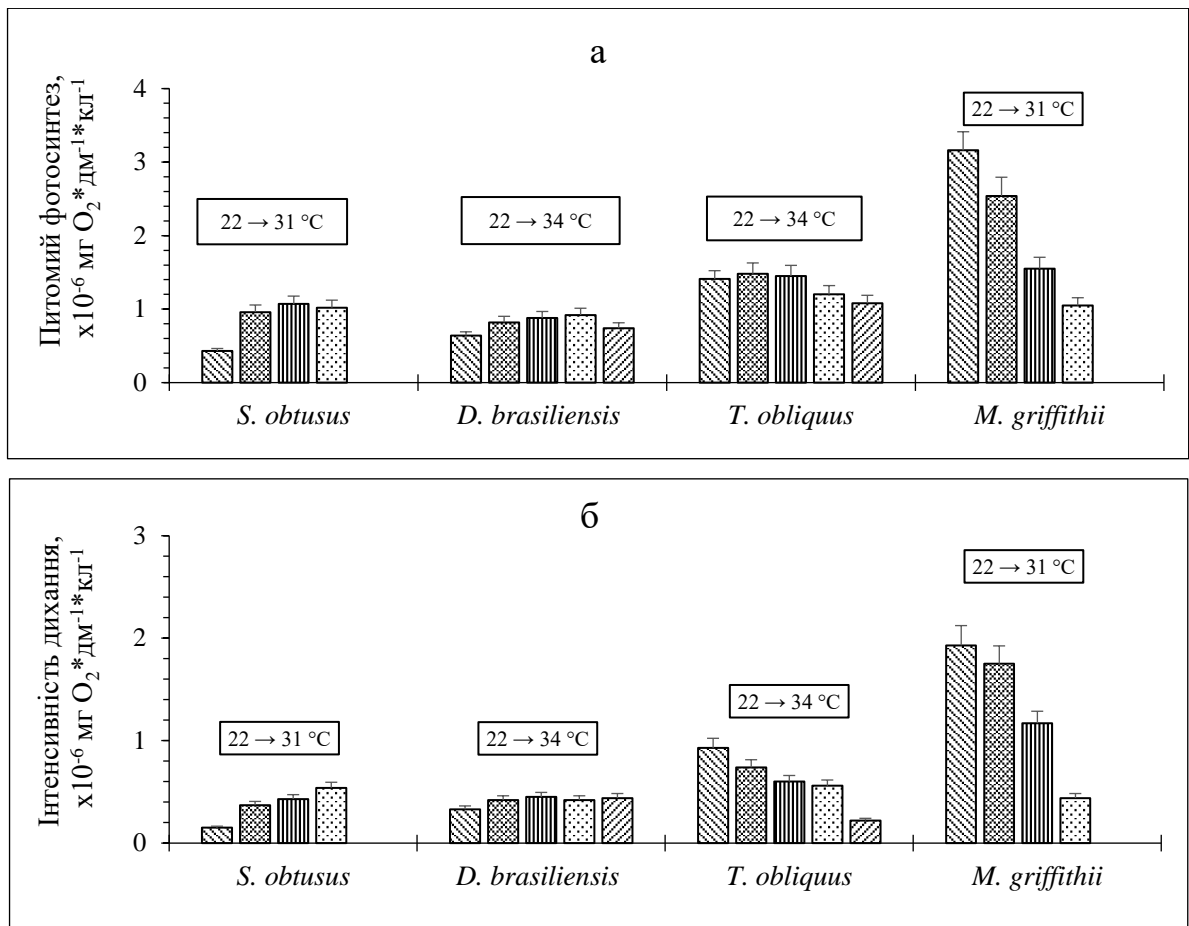


Рис. 3.17 Питомий фотосинтез (а) та інтенсивність дихання (б) культур зелених мікроводоростей за умов динамічного підвищення температури (експоненційна фаза),  $M \pm m$ .

В цілому, динамічне підвищення температури середовища збільшувало показники питомого фотосинтезу та дихання у *S. obtusus* та *D. brasiliensis*. При цьому, дані результати позитивно корелюють зі значеннями питомої швидкості росту, яка для цих видів є найвищою (див. рис. 3.9).

Отже, складовими адаптивного потенціалу зелених мікроводоростей є як більш чутливі (фотосинтез), так і менш чутливі (дихання), які складають єдину діалектичну цілісність в процесах росту та розмноження Chlorophyta. Адаптивний потенціал зелених мікроводоростей за даними показниками в умовах константного терморезиму проявляється у культур *T. obliquus*, *M. griffithii*, а динамічного підвищення температури – у *S. obtusus*, *D. brasiliensis*.

### 3.5 Вміст білків, ліпідів і вуглеводів у клітинах зелених мікроводоростей за дії константних температур

Молекулярний рівень біологічної організації, що включає в себе біохімічний склад клітин мікроводоростей, є лабільним показником, який залежить від впливу зовнішніх чинників (температурний режим, освітленість, поживні речовини, біотичні взаємовідносини тощо), життєвого циклу та видоспецифічності [177, 183].

**Білки.** В результаті проведених експериментів, що проходили в умовах періодичного культивування, максимальний вміст білків (48 %) у клітинах *D. brasiliensis* відзначали при температурі  $31 \pm 1$  °C. При цьому, дані позитивно корелюють із показниками питомої швидкості росту та підтверджують раніше проведені дослідження із накопичення білків в діапазоні температур, оптимальних для росту Chlorophyta [177] (див. рис. 3.6, рис. 3.18).

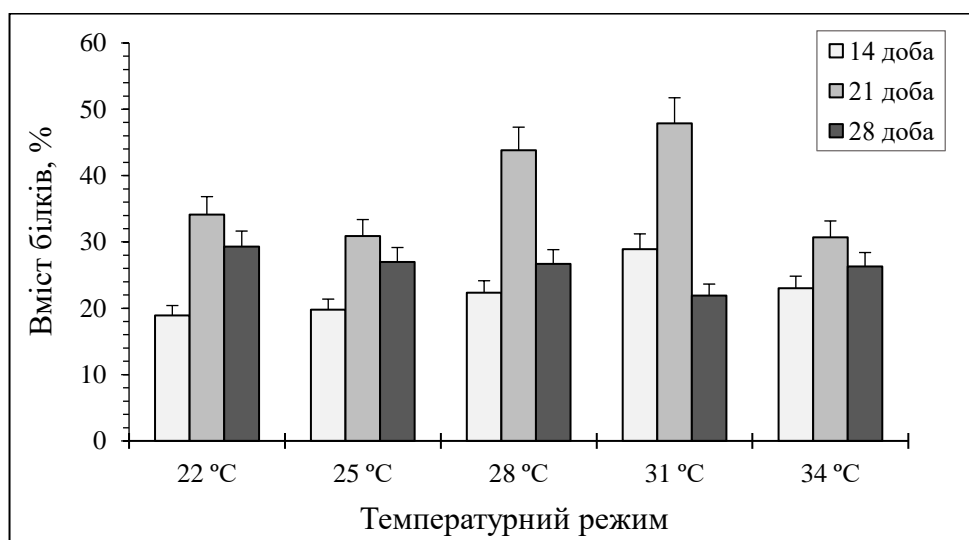


Рис. 3.18 Відносний вміст білків у клітинах *D. brasiliensis* за різної температури та тривалості вирощування,  $M \pm m$ ,  $n=3$ .

Експериментально доказано, що фаза росту культури суттєво впливає на біохімічний склад водоростей. Так, найвищий вміст білків зафіксовано у період пізньої фази експоненційного росту (21 доба), а з переходом на стаціонарну (28

доба) зменшення їх кількості в середньому у 1,7 разів ( $p=0,01$ ), що підтверджує загальну закономірність накопичення білків у мікрowodоростей залежно їх росту (див. рис. 3.2) [88, 177].

Отже, отримані експериментальні дані показують, що процес накопичення вмісту білків у зелених мікрowodоростей залежить від температурного режиму та фази росту.

**Ліпиди.** На відміну від вмісту білків у клітинах водоростей, які мають певну кількісну тенденцію залежно від життєвого циклу, відомості щодо ліпідів та вуглеводів менш однозначні [18]. Вміст ліпідів менше залежать від температурного режиму та фази росту, однак відзначається більшою видоспецифічністю [178, 222].

Отримані в процесі вирощування культури *D. brasiliensis* експериментальні дані показали, що найвищий вміст ліпідів у їхніх клітинах виявлено на експоненційній фазі росту (21 доба) за температури  $28\pm 1$  °C – 19 %, що у 1,2 рази статистично ( $p\leq 0,05$ ) перевищує найменший показник ( $22\pm 1$  °C). З виходом на стаціонарну фазу росту, амплітуда коливань вмісту ліпідів залежно від температурного режиму була досить низькою, що співпадає з літературними даними щодо їх накопичення упродовж розвитку (рис. 3.19) [88, 177].

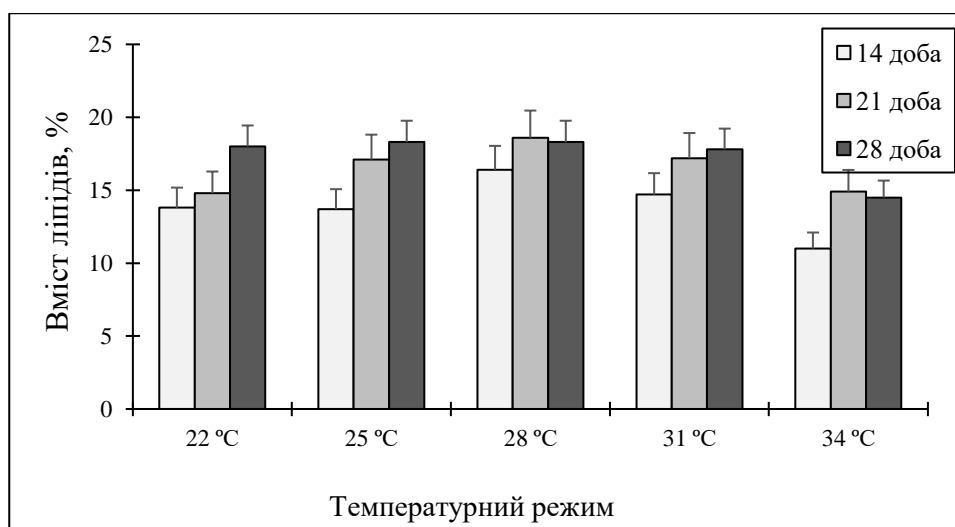


Рис. 3.19 Відносний вміст ліпідів у клітинах *D. brasiliensis* за різної температури та тривалості вирощування,  $M\pm m$ ,  $n=3$ .

Отже, можна констатувати, що найвищий вміст ліпідів у клітинах *D. brasiliensis* фіксується на експоненційній фазі росту за температури  $28\pm 1$  °C, із виходом на стаціонарну їх накопичення майже припиняється.

**Вуглеводи.** В той же час, найвищий вміст вуглеводів у клітинах *D. brasiliensis* зафіксовано на експоненційній фазі росту при  $31\pm 1$  °C – 14 %, що у 1,6 ( $p\leq 0,05$ ) рази перевищує їх найменший показник при  $25\pm 1$  °C. З переходом на стаціонарну фазу (28 доба) при температурах  $28\pm 1$ ,  $31\pm 1$  та  $34\pm 1$  °C зафіксовано достовірне зниження їх вмісту у 1,1–1,4 ( $p\leq 0,05$ ) рази (рис. 3.20).

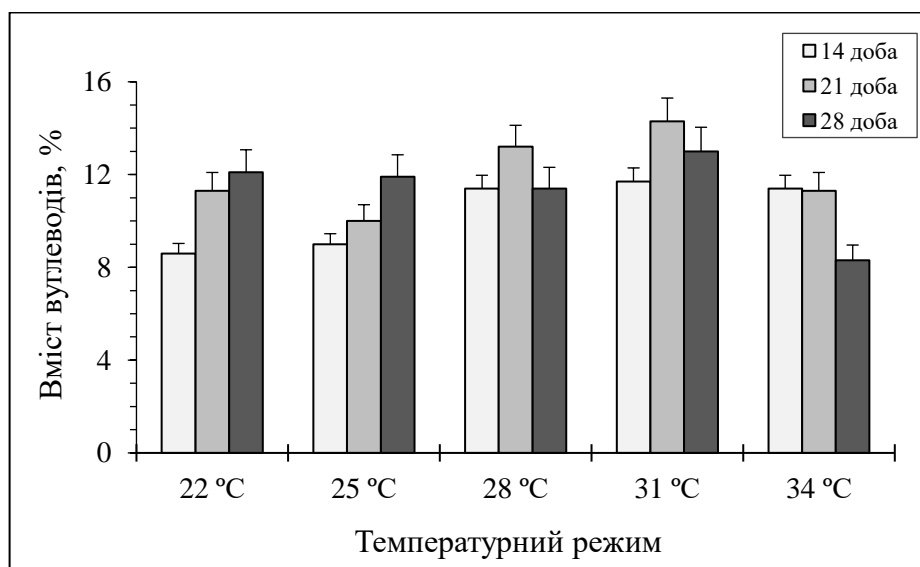


Рис. 3.20 Відносний вміст вуглеводів у клітинах *D. brasiliensis* за різної температури та тривалості вирощування,  $M\pm m$ ,  $n=3$ .

На молекулярному рівні показано, що у клітинах *D. brasiliensis* максимальний вміст білків та вуглеводів відзначено при  $31\pm 1$  °C, а ліпідів при  $28\pm 1$ . Можна припустити, що адаптація *D. brasiliensis* до дії температури, тісно пов'язана зі змінами протікання метаболічних процесів у клітинах, що супроводжується активацією енергоємних процесів, на забезпечення яких використовується білок, вуглеводи та ліпіди.

## **РОЗДІЛ 4 ВПЛИВ ЩІЛЬНОСТІ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО ФОТОННОГО ПОТОКУ ТА СПЕКТРАЛЬНОГО СКЛАДУ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЗЕЛЕНИХ МІКРОВОДОРОСТЕЙ**

Серед низки чинників, від яких залежить перебіг фотосинтетичних процесів, найважливішим є інтенсивність та спектральний склад світла. Кожен із цих показників може виступати лімітуючим чинником як за надлишку, так і за недостатнього рівня надходження і в першу чергу проявляється, через порушення функціонування фотосинтетичного апарату, що згодом позначається на усьому комплексі процесів метаболізму рослин [120, 121, 282].

### **4.1 Особливості росту за дії щільності фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу**

Фотосинтез – це фотохімічне перетворення, де кожна молекула активується поглинанням одного фотона, тому при вивченні інтенсивності освітлення доцільно використовувати число фотонів в діапазоні від 400 до 700 нм в секунду на поверхню площі, що має назву «щільність фотосинтетичного фотонного потоку» (PPFD) [36, 202]. Численні експериментальні дослідження проведені з визначення впливу PPFD на функціонування зелених мікробіодоростей, з метою встановлення оптимального діапазону для їх росту та розмноження [74, 120, 121, 157, 160, 240], проте, види навіть із одного роду відрізняються потребами у кількості світла, тому дослідження спрямовані на з'ясування даних меж залишаються актуальними.

На основі експериментів, проведених в умовах періодичного культивування встановлено, що за різної щільності PPFD інтенсивність росту досліджених видів зелених водоростей відзначається суттєвими відмінностями.

Зокрема, рівень PPFD не впливав на швидкість проходження лаг-фази, проте *D. brasiliensis* та *C. vulgaris* пройшли її у 3,5 рази швидше, ніж *M. griffithii* (2, 2 та 7 діб відповідно), що може свідчити про їх вищі пристосувальні можливості до нового середовища.

Фаза експоненційного росту у культур більш тривалою та інтенсивною була при PPFD 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>. В той час для *C. vulgaris* і *M. griffithii* її закінчення фіксували на 3-5 днів раніше за нижчих світлових режимів. Водночас, *D. brasiliensis* знаходився на даній фазі росту довше, ніж *C. vulgaris* та *M. griffithii* – у 1,2 та 1,5 разів відповідно. Рисунок 4.1 наочно показує, що інтенсивність росту досліджених видів лінійно залежить від PPFD.

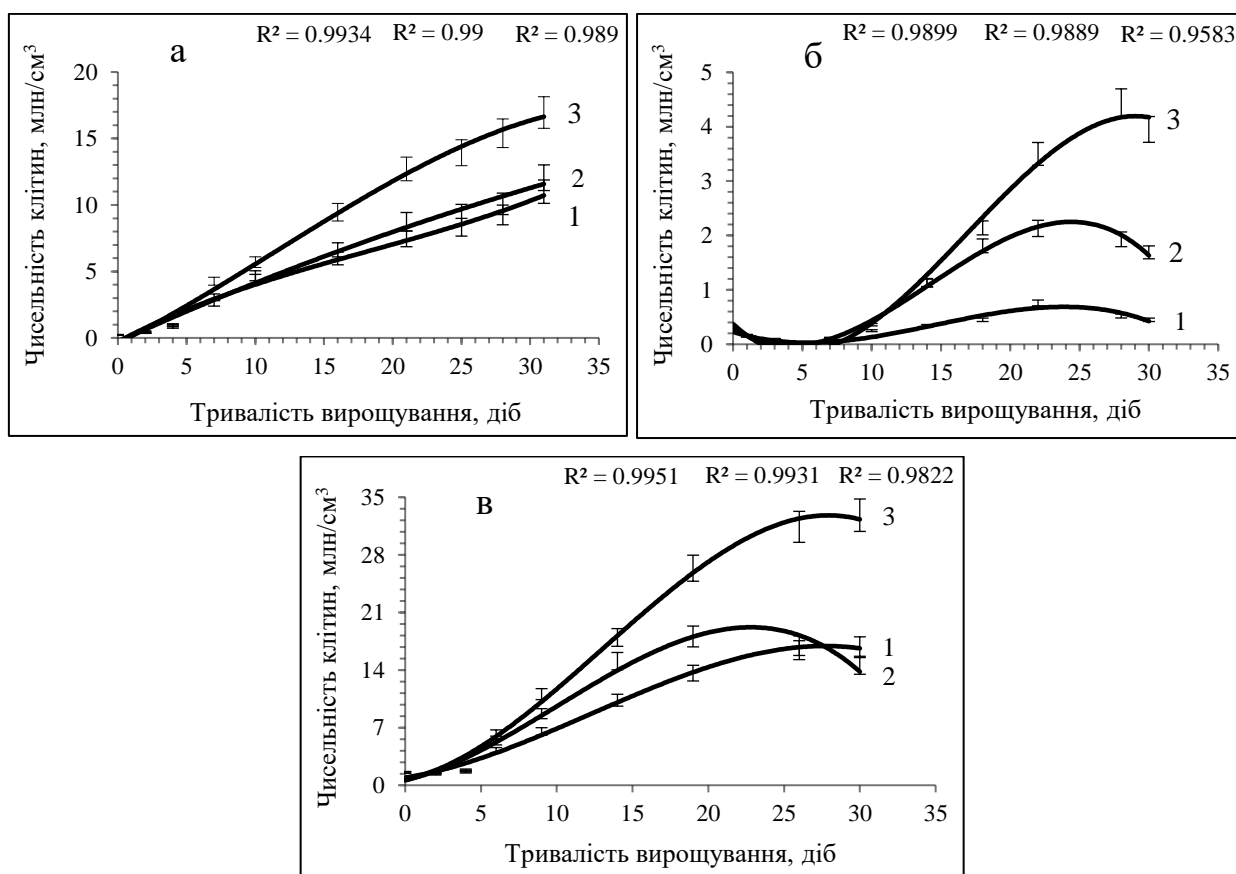


Рис. 4.1 Чисельність клітин *D. brasiliensis* (а); *M. griffithii* (б); *C. vulgaris* (в) в процесі вирощування за різної PPFD: 1 – 22,1 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>; 2 – 39,0 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>; 3 – 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>. Тут і рис. 4.2 – 4.4 R<sup>2</sup> – достовірність експоненційної апроксимації середнього арифметичного.

Отже, ріст зелених мікродоростей за різної щільності PPFD характеризується класичними закономірностями та відрізняється інтенсивністю та тривалістю фаз росту.

Вплив PPFD на питому швидкість росту вивчали на культурах зелених мікродоростей з родин Scenedesmaceae, Selenastraceae та Chlorrellaceae (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

**Показники питомої швидкості росту ( $\mu_{\text{сер}}$ , доба<sup>-1</sup>) зелених мікродоростей залежно від щільності фотосинтетичного фотонного потоку (PPFD, мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>),  $M \pm m$ , n=5**

Вид	Питома швидкість росту ( $\mu_{\text{сер}}$ , доба <sup>-1</sup> )		
	22,1 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>	39,0 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>	47,5 мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>
<i>D. brasiliensis</i>	0,14±0,010	0,14±0,011	0,19±0,020
<i>M. griffithii</i>	0,17±0,018	0,18±0,016	0,19±0,015
<i>C. vulgaris</i>	0,14±0,010	0,15±0,012	0,17±0,018

Отримані результати показали, що найвищі показники у всіх досліджених культур мікродоростей спостерігали при щільності PPFD 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>. Зокрема, *D. brasiliensis* при PPFD 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> у порівнянні з PPFD 22,1 та 39,0 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> з високою статистичною достовірністю ( $p < 0,05$ ) перевищував питому швидкість росту на 34 % і 29 %; *M. griffithii* на 20 % та 13 %; *C. vulgaris* на 23 % та 20 % відповідно.

Отже, встановлено, що оптимальний рівень щільності фотосинтетичного фотонного потоку для даних культур знаходиться щонайменше на рівні 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, проте для розкриття його адаптивного

потенціалу у повній мірі це потребує подальших досліджень із застосуванням вищих рівнів PPFD.

Функціонування мікроводоростей визначається не тільки кількістю, але і якістю світла, зокрема його спектрального складу. Зелені водорості краще ростуть на синьому (400–480 нм) та червоному (580–700 нм) спектрі, оскільки містять хлорофіл *a* і *b* – основні пігменти, чутливі до цієї довжини хвиль [169, 207].

Проведені експериментальні дослідження за умов періодичного культивування в залежності від спектрального складу світла, показали, що мікроводорості з різною тривалістю та швидкістю проходили фази росту. Зокрема, чітко виражену лаг-фазу мав лише *D. communis* при синьому спектрі з довжиною хвилі 400–480 нм. Фазу експоненційного росту на даному спектрі культура пройшла у 1,9 рази швидше, ніж при білому (400–700 нм) та червоному (580–700 нм), перейшовши на стаціонарну та відмирання. В той час, на червоному (580–700 нм) та білому (400–700 нм) спектрах культура активно зростала до кінця експозиції (рис. 4.2 а).

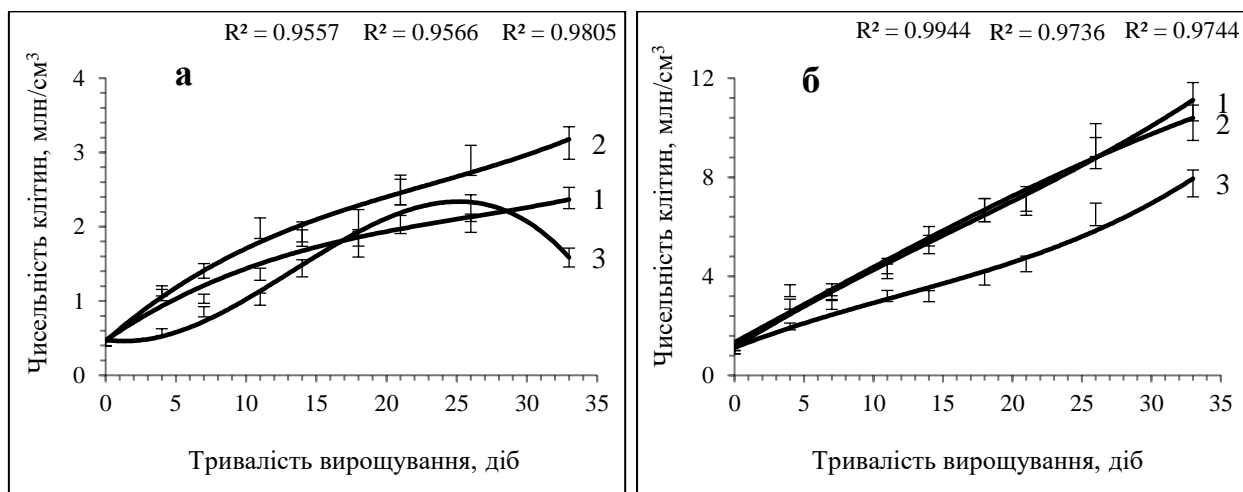


Рис. 4.2 Чисельність клітин культур зелених мікроводоростей *D. communis* (а) та *D. brasiliensis* (б) в процесі вирощування за різного спектрального складу світла: 1 – білий (400–700 нм); 2 – червоний (580–700 нм); 3 – синій (400–480 нм).



Водночас, для культури *D. brasiliensis*, за всіх спектрів тривалість експоненційної фази росту спостерігалася упродовж всього експерименту (див. рис. 4.2 б).

Інші культури, зокрема *T. obliquus*, *T. dimorphus*, *M. griffithii* та *M. gracile* також відзначалися відсутністю чітко вираженої лаг фази, проте червоний спектральний склад з довжиною хвилі 658–700 нм не сприяв інтенсивному розмноженню міководоростей, стимулюючи до швидшого проходження інших фаз росту (експоненційна, стаціонарна, відмирання) у 1,3 – 2,5 рази ( $p \leq 0,05$ ) (рис. 4.3).

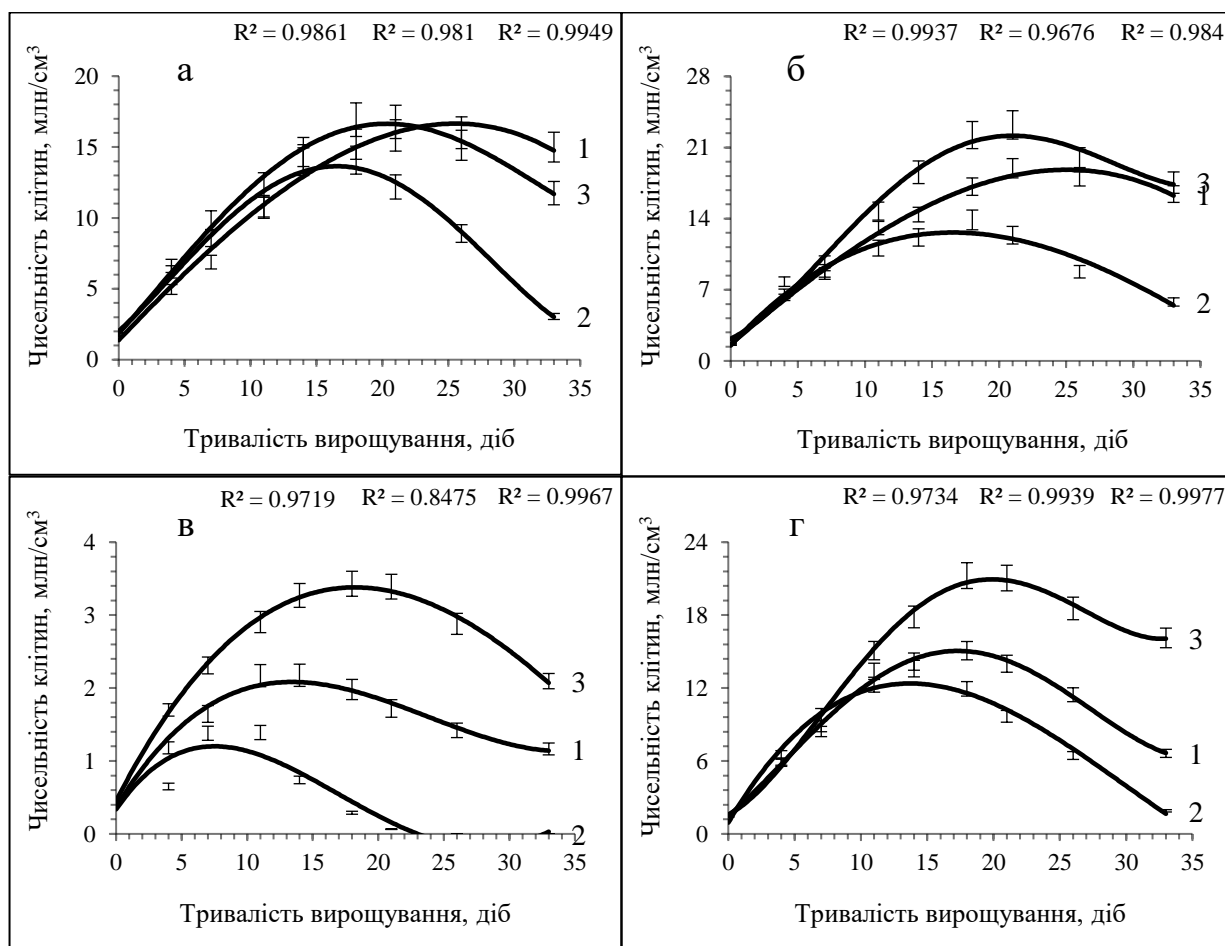


Рис. 4.3 Чисельність клітин культур зелених міководоростей *T. obliquus* (а), *T. dimorphus* (б), *M. griffithii* (в), *M. gracile* (г), в процесі вирощування за різного спектрального складу світла: 1 – білий (400–700 нм); 2 - червоний (580–700 нм); 3 – синій (400–480 нм).

Встановлено, що культура *C. vulgaris* також не мала чітко вираженої лаг-фази, в той час, спектральний склад світла не суттєво впливав на швидкість проходження інших фаз росту (рис. 4.4).

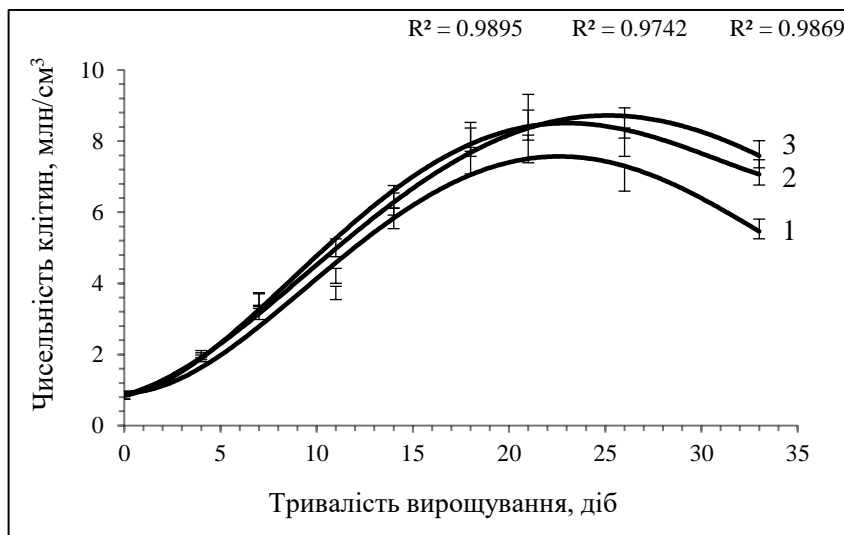


Рис. 4.4 Чисельність клітин культур зеленої мікроводорості *C. vulgaris* в процесі вирощування за різного спектрального складу світла: 1 – білий (400–700 нм); 2 - червоний (580–700 нм); 3 – синій (400-480 нм).

Аналіз отриманих результатів досліджень показників питомої швидкості росту за різного спектрального складу світла проводився для низки культур зелених мікроводоростей родин Scenedesmaceae, Selenastraceae та Chlorrellaceae на експоненційній фазі.

Так, найвищі значення зафіксовано для культури *M. griffithii* за синього спектрального складу (400–480 нм), що на 20 % ( $p=0,04$ ) та 57 % ( $p=0,01$ ) відповідно вище, ніж при білому (400–700 нм) та червоному (600–700 нм).

Для видів *T. dimorphus* та *M. gracile* найвищі показники питомої швидкості росту також відмічено при синьому спектрі з довжиною хвилі 400–480 нм, що на 21 % ( $p\leq 0,05$ ) і 13 % відповідно вище, ніж при білому (400–700 нм) та на 18 % і 43 % ( $p\leq 0,05$ ), ніж при червоному (580–700 нм) (табл. 4.2).

**Показники питомої швидкості росту ( $\mu_{\text{сер}}$ , доба<sup>-1</sup>) зелених мікроводоростей залежно від спектрального складу світла,  $M \pm m$ ,  $n=5$**

Вид	Питома швидкість росту ( $\mu_{\text{сер}}$ , доба <sup>-1</sup> )		
	Білий (400-700 нм)	Червоний (580-700 нм)	Синій (400-480 нм)
<i>D. communis</i>	0,10±0,010	0,11±0,012	0,09±0,009
<i>D. brasiliensis</i>	0,14±0,013	0,14±0,011	0,11±0,010
<i>T. obliquus</i>	0,15±0,013	0,15±0,013	0,15±0,011
<i>T. dimorphus</i>	0,12±0,010	0,12±0,012	0,14±0,012
<i>M. gracile</i>	0,13±0,012	0,10±0,012	0,15±0,012
<i>M. griffithii</i>	0,14±0,013	0,10±0,010	0,16±0,013
<i>C. vulgaris</i>	0,13±0,012	0,13±0,012	0,13±0,013

Водночас, *D. communis* віддавав перевагу культивуванню на червоному спектрі з довжиною хвилі 580–700 нм, де показники росту були вищими, ніж при білому (400–700 нм) та синьому (400–480 нм) відповідно на 9 % та 23 %. Вид *D. brasiliensis* мав вищі значення питомої швидкості росту при червоному і білому спекті ніж синьому, відповідно на 33 % ( $p \leq 0,05$ ) та 26 % ( $p \leq 0,05$ ).

У той же час, *T. obliquus* та *C. vulgaris* не виявляли статистично достовірної різниці росту в залежності від спектрального складу світла.

Отже, досліджена низка зелених мікроводоростей, характеризується різними особливостями реакції росту щодо впливу спектрального складу із різною довжиною хвилі. Тому, при їх культивуванні в штучних умовах під дією певної довжини хвилі, можна значно збільшити питому швидкість росту та продуктивність.

## 4.2 Варіабельність розмірів водоростевих клітин за різної щільності фотосинтетичного фотонного потоку

Встановлено, що розміри клітин мікрowodоростей залежать від низки чинників, серед яких однією із провідних є інтенсивність освітлення [182].

Так, в процесі проведених досліджень у аквакомплексі Інституту гідробіології НАН України показано, що найменші показники як довжини, так і ширини клітин, зафіксовані в культурі найбільш продуктивного виду зелених мікрowodоростей *D. brasiliensis*, який вирощено при щільності PPFD 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>. Також, за даного режиму помітно звужувались межі коливань обох розмірних характеристик, що свідчило про більш високу однорідність культури (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

### Розмірні характеристики *D. brasiliensis* залежно від щільності фотосинтетичного фотонного потоку (PPFD), n=50

PPFD, мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>	Довжина клітин (μm)		Ширина (μm)		Об'єм клітин (μm <sup>3</sup> )	
	Межі коливань	Середні значення	Межі коливань	Середні значення	Межі коливань	Середні значення
22,1	9,4÷15,2	12,2±0,3	4,0÷8,3	6,6±0,1	79,1÷553,3	282,2±4,8
39,0	9,1÷13,4	11,2±0,2	3,9÷8,0	6,5±0,2	71,2÷452,4	243,4±5,1
47,5	8,2÷11,9	10,3±0,2	3,2÷7,1	5,1±0,2	45,0÷313,2	139,0±3,8

Водночас, при PPFD 39,0 та 22,1 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> клітини були довшими на 3 % та 9 % , та ширшими на 12 та 11 % відповідно. Проте, за цих умов, суттєво зростала різниця між мінімальними та максимальними показниками розмірів клітин, порівняно з їх величиною при PPFD 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, що свідчить про меншу стабільну реакцію на вплив інтенсивності світла.

Клітини *D. brasiliensis* при найвищому рівні PPFD також мали Chlorophyta найменші показники об'єму клітин, що перевищували значення при PPFD 39,0 та 22,1 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> у 2,0 та 1,7 рази відповідно.

Отже, експериментально встановлено, що більш сприятливий для росту *D. brasiliensis* рівень PPFD (47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>) сприяє зменшенню розмірних характеристик їх клітин.

#### **4.3 Вміст білків, ліпідів і вуглеводів у клітинах Chlorophyta за впливу щільності фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу**

Відомо [94, 108, 119, 120, 160, 167], що на молекулярному рівні організації мікрводоростей, їх біохімічний склад зумовлений видоспецифічними особливостями до зміни рівня абіотичних чинників, зокрема, щільності фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу.

У процесі виконання дисертаційної роботи, виникла необхідність встановлення динаміки загального вмісту білків, ліпідів та вуглеводів у культурах зелених мікрводоростей *D. brasiliensis* та *M. griffithii* за різної щільності PPFD та спектрального складу світла.

**Білки.** Отримані статистично достовірні результати експериментів показали, що найвищий вміст білків у клітинах *D. brasiliensis* встановлено за умов культивування при PPFD 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, тоді як його зниження до 22,1 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> викликає зменшення їх вмісту на 17,1 %. Синій (400–480 нм) та червоний (580–700 нм) спектр світла, у порівнянні з білим (400–700 нм), збільшує вміст білків на 8 % та 18 % відповідно (рис. 4.5).

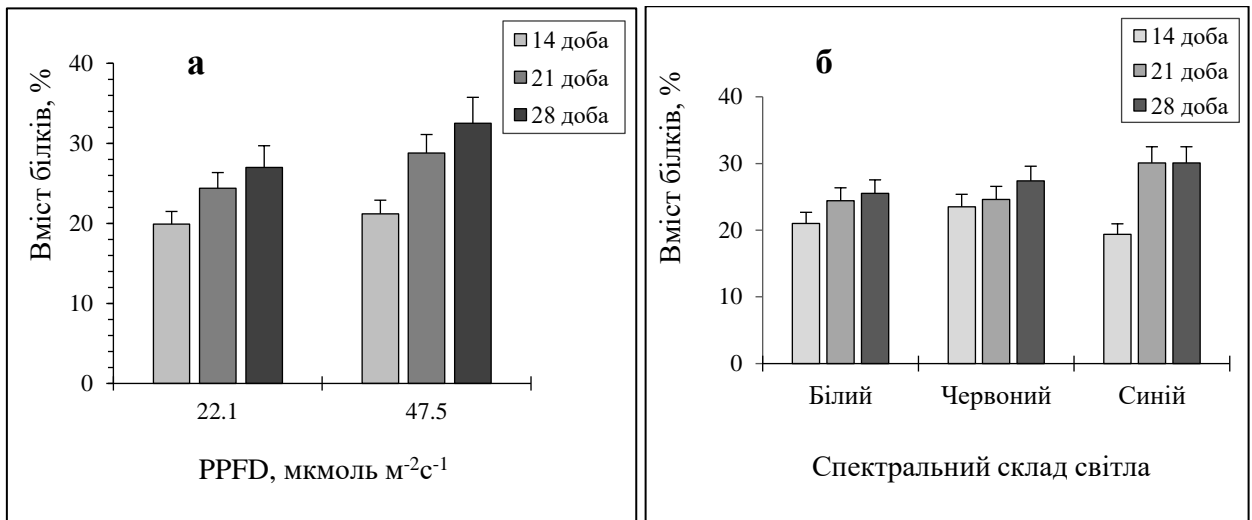


Рис. 4.5 Вміст білків у клітинах зеленої мікрободорості *D. brasiliensis*: за різної щільності PPFD (а): 22,1; 47,5  $\mu\text{кмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$  та спектрального складу світла (б): білий (400–700 нм); червоний (580–700 нм); синій (400–480 нм),  $M \pm m$ ,  $n=5$ .

При цьому, упродовж фази експоненційного росту (14–28 доба), спостерігалася чітка тенденція до підвищення вмісту білків на 36 % ( $p=0,03$ ), що підтверджується і літературними даними [32, 177].

Культура *M. griffithii*, також, з високою достовірністю мала найвищий вміст білків (21 %) на експоненційній фазі росту (14 доба) при синьому спектрі з довжиною хвилі 400–480 нм, тоді як при білому (400–700 нм) та червоному їх кількість була нижчою відповідно (580–700 нм) на 152 % ( $p \leq 0,01$ ) і 40 % ( $p \leq 0,05$ ). Однак, вже на 21 добу експерименту культура вийшла на стаціонарну фазу росту, що характеризувалося зменшенням вмісту білків на 6 %, 25 % та 36 % відповідно за білого, червоного, та синього спектрального складу (рис. 4.6).

Отже, вміст білків у клітинах мікрободоростей залежить як від видової приналежності, так і умов вирощування, зокрема рівня PPFD та спектрального складу світла.

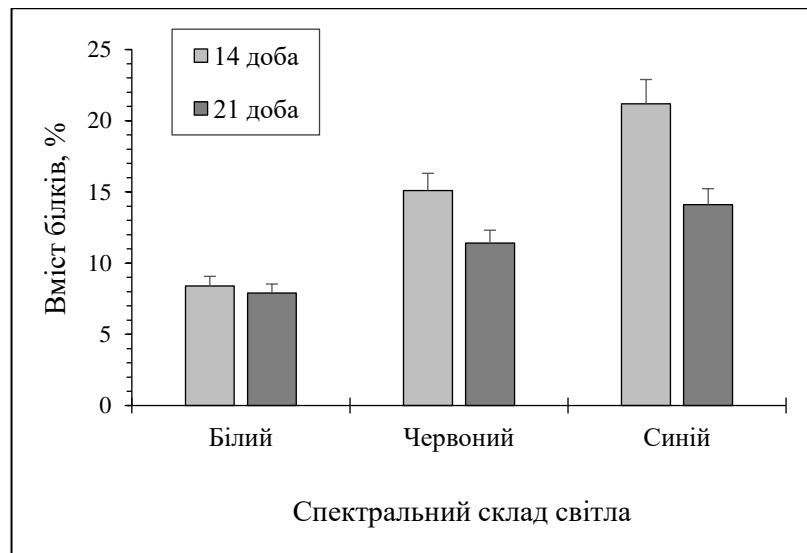


Рис. 4.6 Вміст білків у клітинах зеленої мікробіоти *M. griffithii* за різного спектрального складу: білий (400–700 нм); червоний (580–700 нм); синій (400–480 нм),  $M \pm m$ ,  $n=5$ .

**Ліпиди.** Виявлено, що найвищий вміст ліпідів у клітинах *D. brasiliensis*, спостерігали при щільності PPFD 22,1 мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$  (28 доба), що на 10 % ( $p=0,04$ ) перевищувало PPFD 47,5 мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$ . Червоний (580–700 нм) та синій (400–480 нм) спектральний склад дещо збільшував їх накопичення, у порівнянні з білим (400–700 нм) (рис. 4.7).

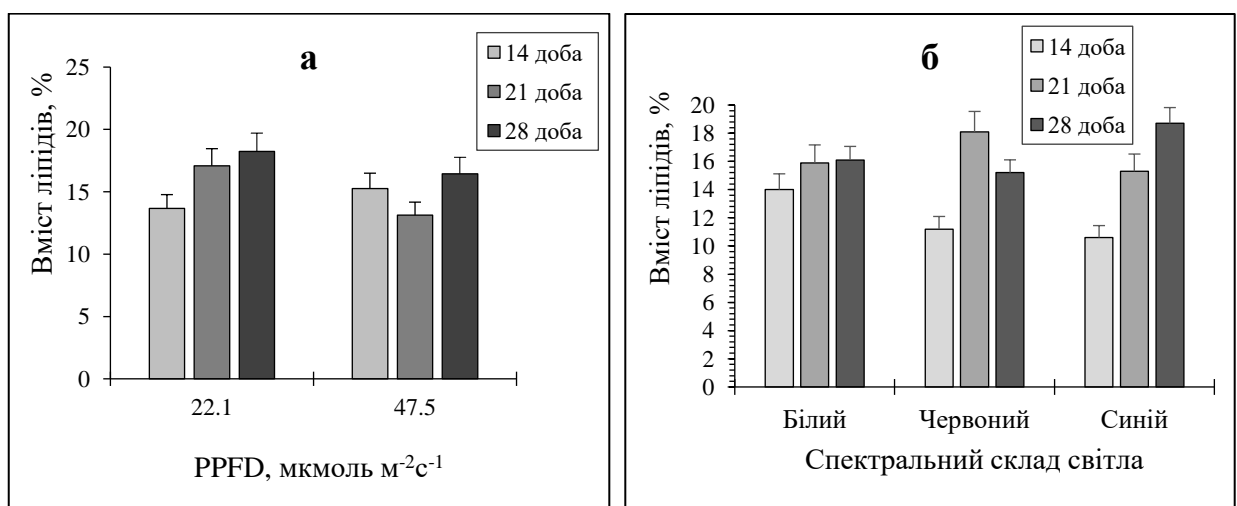


Рис. 4.7 Вміст ліпідів у клітинах зеленої мікробіоти *D. brasiliensis*: за різної щільності PPFD (а): 22,1; 47,5 мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$  та спектрального складу світла (б): білий (400–700 нм); червоний (580–700 нм); синій (400–480 нм).

В результаті виконання дисертаційної роботи підтверджено, що фаза росту суттєво впливає на вміст ліпідів у клітинах водоростей. Так, проведена низка експериментальних дослідів показує, що у культури *D. brasiliensis* на фазі експоненційного росту при PPFД 22,1 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> вміст ліпідів збільшився на 33 % ( $p \leq 0,05$ ) (14–28 доба). В той же час, за червоного (580–700 нм) та синього (400–480 нм) спектрального складу відмічено їх достовірне збільшення відповідно на 62 % ( $p \leq 0,01$ ) та 76 % ( $p \leq 0,01$ ) (14–21 доба).

В той же час, в процесі культивування *M. griffithii*, найвищий вміст ліпідів (23 %) відмічено на експоненційній фазі росту (14 доба) за червоного спектру, де показники перевищували білий та синій відповідно на 72 % ( $p \leq 0,01$ ) та 27 % ( $p = 0,04$ ). З виходом на стаціонарну фазу росту (21 доба) їх кількість дещо зменшилася (рис. 4.8).

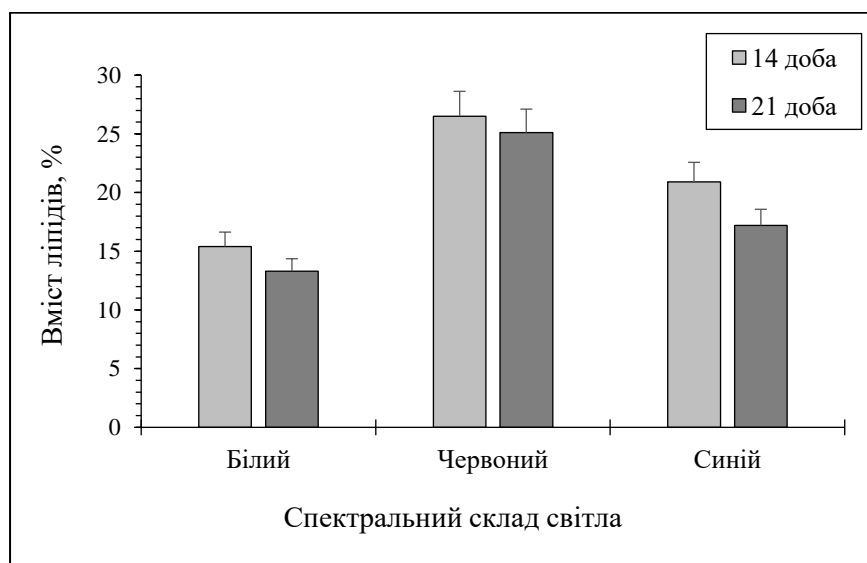


Рис. 4.8 Вміст ліпідів у клітинах зеленої мікроводорості *M. griffithii* за різного спектрального складу світла: білий (400–700 нм); червоний (580–700 нм); синій (400–480 нм),  $M \pm m$ ,  $n=5$ .

Отже, показано що накопичення ліпідів у клітинах *D. brasiliensis* та *M. griffithii* характеризується фізіологічними особливостями виду, а також, залежить від щільності фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу світла.



**Вуглеводи.** Встановлено, що вміст вуглеводів у культурі *D. brasiliensis* найбільший був при PPFД 22,1 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> (28 доба), що на 29 % ( $p \leq 0,05$ ) перевищувало показники при PPFД 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>. В той же час, на червоному спектрі (580–700 нм) (14 доба) спостерігається збільшення зазначеного показника на 28 % ( $p \leq 0,05$ ) та 43 % ( $p \leq 0,05$ ), у порівнянні з білим (400–700 нм) та синім (400–480 нм) відповідно (рис. 4.9).

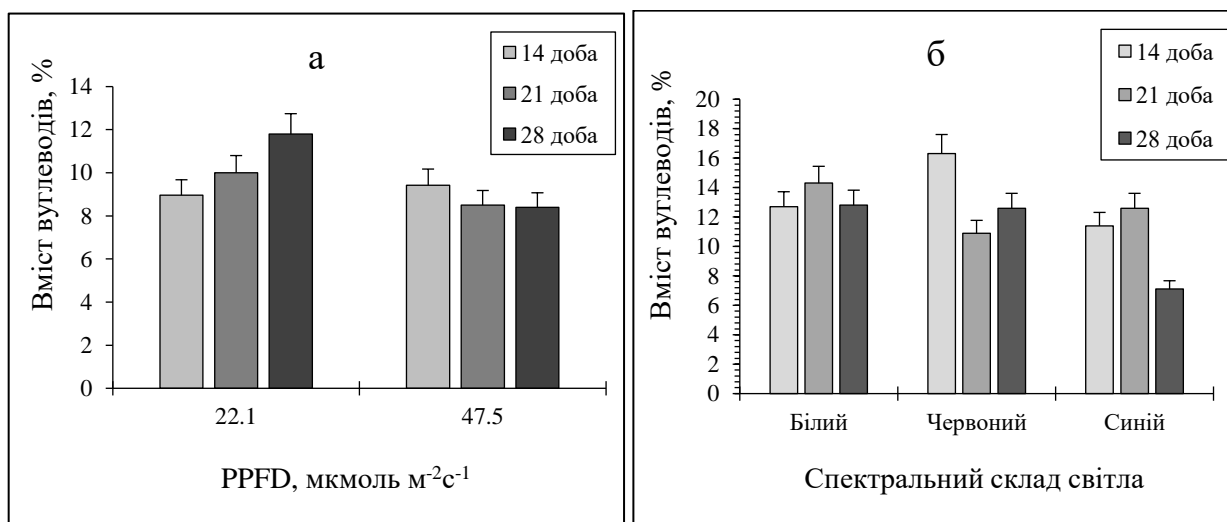


Рис. 4.9 Вміст вуглеводів у клітинах зеленої мікрободорості *D. brasiliensis*: за різної щільності PPFД (а): 22,1; 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> та спектрального складу світла (б): білий (400–700 нм); червоний (580–700 нм); синій (400–480 нм),  $M \pm m$ ,  $n=5$ .

Експериментально показано, що у культурі *D. brasiliensis* їх вміст упродовж даного періоду (14–28 доба) змінювався досить неоднозначно – при PPFД 22,1 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> підвищився на 32 % ( $p \leq 0,05$ ), а при 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> знизився на 11 %.

В той же час, для мікрободоростей виду *M. griffithii*, найвищий вміст вуглеводів (27 %) зафіксовано на експоненційній фазі росту (14 доба) при синьому спектрі з довжиною хвилі 400–480 нм, що на 89 % ( $p \leq 0,01$ ) та 99 % ( $p \leq 0,01$ ) перевищувало зазначений показник відповідно на білому та червоному. Проте, з виходом на стаціонарну фазу (21 доба), їх вміст зменшився в на 34 % ( $p \leq 0,05$ ) (рис. 4.10).

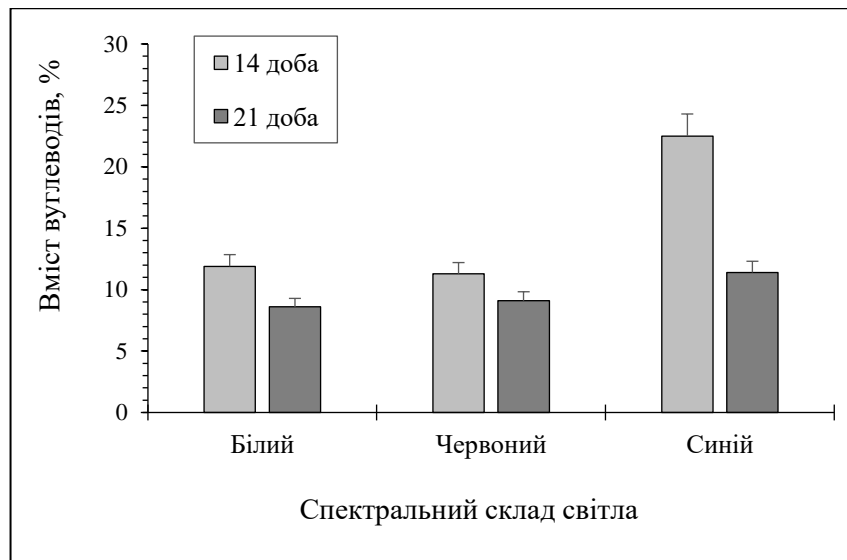


Рис. 4.10 Вміст вуглеводів у клітинах зеленої мікроводорості *M. griffithii* за різного спектрального складу світла: білий (400–700 нм); червоний (580–700 нм); синій (400–480 нм),  $M \pm m$ ,  $n=5$ .

Результати досліджень на молекулярному рівні показали, що щільність фотосинтетичного фотонного потоку (PPFD) та спектрального складу з різною довжиною хвилі суттєво впливає на вміст біологічно цінних сполук у клітинах зелених мікроводоростей. Зокрема, у клітинах культури *D. brasiliensis* найвищий вміст білків зафіксовано при PPFD  $47,5 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$  та синьому спектрі (400–480 нм), ліпідів при  $22,1 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$  та синьому спектрі (400–480 нм), вуглеводів – при  $22,1 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$  та червоному спектрі (600–700 нм). Водночас, у культури *M. griffithii* при синьому спектрі зафіксовано збільшення білків та вуглеводів, а при червоному – ліпідів.

Підсумовуючи отримані результати, можна припустити, що адаптація мікроводоростей до фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу світла тісно пов'язана зі змінами протікання метаболічних процесів у його клітинах, що супроводжується активацією енергоємних процесів, на забезпечення яких використовується білок, вуглеводи та ліпіди. Таким чином, за рахунок регуляції рівня PPFD та спектрального складу з різною довжиною хвилі, можна суттєво підвищити показники росту та розмноження зелених мікроводоростей, що є проявом їх адаптивного потенціалу.

## РОЗДІЛ 5 ОЦІНКА ВПЛИВУ ПОЖИВНИХ РЕЧОВИН НА РОСТОВІ ПОКАЗНИКИ CHLOROPHYTA ЗА УМОВ ПЕРІОДИЧНОГО КУЛЬТИВУВАННЯ

У природних умовах представники зелених мікроводоростей масово розвиваються при співвідношенні неорганічного азоту та фосфору фосфатів – 15:1 [35]. В той же час, недостатньо даних щодо того, яке співвідношення цих елементів є оптимальним при їх культивуванні в штучних умовах. Існує безліч середовищ, які відрізняються за їх вмістом та співвідношенням і використовуються при вирощуванні представників Chlorophyta.

З метою з'ясування впливу поживних елементів, зокрема неорганічного азоту та фосфору фосфатів, на процеси росту та розмноження культур зелених мікроводоростей родин Scenedesmaceae, Selenastraceae, Chlorellaceae, обрано середовища, що відрізняються за їх вмістом та співвідношенням (табл. 5.1).

*Таблиця 5.1*

### Хімічний склад поживних середовищ культивування водоростей (г/дм<sup>3</sup>) [28]

Макроелементи	Середовище					
	Фітцджеральда		Тамія		Болда	
	Наважка солі	Кількість N/P	Наважка солі	Кількість N/P	Наважка солі	Кількість N/P
NaNO <sub>3</sub> (KNO <sub>3</sub> )	0,496	0,080 N	5,000	0,690 N	0,250	0,040 N
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,039	0,007 P			0,075	0,013 P
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>			1,250	0,285 P	0,175	0,040 P
MgSO <sub>4</sub> x7H <sub>2</sub> O	0,075		2,500		0,075	
CaCl <sub>2</sub>	0,036				0,025	
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0,020					
NaCl					0,025	
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	0,058					
Fe лимоннокисле	0,006					
FeSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O			0,003		0,003	
Лимонна кислота	0,006					
ЕДТА	0,001		0,037			

Так, середовище Тамія, порівняно з Фітцджеральда та Болда, бідніше за числом макроелементів, проте містило відповідно у 8,6 та 17,2 разів більшу кількість доступного для водоростей азоту нітратів, а також значно вищу концентрацію фосфору фосфатів – у 40,7 та 5,4 разів. Середовище Болда переважало середовище Фітцджеральда за кількістю фосфору фосфатів у 7,6 разів.

Водночас, при порівнянні вмісту біогенних елементів у середовищах, показано, що суттєва різниця між ними полягала у співвідношенні азоту та фосфору фосфатів: Фітцджеральда – 11:1, Болда – 1:1, Тамія – 2:1 (табл. 5.2).

*Таблиця 5.2*

**Вміст основних біогенних макроелементів в поживних середовищах**

Макроелементи	Поживне середовище		
	Фітцджеральда	Тамія	Болда
Азот нітратів, г/дм <sup>3</sup>	0,081	0,690	0,040
Фосфор фосфатів, г/дм <sup>3</sup>	0,007	0,285	0,053
Співвідношення N/P	11 : 1	2,4 : 1	1 : 1,4

Необхідно відмітити, що використані середовища також відрізнялися за складом аніонів та катіонів, зокрема середовище Тамія не містило хлоридів і кальцію, а Фітцджеральда мало карбонати і силікати, на відміну від інших поживних середовищ.

**5.1 Особливості росту зелених мікроводоростей за різного хімічного складу поживних середовищ та температурного режиму**

Результати експериментальних даних показують, що різниці у величинах середньодобові коефіцієнтів збільшення чисельності клітин

культур зелених мікродоростей, свідчать про суттєві відмінності залежно від концентрації біогенних елементів – азоту та фосфору [192] (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

**Середньодобові коефіцієнти збільшення чисельності клітин зелених мікродоростей при комплексному впливі різних середовищ та температур, n=5**

Вид	Коефіцієнти збільшення чисельності клітин, k														
	Фітцджеральда					Болда					Тамія				
	22 °C	25 °C	28 °C	31 °C	34 °C	22 °C	25 °C	28 °C	31 °C	34 °C	22 °C	25 °C	28 °C	31 °C	34 °C
<i>S. obtusus</i>	0,52	0,75	0,56	0,57	0,65	0,19	0,19	0,22	0,23	0,15	0,04	0,05	0,04	0,05	0,05
<i>S. ellipticus</i>	1,17	1,40	1,44	1,60	1,7	0,42	0,29	0,32	0,23	0,19	0,04	0,07	0,09	0,06	0,07
<i>D. communis</i>	0,26	0,25	0,31	0,34	0,19	0,14	0,12	0,12	0,10	0,10	0,08	0,06	0,08	0,03	0
<i>D. subspicatus</i>	0,71	0,33	0,23	0,22	0,24	0,14	0,08	0,08	0,06	0,07	0,08	0,12	0,07	0,05	0,05
<i>D. brasiliensis</i>	2,30	2,26	3,15	3,39	4,13	0,58	0,77	0,96	0,90	1,17	0,11	0,12	0,09	0,12	0,10
<i>T. obliquus</i>	0,34	0,32	0,37	0,34	0,37	0,18	0,19	0,14	0,15	0,14	0,04	0,04	0,05	0,04	0,05
<i>T. dimorphus</i>	2,29	2,25	2,94	2,24	2,03	3,68	3,17	3,42	2,93	2,12	0,14	0,24	0,19	0,15	0,07
<i>M. gracile</i>	0,30	0,20	0,11	0,11	0,08	0,17	0,09	0,07	0,04	0	0,06	0,05	0,03	0,04	0,04
<i>M. griffithii</i>	1,32	1,06	0,47	0,29	0	0,12	0,12	0,12	0,04	0	0,10	0,14	0,11	0,04	0
<i>C. vulgaris</i>	0,48	0,55	0,76	0,80	0,82	0,35	0,57	0,56	0,56	0,49	0,17	0,16	0,18	0,13	0,14

Встановлено, що найбільший приріст чисельності клітин на середовищі Фітцджеральда, яке є багатим на азот нітратів зафіксовано у *D. brasiliensis* при температурі  $34\pm 1$  °C, у той час, на середовищі насиченим фосфором фосфатів (Болда) за оптимальної для цього виду температури –  $34\pm 1$  °C, показники були майже втричі нижчі.

Представники цього ж роду – *D. subspicatus* та *D. communis* за цих умов не проявляли високу швидкість росту, однак при високому вмісту азоту нітратів у першій культурі показники були вищими при температурі  $22\pm 1$  °C, а у другій – при  $34\pm 1$  °C. Для всіх вище зазначених культур з роду *Desmodesmus* надмірна концентрація біогенних елементів (середовище Тамія) пригнічувала ріст водоростей. Це свідчить про те, що культури даного роду віддають перевагу помірним концентраціям азоту нітратів та фосфору фосфатів у співвідношенні 11:1 [176].

Серед досліджених культур роду *Tetradesmus* мікроводорості *T. dimorphus* при температурі  $28\pm 1$  °C та підвищеному вмісту азоту нітратів виявили досить високі ростові показники. Однак, необхідно зазначити, що цей вид був єдиним представником, який віддавав перевагу середовищу з підвищеною концентрацією фосфору фосфатів (Болда), та мав найвищий середньодобовий коефіцієнт збільшення чисельності клітин. Слід зазначити, що у порівнянні з іншими, дана культура при  $25\pm 1$  °C показала найвищі результати на середовищі, що є багатим, як на азот нітратів, так і на фосфор фосфатів (Тамія), хоча результати були значно нижчими ніж на середовищах з помірними концентраціями біогенних елементів (Фітцджеральда, Болда).

Інший представник даного роду *T. obliquus* відрізнявся реакцією щодо впливу біогенних елементів та мав значно менші коефіцієнти збільшення чисельності клітин, ніж *T. dimorphus*. Середовище багате на азот (Фітцджеральда) виявилось більш сприятливим для цього виду, в той час як середовище Тамія було перенасичене вмістом біогенних елементів та спричиняло його загибель.

Зелені мікродорості роду *Scenedesmus* (*S. ellipticus* та *S. obtusus*) також віддавали перевагу середовищу багатому на азот нітратів, ніж на фосфор фосфатів. За високої концентрації біогенних елементів (середовище Тамія) обидві культури показали низьку швидкість росту [192].

В той же час, відмічено, що у представника *C. vulgaris* вміст азоту нітратів і фосфору фосфатів не здійснював істотного впливу на показники росту.

Встановлено, що мікродорості *M. gracile* та *M. griffithii*, що належать до родини Selenastraceae показали подібну реакцію на дію середовища з високою концентрацією азоту нітратів (Фітцджеральда) при температурі  $22\pm 1$  °C. Підвищення температури до  $34\pm 1$  °C викликало зменшення середньодобових коефіцієнтів збільшення чисельності клітин у *M. gracile* та 100 % смертність клітин у *M. griffithii*. Інші середовища за цих температур виявилися ще менш сприятливими.

Дослідження інтенсивності росту мікродоростей родин Scenedesmaceae, Selenastraceae, Chlorellaceae на різних фазах росту при періодичному культивуванні мало певні відмінності залежно від співвідношення азоту нітратів та фосфору фосфатів. Більш висока інтенсивність росту у досліджених видів водоростей спостерігалась на середовищі багатому сполуками неорганічного азоту (Фітцджеральда).

Проходження фаз росту для культур роду *Scenedesmus* відбувалося з різною тривалістю. Так, *S. obtusus* у 3,5 рази швидше пройшов лаг-фазу (2 доби) ніж *S. ellipticus* (7 діб), тим самим прискоривши вихід на фазу експоненційного росту. Показники питомої швидкості росту у *S. ellipticus* у порівнянні з *S. obtusus* були вищими на 50 % ( $p\leq 0,05$ ) (рис. 5.1 а,б).

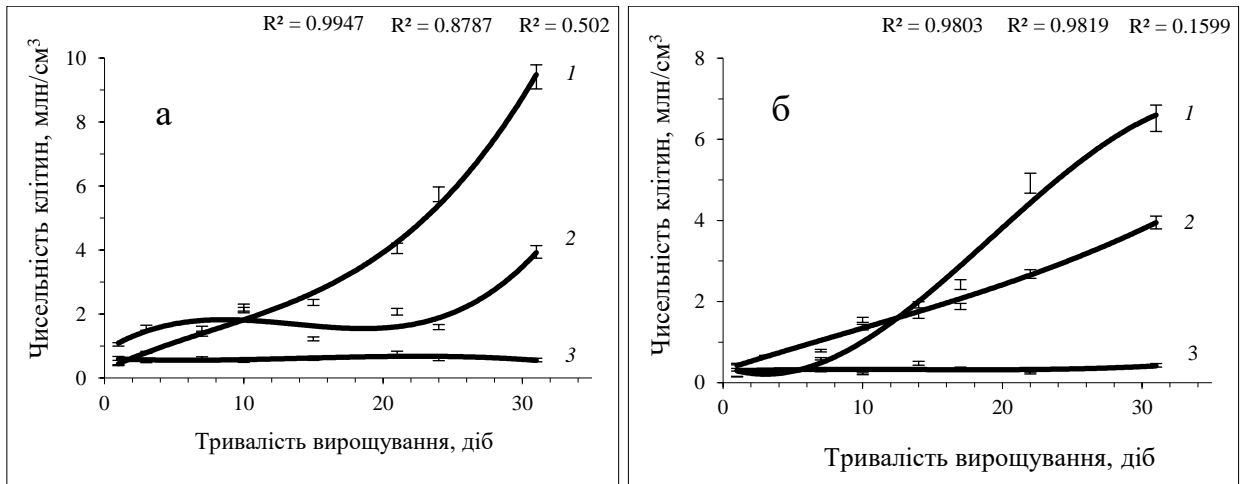


Рис. 5.1 Чисельність клітин *S. obtusus* (а); *S. ellipticus* (б); при вирощуванні культур мікроводоростей на середовищах Фітцджеральда (1), Болда (2) і Тамія (3) при температурі  $25 \pm 1$  °С (рис. 5.1 – 5.5:  $R^2$  – достовірність експоненційної апроксимації середнього арифметичного).

Представники роду *Tetradesmus* (*T. obliquus* та *T. dimorphus*) однаково швидко пройшли лаг-фазу (2 доби), вийшовши на фазу експоненційного росту. Проте, за показниками питомої швидкості росту культура *T. dimorphus* на 50 % ( $p \leq 0,05$ ) перевищувала *T. obliquus* – 0,14 та 0,07 доба<sup>-1</sup> відповідно (рис. 5.2).

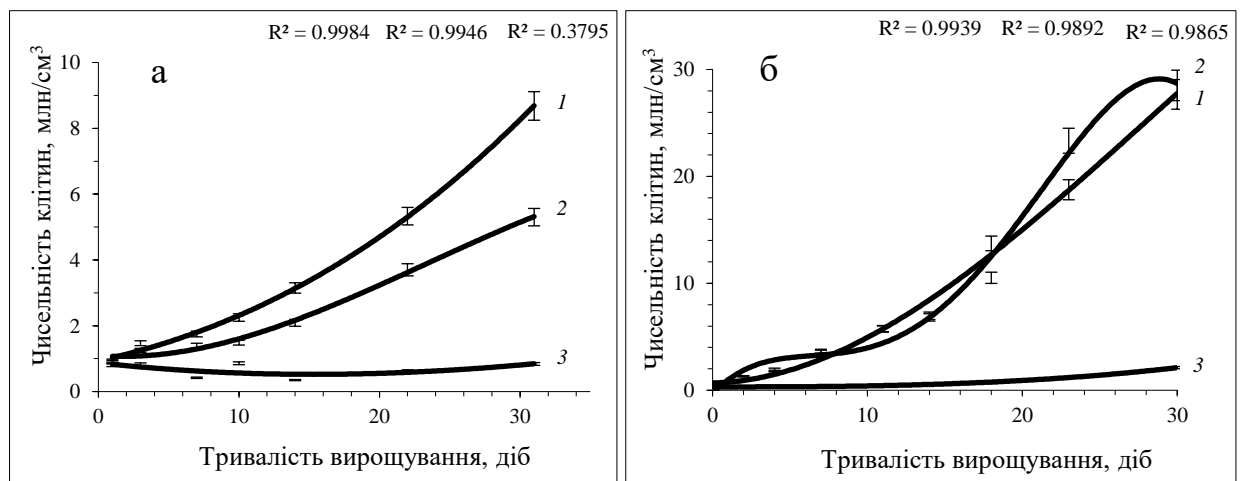


Рис. 5.2 Чисельність клітин *T. obliquus* (а) та *T. dimorphus* (б) при вирощуванні культур мікроводоростей на середовищах Фітцджеральда (1), Болда (2) і Тамія (3) при температурі  $25 \pm 1$  °С.



Тим часом, серед представників роду *Desmodesmus*, *D. brasiliensis* найшвидше пройшов лаг фази (2 доби), що у 4 рази швидше, ніж *D. communis* та *D. subspicatus* (8 діб). При цьому, показники питомої швидкості росту були вищими у *D. brasiliensis* на 50%, порівняно з *D. communis* ( $p \leq 0,05$ ) та *D. subspicatus* ( $p \leq 0,05$ ) – 0,12; 0,08 та 0,08 доба<sup>-1</sup> відповідно (рис. 5.3).

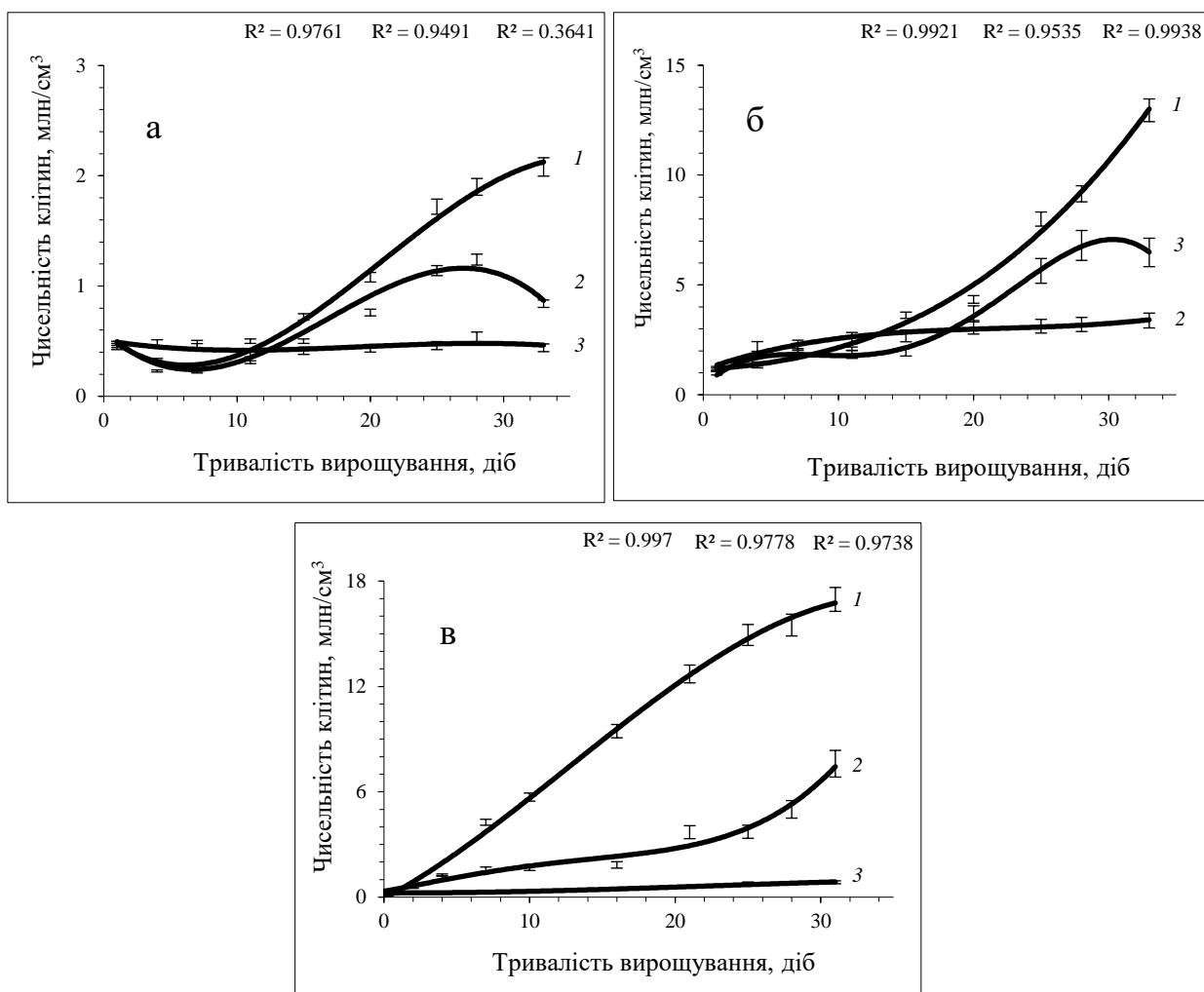


Рис. 5.3 Чисельність клітин *D. communis* (а), *D. subspicatus* (б) та *D. brasiliensis* (в) при вирощуванні культур мікрроводоростей на середовищах Фітцджеральда (1), Болда (2) і Тамія (3) при температурі 25±1 °С.

Отримані результати свідчать, що представники родини Scenedesmaceae з різною інтенсивністю та швидкістю проходили фази росту залежно від вмісту та співвідношення неорганічного азоту азоту та фосфору фосфатів.

Культури *M. gracile* та *M. griffithii*, що належать до родини Selenastraceae, характеризуються більш тривалим проходженням лаг-фази порівняно з іншими дослідженими культурами зелених мікроводоростей – 10 та 15 діб відповідно. Це може свідчити менш вираженими адаптивними реакціями даних видів мікроводоростей до нових умов середовища (рис. 5.4).

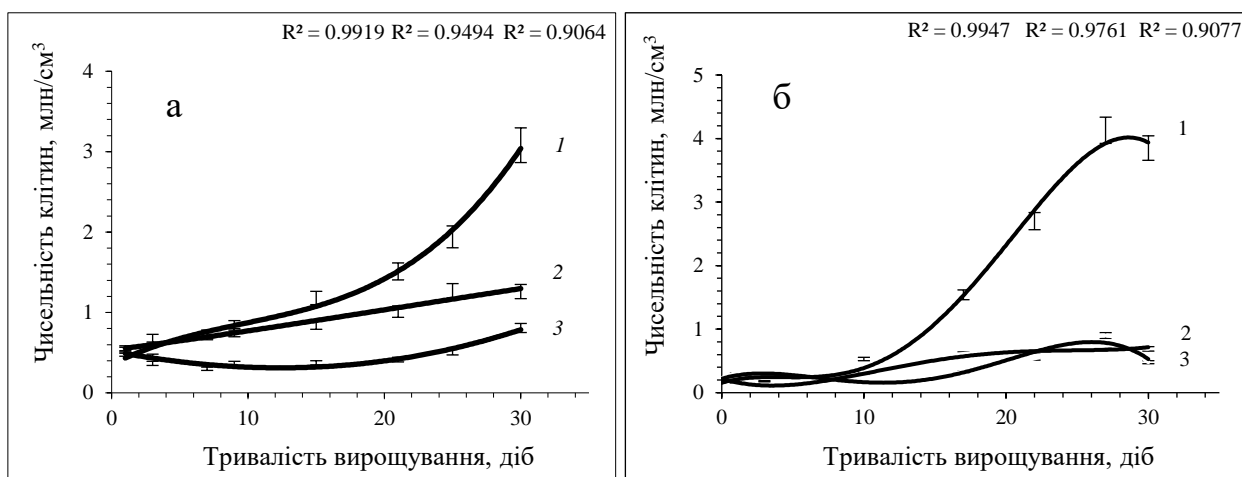


Рис. 5.4 Чисельність клітин *M. gracile* (а) та *M. griffithii* (б) в при вирощуванні культур мікроводоростей на середовищах Фітіджеральда (1), Болда (2) і Тамія (3) при температурі  $25 \pm 1$  °С.

При цьому показники питомої швидкості росту *M. griffithii* у 2,5 разів ( $p=0,02$ ) перевищували показники *M. gracile* – 0,15 та 0,06 доба<sup>-1</sup> відповідно.

У культури *C. vulgaris* (родина Chlorellaceae) не було чітко зареєстровано наявності лаг-фази, що свідчить про її швидку адаптацію. Проте, фаза експоненційного росту тривала до 27 доби при питомій швидкості росту – 0,10 доба<sup>-1</sup> (рис. 5.5).

Так, для умов періодичного культивування зелених мікроводоростей помірні концентрації азоту нітратів і незначні фосфору фосфатів у співвідношенні 11:1 (середовище Фітіджеральда) позитивно впливають на ріст всіх досліджених культур мікроводоростей, особливо *S. ellipticus*, *D. brasiliensis* та *T. dimorphus*.

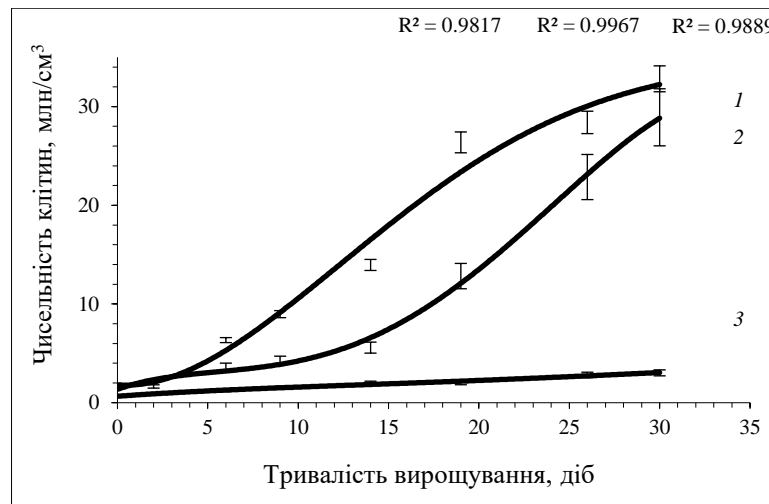


Рис. 5.5 Чисельність клітин *C. vulgaris* при вирощуванні культур мікроводоростей на середовищах Фітцджеральда (1), Болда (2) і Тамія (3) при температурі 25 °С.

Однакове співвідношення азоту нітратів та фосфору фосфатів з помірними концентраціями (середовище Болда) сприяє росту та розмноженню лише *T. dimorphus* та *C. vulgaris*.

Високі концентрації азоту нітратів і фосфору фосфатів (середовище Тамія) негативно впливають на протікання фотобіосинтезу всіх досліджених видів, що свідчить про нераціональність його використання при періодичному культивуванні мікроводоростей.

Отже, дослідження інтенсивності росту та шитої швидкості росту низки зелених мікроводоростей залежно від вмісту поживного середовища, показало певні відмінності, що є складовими їх адаптивного потенціалу, які необхідно враховувати при культивуванні в штучних умовах.

## 5.2 Вплив поживних речовин на варіабельність морфометричних показників зелених мікроводоростей

Розміри клітин мікроводоростей є однією з їх діагностичних ознак, проте вони не є сталою величиною, а їх варіабельність може бути пов'язана як з генетично обумовленими особливостями видів, так і з впливом зовнішніх

чинників [75, 76], зокрема із складом поживного середовища, на якому культивуються водорості [24, 182]. Як правило, оптимальні умови для росту водоростей сприяють збільшенню щільності культур, при цьому розміри їх клітин мають тенденцію до зменшення [167]. В той же час, на сьогодні не встановлено дію поживного середовища на морфометричні показники зелених мікрowodоростей, що є одним із провідних показників, при отриманні високої біомаси.

В процесі вирощування *T. dimorphus*, як одного із найбільш стійких видів до біогенних елементів, порівняно розміри їх клітин на середовищах з різною концентрацією азоту і фосфору фосфатів. З'ясовано, що найкрупніші клітини за середніми показниками об'єму клітин спостерігалися на середовищі зі співвідношення азоту і фосфору фосфатів 1:1 (Болда), що у 1,7 рази ( $p=0,02$ ) перевищували 11:1 (Фітцджеральда) та у 2,1 рази ( $p=0,01$ ) - 2:1 (Тамія) [182] (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

**Розмірні характеристики *T. dimorphus* при вирощуванні на середовищах Фітцджеральда, Болда, Тамія, n=50**

Середовище (N:P)	Довжина клітин ( $\mu\text{m}$ )		Ширина клітин ( $\mu\text{m}$ )		Об'єм клітин ( $\mu\text{m}^3$ )	
	Межі коливань	Середні значення	Межі коливань	Середні значення	Межі коливань	Середні значення
Фітцджеральда (11:1)	11,4÷14,4	12,6±0,2	3,8÷5,8	4,56±0,2	41,9÷116,6	59,1±2,9
Болда (1:1)	11,9÷17,3	14,9±0,3	4,6÷7,0	5,50±0,2	66,4÷200,4	98,0±6,3
Тамія (2:1)	7,1÷17,0	12,8±0,5	3,2÷6,1	4,69±0,3	20,4÷147,0	46,2±7,3

Слід зазначити, що попри дуже близькі середні показники розмірів довжини та ширини клітин *T. dimorphus* на середовищах зі співвідношення азоту і фосфору фосфатів 1:1 (Болда) та 11:1 (Фітцджеральда), межі коливань їх об'ємів на першому у 1,2 рази більші.

Водночас на середовищі зі співвідношення азоту і фосфору фосфатів 2:1 (Тамія) межі коливань показників довжини та ширини були ще ширшими, що свідчить про значну неоднорідність культури *T. dimorphus* за цих умов. Висока варіабельність розмірних характеристик клітин цієї водорості особливо помітна при порівнянні їх об'єму, мінімальні і максимальні величини якої відрізнялись більше, ніж в 7,2 разів, що свідчить про нестабільну реакцію виду на вплив високих концентрацій біогенних елементів. (див. табл. 5.4).

Отримані результати підтверджують літературні дані, для *T. obliquus* (Turpin) M.J. Wynne, ізольованого з водойм Туреччини [186] та *Nannochloropsis oculata* і *C. vulgaris*, які вирощували як продуцентів біомаси [167]. Однак, позитивна кореляція між показниками питомої швидкості росту та розмірних характеристик клітин на середовищі Болда суперечить загальній закономірності зменшення розмірних характеристик клітин за оптимальних для росту умов.

На відміну від *T. dimorphus*, *M. griffithii* за показниками об'єму клітин найменших розмірів досягав на середовищі зі співвідношенням азоту нітратів і фосфору фосфатів 1:1 (Болда) та 11:1 (Фітцджеральда), що у 1,7 разів менше ніж при N:P =2:1 (Тамія) [182] (табл. 5.5).

Водночас на середовищі зі співвідношенням азоту та фосфору фосфатів 2:1 (Тамія) збільшувався діапазон коливань довжини та ширини клітин *M. griffithii*, і різниця між мінімальними та максимальними показниками об'єму перевищувала 11,2 рази, в той час як на середовищі Фітцджеральда та Болда різниця становила 4,8 та 4,2 рази. Дані результати свідчать про нестабільну реакцію виду на вплив високих концентрацій біогенних елементів.

**Розмірні характеристики *M. griffithii* при вирощуванні на різних поживних середовищах, n=50**

Середовище (N:P)	Довжина клітин ( $\mu\text{m}$ )		Ширина клітин ( $\mu\text{m}$ )		Об'єм клітин ( $\mu\text{m}^3$ )	
	Межі коливань	Середні значення	Межі коливань	Середні значення	Межі коливань	Середні значення
Фітцджеральда (11:1)	21,2÷34,1	27,2±0,3	3,1÷6,1	4,08±0,2	63,1÷305,5	110,1±3,4
Болда (1:1)	22,3÷31,1	25,4±0,4	2,2÷5,7	3,74±0,3	54,4÷227	108,4±5,9
Тамія (2:1)	13,0÷33,5	27,1±0,5	2,7÷8,7	7,6±0,5	34,1÷381,8	187,1±9,2

Проведені дослідження показують, що різні види мікродоростей демонструють видоспецифічні особливості формування морфометричних характеристик залежно від співвідношення біогенних елементів у поживному середовищі (табл. 5.6).

**Довжина й ширина клітин ( $\mu\text{m}$ ) та їх співвідношення у культурах зелених мікродоростей на різних поживних середовищах,  $M\pm m$ , n=50**

Вид	Середовище Фітцджеральда (N:P = 11:1)			Середовище Тамія (N:P = 2:1)		
	h, $\mu\text{m}$	d, $\mu\text{m}$	h : d	h, $\mu\text{m}$	d, $\mu\text{m}$	h : d
<i>D. brasiliensis</i>	8,9±0,3	3,5±0,2	2,56	9,9±0,8	3,51±0,3	2,83
<i>M. gracile</i>	34,2±1,1	3,5±0,3	9,77	35,8±1,7	3,94±0,2	8,67
<i>S. obtusus</i>	7,6±0,6	3,75±0,3	2,01	8,5±0,5	4,84±0,4	1,76

Примітка. h – Довжина клітини; d – ширина клітини.

Встановлені закономірності показали, що якщо для *M. gracile* довжина клітин на досліджених середовищах (Фітцджеральда і Тамія) була практично однаковою, то ширина клітин на середовищі зі співвідношенням азоту і фосфору фосфатів 2:1 (Тамія) помітно перевищувала показники культури, що зростали на середовищі багатому на азот (Фітцджеральда) (див. табл. 5.6).

В той же час, збільшення клітин *D. brasiliensis* відбувалось за рахунок їх видовження, а *M. gracile* та *S. obtusus* – округлення, про що може свідчити співвідношення довжини до ширини, яке певною мірою характеризує «ступінь округлості» клітин (див. табл. 5.6).

Отже, склад поживного середовища суттєво впливає на розміри клітин мікроводоростей та співвідношення їх довжини і ширини.. Встановлені закономірності необхідно враховувати при вирощуванні мікроводоростей, зокрема для отримання високої біомаси, що безпосередньо залежить від розмірів клітин.

### **5.3 Вміст сполук неорганічного азоту та фосфору фосфатів у середовищі при культивуванні зелених мікроводоростей залежно температурних умов та щільності фотосинтетичного фотонного потоку**

Тенденція зміни вмісту біогенних елементів у поживному середовищі при культивуванні мікроводоростей залежить від низки чинників, серед яких провідними є температурний режим та щільність фотосинтетичного фотонного потоку [158].

Мікроводорості, що культивуються за оптимальних для їх росту умов, як правило, демонструють високі показники поглинання сполук азоту нітратів та фосфору фосфатів. Швидкість та ефективність цих процесів визначаються в першу чергу, фізіологічними особливостями виду, зокрема інтенсивністю метаболічних процесів та потребою в поживних речовинах.

Як було наведено вище (див. табл. 5.3), отримані середньодобові коефіцієнти збільшення чисельності клітин були найвищими у *D. brasiliensis*,

крім того, даний вид має широкий оптимальний температурний діапазон, а також, відзначається тривалою фазою експоненційного росту, що має важливе значення при культивуванні, тому він обраний у якості модельного об'єкта з метою оцінки взаємовпливу з культуральним середовищем залежно від дії абіотичних чинників.

Для проведення експериментів, альгологічно чисту культуру *D. brasiliensis* вирощували на поживному середовищі з концентрацією азоту нітратів та фосфору фосфатів у співвідношенні 11:1 (Фітцджеральда).

На початку дослідів культуральне середовище характеризувалося відсутністю іонів амонію та нітритів, однак упродовж проходження культурою лаг-фази та експоненційної за всіх досліджених температур та режимів щільності PPFD спостерігалось їх накопичення.

Вміст амонійного азоту у середовищі максимальним був на 7 добу. При цьому, в умовах високих температур ( $31 \pm 1$  °C), був у 1,3 рази меншим ( $p=0,05$ ), ніж за мінімальної ( $22 \pm 1$  °C). В той же час, при PPFD 22,1 мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$  його рівень підвищувався у 15,8 рази ( $p=0,01$ ), порівняно із 47,5 мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$  (рис. 5.6).

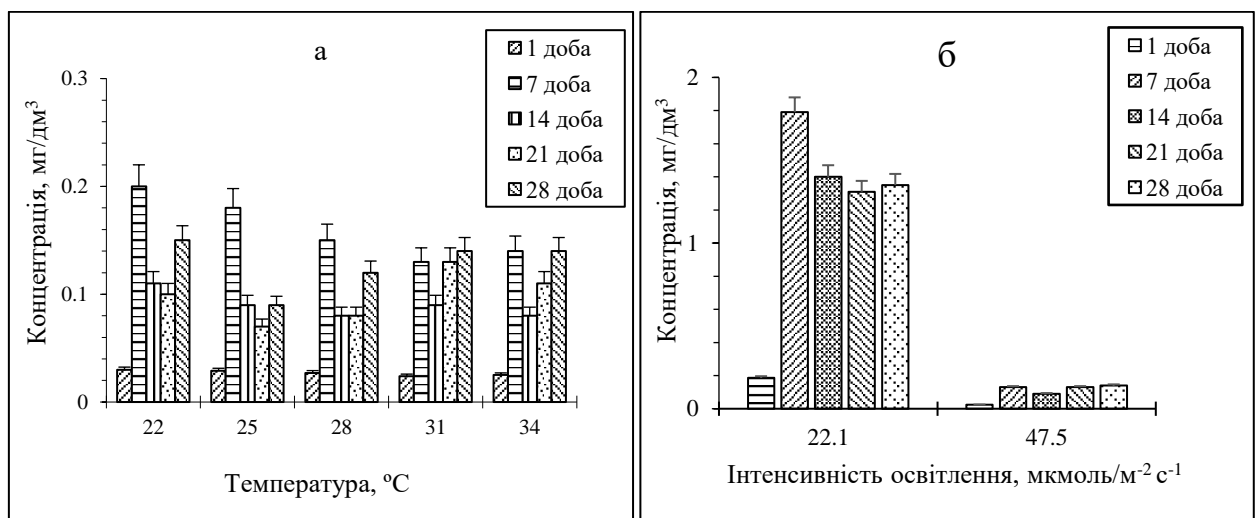


Рис. 5.6 Вміст  $NH_4^+$  при культивуванні *D. brasiliensis* за різних температурних умов (а) та щільності фотосинтетичного фотонного потоку (PPFD) (б),  $M \pm m$ ,  $n=5$ .



Відомо, що при зростанні рН, іони амонію переходять у вільний аміак, який є інгібітором фотосинтетичного процесу, що може значно знизити ефективність поглинання водоростями біогенних елементів [105, 142].

Проведені експериментальні дослідження показали, що підвищення його рівня на лаг-фазі до 9,5–9,8, свідчило, що частина (60–70 %) знаходилася у формі аміаку (рис. 5.7).

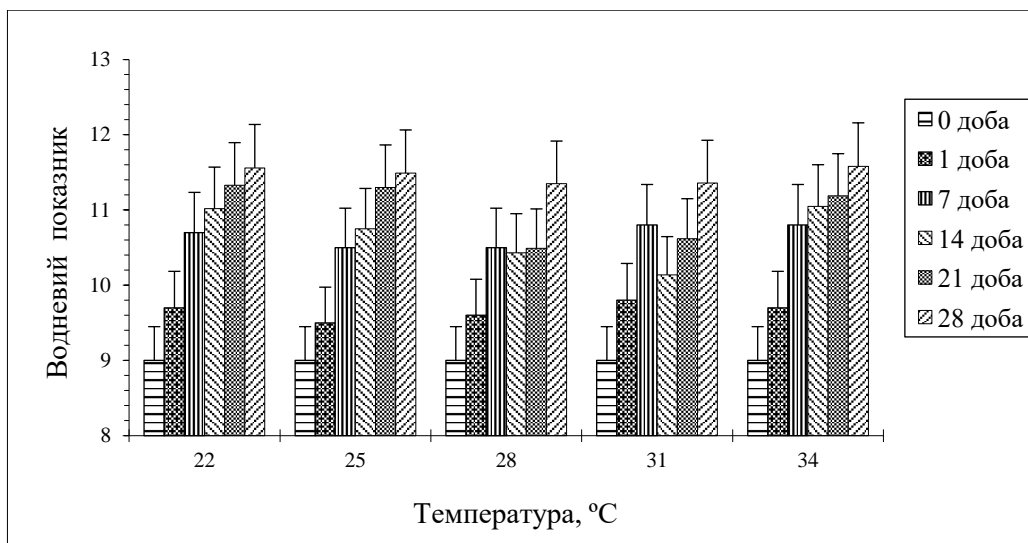


Рис 5.7 Динаміка рН поживного середовища Фітцджеральда за різних температур при культивуванні *D. brasiliensis*,  $M \pm m$ ,  $n=5$ .

З виходом на експоненційну фазу росту при щільності PPFD 47,5  $\mu\text{кмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$  та температури  $31 \pm 1$  °C відбувалося достовірне зменшення вмісту амонійного азоту у 1,7 разів ( $p=0,01$ ) (14 доба) порівняно з його концентрацією на початку даної фази (7 доба), а також підвищенням у 1,6 рази ( $p=0,05$ ) наприкінці експозиції (28 доба).

В той же час, при щільності PPFD 22,1  $\mu\text{кмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$  зареєстровано достовірне зменшення вмісту амонійного азоту у 1,4 рази ( $p=0,03$ ) наприкінці експозиції (28 доба), порівняно з його концентрацією на фазі експоненційного росту (14 доба) (див. рис. 5.6).

Вміст нітритів у середовищі за щільності PPFД 47,5 поступово збільшувався до кінця фази експоненційного росту (21 доба), з подальшим зменшенням у 1,4 рази при виході на стаціонарну ( $p \leq 0,05$ ).

Отримані результати досліджень встановили, що найвищий вміст нітритів у поживному середовищі в цей період (21 доба) зафіксовано при щільності PPFД 47,5 мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$  та температурному режимі  $31 \pm 1$  °С. Водночас, при щільності PPFД 22,1 мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$  він був у 4,0 разів ( $p \leq 0,01$ ) нижчим (рис. 5.8).

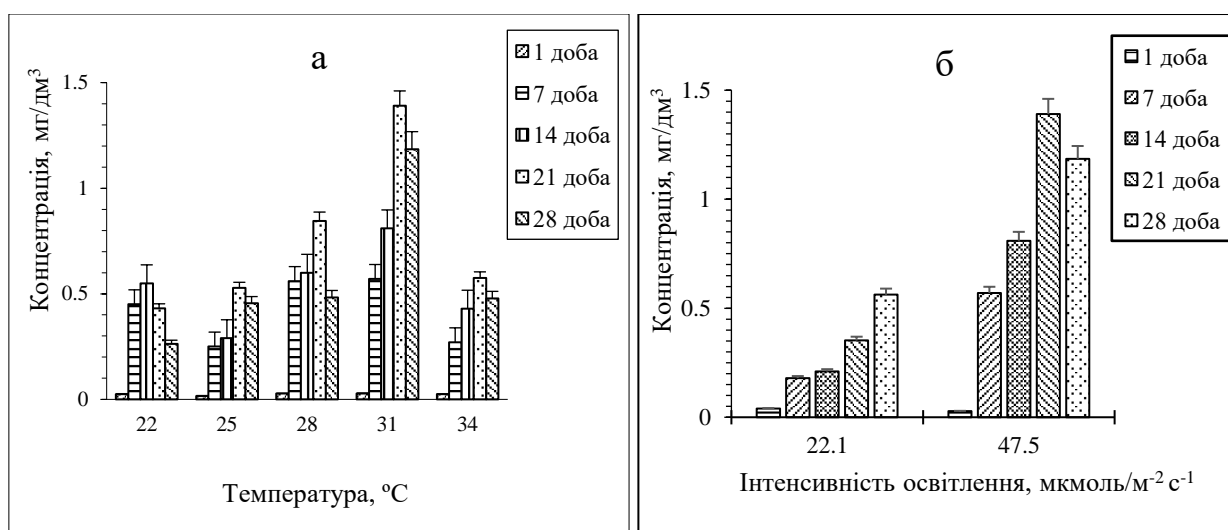


Рис. 5.8 Вміст  $NO_2^-$  при культивуванні *D. brasiliensis* за різних температурних умов (а) та щільності фотосинтетичного фотонного потоку (PPFD) (б),  $M \pm m$ ,  $n=5$ .

Аналіз отриманих результатів азоту нітратів, показав, що динаміка його концентрації в культуральному середовищі на лаг-фазі зменшувалася у 1,1–1,2 рази. З виходом на експоненційну фазу росту його концентрація в поживному середовищі за температури  $31 \pm 1$  °С та щільності PPFД 47,5 мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$  зменшилася на 88 % ( $p \leq 0,01$ ), а при PPFД 22,1 мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$  на 58 % ( $p \leq 0,05$ ) (21 доба). Однак, наприкінці фази експоненційного росту за більш високих температур середовища, відмічено підвищення рівня нітратів (рис. 5.9).

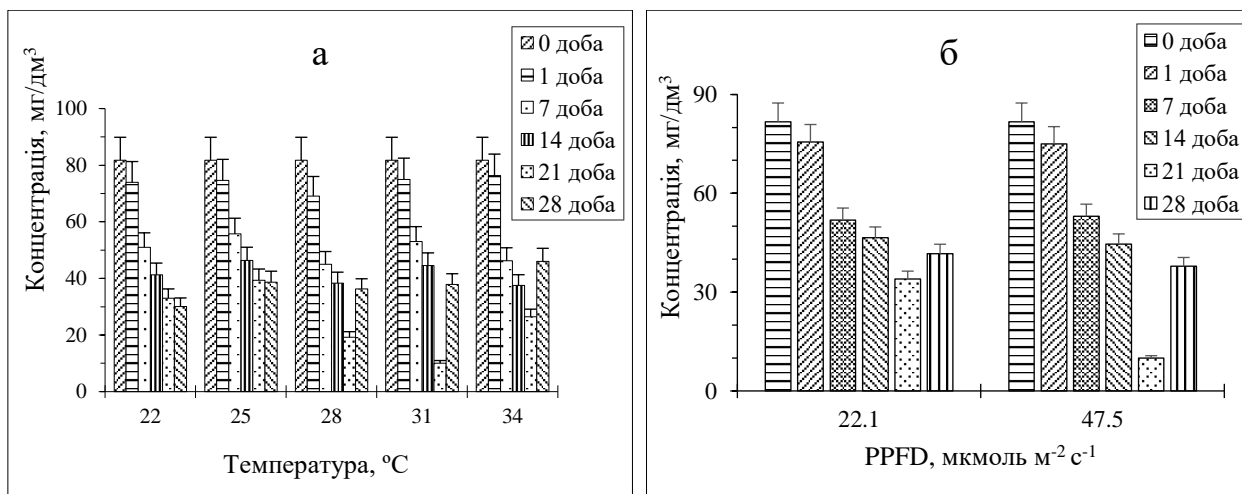


Рис. 5.9 Вміст  $\text{NO}_3^-$  при культивуванні *D. brasiliensis* за різних температурних умов (а) та PPFD (б),  $M \pm m$ ,  $n=5$ .

Можна припустити, що зменшення концентрації нітратного азоту в поживному середовищі відбувалося за рахунок його асиміляції в клітинах мікродоростей – відновлення за участю нітрат та нітритредуктази до амонію, глутамату та білку, що підтверджують літературні дані [252].

Проведені дослідження оцінки впливу іншого важливого біогенного елемента, показали, що найбільше зменшення фосфору фосфатів у середовищі на лаг-фазі (1 доба) відмічено при температурі  $34 \pm 1$  °C та щільності PPFD 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> – 1,3 рази ( $p \leq 0,05$ ) (рис. 3.10).

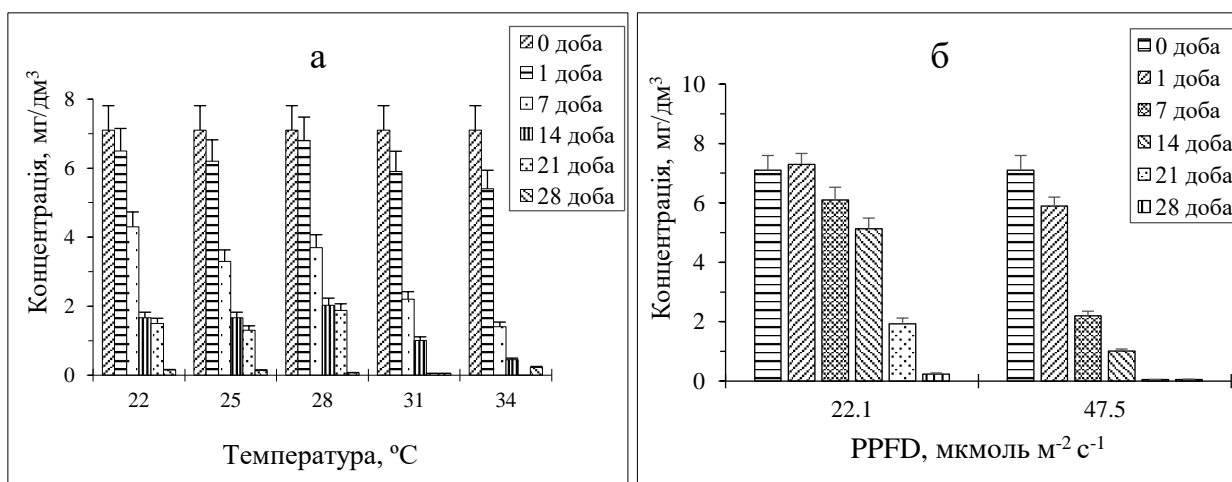


Рис. 5.10 Вміст фосфору фосфатів при культивуванні *D. brasiliensis* за різних температурних умов (а) та PPFD (б),  $M \pm m$ ,  $n=5$ .

На експоненційній фазі росту наприкінці експозиції (21 доба) вміст фосфору фосфатів у середовищі при температурах 31 і  $34\pm 1$  °C та щільності PPFD 47,5 та 22,1 мкмоль  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$  зменшувався відповідно на 99 % ( $p\leq 0,01$ ) та 97 % ( $p\leq 0,01$ ) порівняно з його початковою концентрацією.

Отже, при культивуванні *D. brasiliensis*, зменшення вмісту азоту нітратів та фосфору фосфатів у поживному середовищі ефективніше відбувається в діапазоні температур 28– $34\pm 1$  °C та щільності фотосинтетичного фотонного потоку 47,5 мкмоль  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ . Це позитивно корелює з показниками питомої швидкості росту даної культури, тому свідчить про вищу інтенсивність його метаболізму за даних умов. Следует отметить, что при этих условиях культивирования содержание аммонийного и нитритного азота характеризовалось низкими величинами. Слід зазначити, що за даних умов культивування, вміст амонійного та нітритного азоту характеризувався низькими величинами.

Підсумовуючи результати експериментів, можна констатувати, що, в умовах періодичного культивування, найбільш сприятливим для росту Chlorophyta є середовище Фітцджеральда, що має співвідношення азоту і фосфору фосфатів 11:1, в той час як Болда (1:1) сприяє росту та розмноженню лише *T. dimorphus* та *C. vulgaris*.

Зменшення азоту нітратів та фосфору фосфатів у середовищі при вирощуванні *D. brasiliensis* ефективніше відбуваються в діапазоні температур 28– $34\pm 1$  °C та щільності PPFD 47,5 мкмоль  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$ , що свідчить про вищу інтенсивність метаболізму цього виду за даних умов. Дана закономірність є необхідною складовою при вирощуванні мікрроводоростей в штучних умовах.

## РОЗДІЛ 6 АДАПТИВНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ЗЕЛЕНИХ МІКРОВОДОРОСТЕЙ ЗА ДІЇ АБІОТИЧНИХ ЧИННИКІВ ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ В ШТУЧНИХ УМОВАХ

### 6.1 Формування адаптивних реакцій видів зелених мікроводоростей при періодичному культивуванні

Розкриття адаптивного потенціалу різних видів зелених мікроводоростей, що проявляється через високу питому швидкість росту, фотосинтезу, дихання, здрібнення клітин, накопичення біологічно цінних сполук, здійснюється за допомогою комбінації абіотичних чинників, провідними із яких є температура, PPFD, спектральний склад світла, фотоперіод та вміст і співвідношення біогенних елементів. Кожен із видів зелених мікроводоростей має свій набір оптимальних умов, де у повній мірі розкриває адаптивний потенціал, встановлення якого є вкрай необхідним при їх культивуванні в штучних умовах.

За даними проведених експериментів щодо впливу температурного режиму на процеси функціонування мікроводоростей та розрахунку показників питомої швидкості росту, культури *D. subspicatus*, *M. gracile*, *M. griffithii*, *S. obtusus*, *T. dimorphus* віддавали перевагу більш низьким температурам –  $22\text{--}25\pm 1$  °C; *S. ellipticus*, *D. brasiliensis*, *D. communis* високим  $31\text{--}34\pm 1$  °C; В той час, *T. obliquus*, *C. vulgaris* – не виявляли залежності в даному діапазоні.

Фотосинтетичний апарат мікроводоростей реагує на інтенсивність та спектральний склад сонячного світла, що проявляється у зміні вмісту фотосинтетичних компонентів та їх співвідношенні. Дослідження показали, що за показниками питомої швидкості росту, культури зелених мікроводоростей *D. brasiliensis*, *M. griffithii* та *C. vulgaris* віддавали перевагу PPFD  $47,5$  мкмоль  $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , яка серед всіх режимів була найвищою. Це свідчить

про вірогідну можливість даних видів підвищувати ростові характеристики при вищих рівнях PPFD.

Функціонування мікродоростей визначається не тільки кількістю, але і якістю світла, зокрема його спектрального складу. Результати численних проведених експериментів із впливу різного спектру світла на показники питомої швидкості росту, показали, що *T. dimorphus*, *M. griffithii*, *M. gracile* та *C. vulgaris* віддавали перевагу спектру з довжиною хвилі 400–480 нм (синій); *D. communis* - 580–700 нм (червоний); *D. brasiliensis* 580–700 нм (червоний) та 400–700 нм (білий). Отже, зелені мікродорості краще ростуть на синьому та червоному спектрі, оскільки містять хлорофіл *a* і *b* – основні пігменти, чутливі до цієї довжини хвиль.

Склад поживного середовища, в якому розчинено весь комплекс необхідних речовин для вирощування культур мікродоростей, головними із яких є азот та фосфор, має важливе значення. У ході виконання експериментальних досліджень встановлено, що на ріст видів зелених мікродоростей позитивно впливають концентрації азоту нітратів ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ) та фосфору фосфатів у співвідношенні 11:1 (0,081 / 0,007 г/дм<sup>3</sup>), а також 1:1 (0,040 / 0,053 г/дм<sup>3</sup>) для *T. dimorphus* та *C. vulgaris*.

Узагальнюючи результати експериментальних досліджень, за середньодобовими коефіцієнтами збільшення чисельності клітин, встановлено оптимальний діапазон провідних абіотичних чинників (температура, PPFD, довжина хвилі та поживне середовище) для формування адаптивного потенціалу різних видів зелених мікродоростей при вирощуванні в штучних умовах (табл. 6.1).

Показано, що із усіх досліджених 10 видів, найвищий адаптивний потенціал за комплексної дії абіотичних чинників при періодичному вирощуванні в штучних умовах має *D. brasiliensis*, що робить його перспективним об'єктом. Тому, актуальною є розробка технологічної схеми його безперервно-циклічного культивування.

**Формування адаптивного потенціалу різних видів  
зелених мікроводоростей за дії абіотичних чинників при  
періодичному вирощуванні в штучних умовах**

	Види	Провідні чинники				k
		Температура, °C	PPFD, мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>	Довжина хвилі, нм (спектр)	Поживне середовище	
1	<i>D. brasiliensis</i>	31–34	47,5	400–700 (білий) / 600–700 (червоний)	Фітцджеральда	4,13
2	<i>T. dimorphus</i>	28	47,5	400–480 (синій)	Болда Фітцджеральда	2,94
3	<i>S. ellipticus</i>	31-34	47,5	400–700 (білий)	Фітцджеральда	1,70
4	<i>M. griffithii</i>	22-25	47,5	400–480 (синій)	Фітцджеральда	1,32
5	<i>C. vulgaris</i>	25-34	47,5	400–700 (білий) / 600–700 (червоний) / 400–480 (синій)	Фітцджеральда Болда	0,82
6	<i>M. gracile</i>	22	47,5	400–480 (синій)	Фітцджеральда	0,79
7	<i>S. obtusus</i>	25	47,5	400–700 (білий)	Фітцджеральда	0,75
8	<i>D. subspicatus</i>	22	47,5	400–700 (білий)	Фітцджеральда	0,71
9	<i>T. obliquus</i>	22-34	47,5	400–700 (білий) / 600– 700 (червоний) / 400–480 (синій)	Фітцджеральда	0,52
10	<i>D. communis</i>	28-31	47,5	600–700 (червоний)	Фітцджеральда	0,34

Примітка. PPFD – щільність фотосинтетичного фотонного потоку; k – середньодобовий коефіцієнт збільшення чисельності клітин.

## 6.2. Адаптивний потенціал *D. brasiliensis* за дії провідних абіотичних чинників при періодичному вирощуванні

На основі узагальнення результатів експериментальних досліджень зелених мікроводоростей із родин Scenedesmaceae, Selenastraceae та Chlorellaceae, чітко обрано найпродуктивніший штам *Desmodesmus brasiliensis* Bohlin HPDP-102, що відзначається високими показниками росту та розмноження (розділи 3–5), які є складовими в формуванні адаптивного потенціалу.

В ході виконання дисертаційної роботи встановлено [182], що при культивуванні в штучних умовах, клітини *D. brasiliensis* мають овальну форму довжиною  $10,27 \pm 0,20 \mu\text{m}$  та шириною  $5,23 \pm 0,23 \mu\text{m}$ , зібрані у ценобії по 2, 4 або 8, що з'єднані поздовжніми сторонами паралельно одна одній. Ценобії характеризуються фенотипічною пластичністю, що проявляється у поведінковій, морфологічній та фізіологічній реакції організму у відповідь на зміну умов існування. Клітини забарвлені у зелений колір, що обумовлено переважанням хлорофілів *a* і *b* над іншими пігментами. (рис. 6.1).

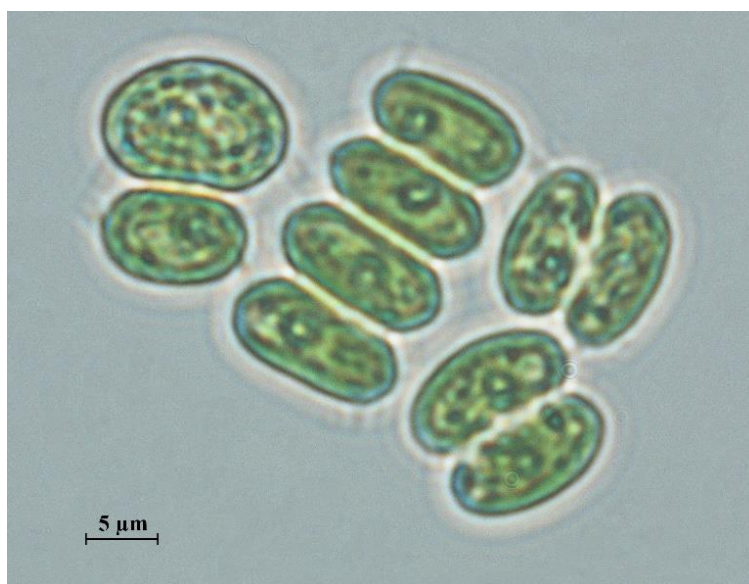


Рис. 6.1 Клітини зелених мікроводоростей *D. brasiliensis*, отриманих в процесі культивування в штучних умовах.



Для встановлення адаптивного потенціалу, альгологічно чистий штам *Desmodesmus brasiliensis* Bohlin HPDP-102 було надано із колекції культур мікроводоростей HPDP (Інститут гідробіології НАН України). За своїми характеристиками штам є нейтрофілом, мезофілом, автотрофом, факультативним міксотрофом та галофобом [28].

Утримується *D. brasiliensis* на рідому середовищі Фітцджеральда. Пересів проводиться у боксі попередньо обробленому бактерицидною лампою, шляхом переливання 10-15 % об'єму інокуляту, до свіжого поживного середовища. Колби закривають стерильною ватно-марлевою пробкою, вказуючи вид водоростей та дату посіву. Пересів культур проводиться раз у 2-3 місяці. Обовязковою умовою є дотримання першого рівня абіотичних чинників (температура, щільність PPFD, фотоперіод).

Згідно результатів експериментальних даних встановлено, що оптимальна температура для росту культури *D. brasiliensis* знаходиться в діапазоні  $31-34 \pm 1$  °C, PPFD -  $47,5$  мкмоль  $m^{-2}s^{-1}$ , спектральний склад з довжиною хвилі 600–700 та 400–700 нм, поживне середовище зі співвідношенням азоту нітратів до фосфору фосфатів 11:1.

На основі цих результатів, вперше створено схему, що розкриває адаптивний потенціал *D. brasiliensis* за комплексної дії провідних абіотичних чинників при культивуванні в штучних умовах (рис. 6.2).

Поживне середовище Фітцджеральда, що застосовувалося при його вирощуванні мало весь комплекс необхідних для росту культури речовин, зокрема концентрації біогенних елементів азоту та фосфору фосфатів у співвідношенні 11:1 ( $0,080 : 0,007$  г/дм<sup>3</sup>).

На молекулярному рівні показано, що накопичення біохімічних компонентів (білки, ліпіди, вуглеводи) у клітинах *D. brasiliensis* за даних умов вирощування досягає 48 %, вуглеводів 18,6 % та ліпідів 18,7 %.

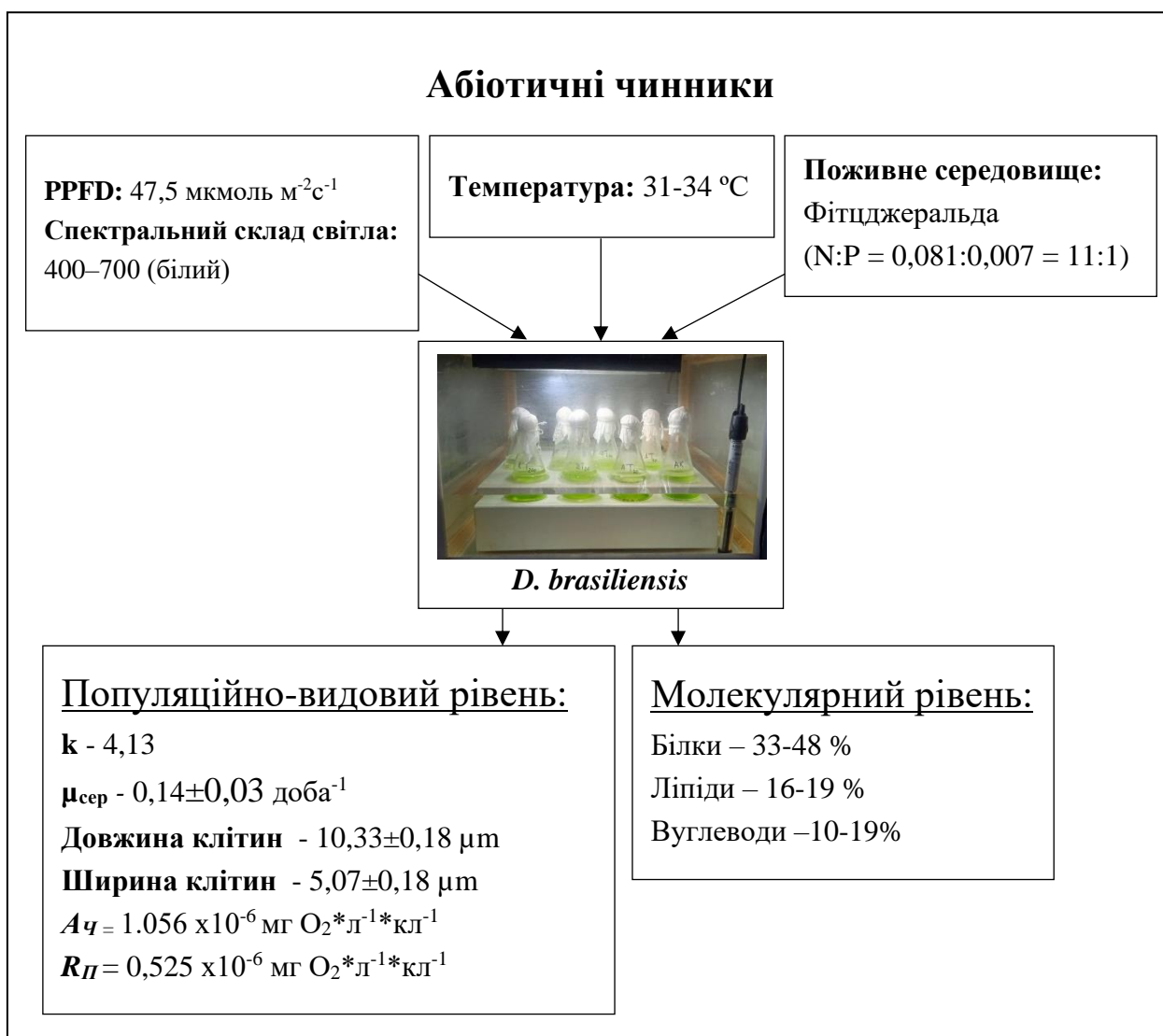


Рис. 6.2 Формування адаптивного потенціалу *D. brasiliensis* при вирощуванні в штучних умовах за дії абіотичних чинників.

Отже, в ході роботи, вперше встановлено оптимальні значення провідних абіотичних чинників, які формують адаптивний потенціал *D. brasiliensis* на популяційно-видовому та молекулярному рівнях, що є теоретичними засадами для його практичного впровадження в безперервно-циклічному культивуванні, що дозволить отримати високу біомасу.

### 6.3 Теоретичні засади для практичного впровадження *D. brasiliensis* в безперервно-циклічному культивуванні

З урахуванням адаптивного потенціалу та фізіологічних особливостей культури *D. brasiliensis*, вперше розроблена технологічна схема його культивування, що складається з наступних етапів:

- отримання інокуляту;
- безперервно-циклічне нарощування біомаси;
- отримання суспензії мікроводоростей;
- коригування та внесення наступної порції поживного середовища;
- переробка суспензії мікроводоростей з метою отримання пасти або сухої речовини.

Багатоступеневе **отримання інокуляту** є найшвидшим шляхом нарощування біомаси *D. brasiliensis* із чисельністю клітин достатньою для проведення масового культивування у фітобіореакторах. Для цього штам із колекції мікроводоростей HPDP, вирощують у стерильних ємностях різного об'єму ( $50 \text{ см}^3 \rightarrow 250 \text{ см}^3 \rightarrow 1 \text{ дм}^3 \rightarrow 5 \text{ дм}^3$ ). Перенесення інокуляту мікроводоростей проводиться під час фази експоненційного росту на свіже середовище Фітцджеральда. При цьому, в ході експерименту було розраховано, що початкова чисельність клітин у культурі повинна дорівнювати  $0,2\text{--}0,3 \text{ млн/дм}^3$ , а кінцева  $1,1\text{--}1,3 \text{ млн/дм}^3$ , після чого інокулят переноситься у більшу за об'ємом ємність. Таку процедуру проводять до утворення потрібної кількості інокуляту, що залежить від об'єму фітобіореактора. Багатоступеневе отримання інокуляту культури *D. brasiliensis* здійснюється за оптимальних температурних умов, освітлення, що були визначені в ході виконання дисертаційної роботи, а також, перемішування (рис 6.3).

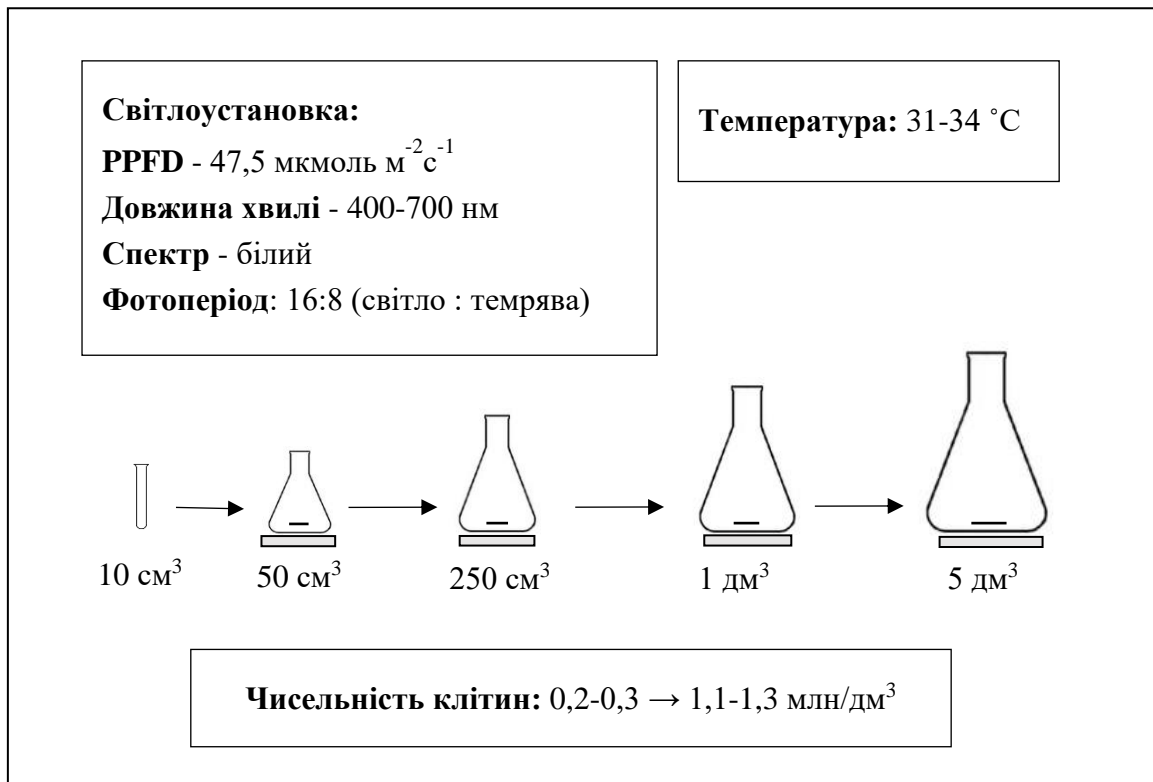


Рис. 6.3 Схема отримання інокуляту культури *D. brasiliensis*.

Для масового культивування мікрроводоростей у біотехнологічному виробництві застосовуються системи фотобіореакторів різного типу [137, 185]. Використання відкритих систем здійснюється для отримання кормової біомаси та очищення стічних вод. При цьому застосовуються прості та недорогі пристрої, в той час до їхніх певних недоліків можна віднести: залежність від сезонів року; неможливість регулювання температурного режиму та умов освітленості; випаровування води, зараження патогенними мікроорганізмами тощо.

Використання фітобіореакторів закритого типу (рис 6.4), за рахунок управління процесом вирощування, значно поліпшує якість продукції та продуктивність систем.



Рис. 6.4 Фітобіореактор закритого типу для культивування мікроводоростей (Інститут гідробіології НАН України).

***Безперервно-циклічне нарощування біомаси *D. brasiliensis****, що розроблене на основі проведених досліджень, зокрема встановленням адаптивного потенціалу зелених мікроводоростей, відбувається за наступним алгоритмом дій:

– Проведення дезінфекції фітобіореактора здійснюють хімічним способом речовинами з яскраво вираженою асептичною дією. Наприклад, пропіолактоном, який виявляє сильну бактерицидну дію і легко гідролізується, утворюючи молочну кислоту, яка по завершенні процесу дезінфекції легко руйнується.

– Завантаження фітобіореактору шляхом внесення поживного середовища (Фітцджеральда) 80 % та інокуляту 20 % з чисельністю клітин *D. brasiliensis* 0,2-0,3 млн/дм<sup>3</sup>.

– Підтримка оптимальних умов (температура, освітлення, фотоперіод діоксидом вуглецю зі швидкістю потоку 0,01 - 0,02 м<sup>3</sup>/год та ін.).

Вперше розроблена технологічна схема безперервно-циклічного вирощування *D. brasiliensis*, що враховує його оптимальні абіотичні умови, чисельність, швидкість росту штаму та прогнозує кількість вихідної біомаси водоростей (рис. 6.5).

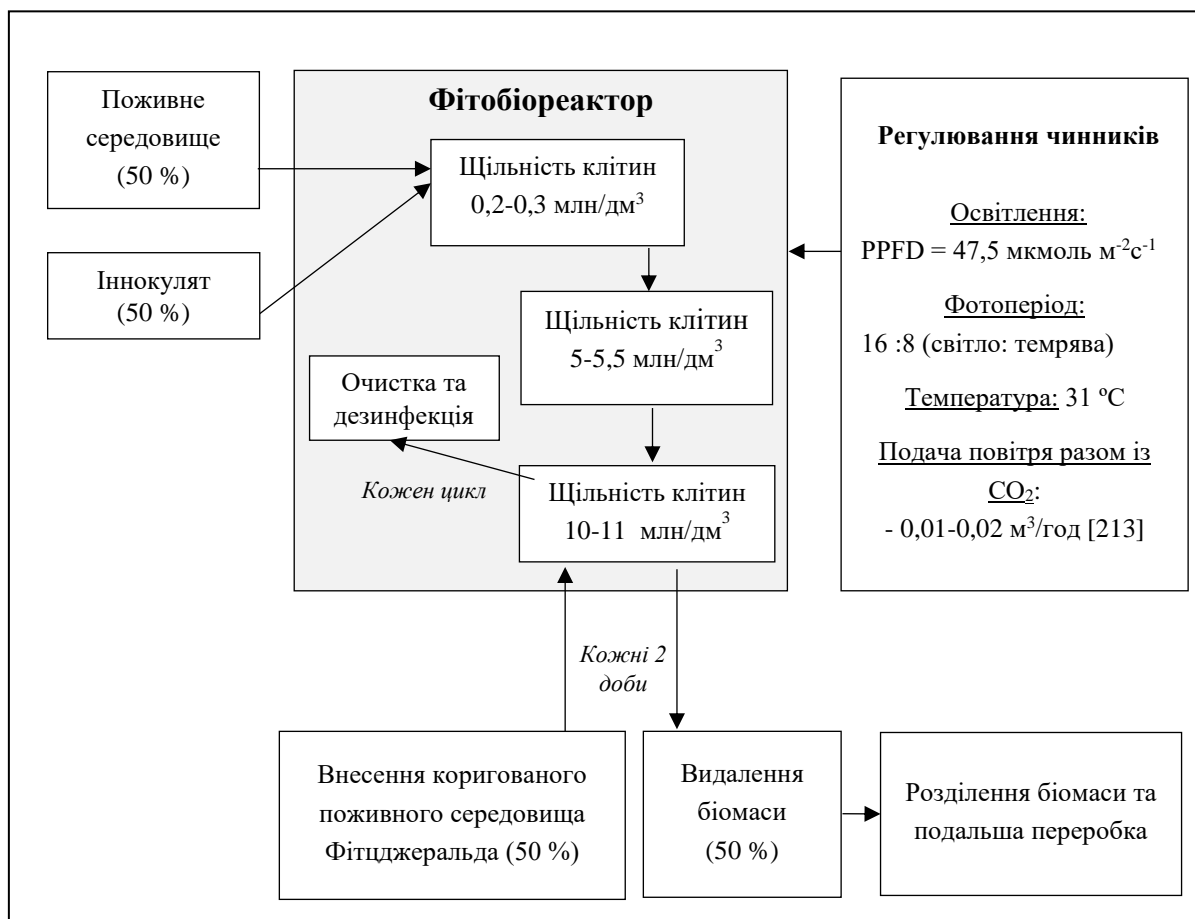


Рис. 6.5 Технологічна схема масового культивування зеленої мікродорості *D. brasiliensis* у фітобіореакторі закритого типу.

Перший етап безперервно-циклічного вирощування мікродоростей *D. brasiliensis* закінчується коли чисельність клітин у фітобіореакторі досягає 10–11 млн кл/дм<sup>3</sup>.

**Отримання суспензії мікродоростей** відбувається шляхом зливу 50 % об'єму фітобіореактора з подальшим додаванням коригованого поживного середовища для запуску наступного циклу вирощування.

Після подальшого центрифугування суспензії, вихід біомаси *D. brasiliensis* становить 750-800 мг/дм<sup>3</sup> (150-160 сухої речовини), та може використовуватися у якості суспензії, пасти або сухої речовини.

В процесі виконання експериментальних робіт встановлено, що при вирощуванні мікроводоростей, якість культурального середовища має провідне значення та повинна контролюватися упродовж всього періоду вирощування (табл. 6.2).

Таблиця. 6.2

**Оптимальні умови вирощування *D. brasiliensis* у фітобіореакторах закритого типу**

Показники	Значення (M ± m)
Температурний режим, °C	31,0±0,5
Щільність PPFD, мкмоль м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>	47,5
Фотоперіод, (світло : темрява)	16:8
Рівень рН	8,0±0,08
N – NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , мг/дм <sup>3</sup>	0,2±0,08
N – NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг/дм <sup>3</sup>	1,0±0,01
N – NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг/дм <sup>3</sup>	81,7±0,05
P– PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , мг/дм <sup>3</sup>	7,1±0,03
C, мг/дм <sup>3</sup>	7,0±0,03
Na <sup>+</sup> мг/дм <sup>3</sup>	164, 9±0,04
Ca <sup>2+</sup> мг/дм <sup>3</sup>	19,2±0,05
K <sup>+</sup> мг/дм <sup>3</sup>	17,5±0,03
Cl <sup>-</sup> мг/дм <sup>3</sup>	16,8±0,06
Si мг/дм <sup>3</sup>	13,3±0,02
Mg <sup>2+</sup> мг/дм <sup>3</sup>	7,5±0,03
Fe <sup>2+</sup> мг/дм <sup>3</sup>	0,6±0,05

Зокрема, на початку культивування *D. brasiliensis*, поживне середовище (Фітцджеральда) містило біогенні елементи у формі нітратів та фосфору фосфатів, які упродовж всього процесу культивування активно споживалися клітинами мікрободоростей. При цьому, на лаг фазі утворився амонійний азот та нітрити, концентрації яких коливалися, у гранично допустимих нормах (до 0,25 та 0,4 мг/дм<sup>3</sup> відповідно). Тобто, засвоєння азоту з поживного середовища клітинами *D. brasiliensis* відбувається в основному за рахунок поглинання нітратів.

В процесі технологічного циклу при відокремленні мікрободоростей від суспензії проводиться аналіз очищеного від них середовища на вміст біогенних елементів.

**Коригування та внесення наступної порції поживного середовища у фітобіореактор** відбувається з урахування залишків сполук мінерального азоту та фосфору фосфатів у ньому після кожного циклу вирощування (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

**Вміст біогенних елементів (мг/дм<sup>3</sup>) в середовищі при безперервно-циклічному культивуванні *D. brasiliensis***

Показники	На початку культивування	1-й цикл культивування		2-й цикл культивування	
		Наприкінці 1-го циклу	Кількість доданого елементу	Наприкінці 2-го циклу	Кількість доданого елементу
Азот нітратів, мг/дм <sup>3</sup>	81,7	46,2	117,2	64,1	99,3
Фосфор фосфатів, мг/дм <sup>3</sup>	7,1	1,4	12,8	4,9	9,3

Необхідно враховуючи те, що перший цикл культивування, на відміну від послідуєчих, включає лаг-фазу, тому поживних речовин споживається більше ніж на послідуєчих циклах.



Таким чином, після кожного внесення коригованого поживного середовища до фітобіореактора, вміст нітратів та фосфору фосфатів, які є головними компонентами споживання, мікробіодоростей будуть достатніми для інтенсивного росту *D. brasiliensis*.

Отже, вперше для виду з найвищим адаптивним потенціалом *D. brasiliensis* розроблено технологічну схему безперервно-циклічного вирощування з метою отримання високої біомаси (150-160 мг/дм<sup>3</sup>/доба сухої речовини).

#### **6.4 Практичне використання біомаси зелених мікробіодоростей**

В процесі виконання дисертаційної роботи встановлено, що залежно від кінцевої мети альгобіотехнологій, водорості повинні мати певні характеристики: перш за все, рости і продукувати значну біомасу у чітко визначених умовах – за необхідних температури, освітленості, рівня рН, складу середовища тощо.

По-друге, вони повинні відзначатись певними метаболічними особливостями. Так, для одержання кормової сировини потрібні види з оптимальним співвідношенням протеїнів, вуглеводів, ліпідів, біологічно активних речовин (вітамінів, каротиноїдів, коферментів тощо), з високою поживною якістю та перетравлюваністю.

Для енергетичної сировини необхідно підбирати види з високим вмістом енергетичних компонентів, в першу чергу, ліпідів.

За необхідності очищення стічних вод водорості мають бути толерантними до високих концентрацій органічних чи мінеральних біогенних елементів або забруднювальних сполук (фенолів, оксидів металів, вуглекислого газу тощо) і т. ін. Обрані види також мають відзначатись стабільністю основних використовуваних характеристик і водночас мати лабільний обмін речовин та здатність програмовано реагувати на зовнішні впливи.

Біомаса зелених мікроводоростей все частіше стає важливим додатковим джерелом цінної природної сировини для технічного, кормового, харчового, косметичного, лікувально-профілактичного й фармакологічного застосування.

Експериментально встановлено, що їхня харчова цінність забезпечує значний вміст біологічно цінних сполук, зокрема, у клітинах *D. brasiliensis* кількість білків досягає 48 %, вуглеводів 18,6 % та ліпідів 18,7 %. В той час, у *M. griffithii* – білків 21,2 %, вуглеводів 26,5 %, ліпідів 22,5 %.

Зібрану біомасу мікроводоростей *D. brasiliensis*, що упродовж циклу (48 годин) становить 750-800 мг/дм<sup>3</sup> (150-160 мг/дм<sup>3</sup> сухої речовини), використовують у якості суспензії, пасти або сухої речовини.

Деякі із зелених мікроводоростей застосовують у медичній та фармакологічній галузях, дієтичному харчуванні, лікувальній косметології, у виробництві біологічно активних добавок. Зокрема, в Інституті гідробіології НАН України розроблено спосіб одержання хлорофіл-каротинової пасти, що є основою мазі з регенеративними та протизапальними властивостями лікувального препарату «Альгофін», до складу якої входять зелені мікроводорості *Chlorella vulgaris* та *Scenedesmus sp* [57].

Мікроводорості мають перспективи у галузі створення натуральних збалансованих кормів для тваринництва, птахівництва й рибництва, в тому числі для вирощування риби й безхребетних у аквакультурі. На даний час, для цих цілей, широко використовують види зелених мікроводоростец із родів *Chlorella*, *Scenedesmus* та *Chlorococcum* [127, 209]. При харчуванні гідробіонтів суспензією велике значення мають їх морфологічні особливості мікроводоростей (розміри, форма, наявність джгутиків) та швидкість осідання клітин [37].

Значна кількість досліджень стосується можливості використання біомаси водоростей для створення альтернативних видів палива – біодизелю, біоетанолу, водню, метану. З цієї точки зору на сьогодні інтерес становлять такі види водоростей, як *Chlorella sp.*, *Neochloris oleoabundans*,

*Nannochloropsis sp.*, *Botryococcus braunii*, *Dunaliella tertiolecta*, *Scenedesmus* TR-84 [50, 103, 195, 259].

В процесі виконання дисертаційної роботи експериментально встановлено [257], що основу профілю жирних кислот клітин *M. griffithii* формують олеїнова, пальмітинова та лінолева кислоти. Це свідчить про можливість використання даного виду в якості продуцента органічних сполук для виробництва біодизелю.

Зелені мікроводорості є одним з найважливіших компонентів у системі біологічного очищення господарсько-побутових та промислових стічних вод, що здатні використовувати для росту саме біогенні елементи [4, 13, 61]. Крім того вони насичують воду киснем, що прискорює окисні процеси і мінералізацію органічних домішок у стічних водах [252].

Вирощування зелених водоростей на стоках тваринницьких комплексів дозволяє вилучити надлишок органічних речовин, нормалізувати запах та колір, при цьому значна частина азоту повертається у біомасу водоростей і знову може надходити у корм тваринам [135].

Результати приведених досліджень показали, що при вирощуванні *D. brasiliensis*, на середовищі з концентрацією нітратів та фосфору фосфатів у співвідношенні 11:1, при температурах (31-34±1 °C) та PPFD (47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>), упродовж експозиції (21 доба) відбулося їх зменшення на 88 % (p=0,01) та 99 % (p=0,01) відповідно. Отже, культура є перспективною для подальшого впровадження у підприємства для очистки стічних вод.

Таким чином, зелені мікроводорості мають значні перспективи для одержання відновлюваної сировини різноманітного призначення: харчового, кормового, фармакологічного, технічного. У зв'язку з цим, актуальним є розширення напрямків робіт, що передбачають пошук нових високопродуктивних штамів шляхом розкриття їх адаптивного потенціалу.

## ВИСНОВКИ

За результатами вивчення процесів росту та розмноження зелених мікроводоростей встановлено основні закономірності адаптивних реакцій за дії провідних абіотичних чинників (температура, PPFD, спектральний склад, поживні речовини), розроблено практичні рекомендації та технологічну схему безперервно-циклічного культивування високопродуктивного виду *D. brasiliensis* в штучних умовах.

1. Встановлено, що максимальна питома швидкість росту на експоненційній фазі за дії константних температур має різний оптимальний діапазон: 22 – 25 °C для культур *D. subspicatus*, *M. gracile*, *M. griffithii*, *D. communis* та 31–34 °C для *T. obliquus*, *D. brasiliensis*, *S. ellipticus*, *S. obtusus*, *C. vulgaris*.

2. Вперше встановлено, що культури зелених мікроводоростей мають різні адаптивні можливості за дії константного (*D. brasiliensis*, *D. communis*, *T. dimorphus*, *M. griffithii*) та динамічного (*S. obtusus*, *T. obliquus*, *M. gracile*) температурного режимів

3. Показано, що при періодичному вирощуванні найбільшу продуктивність культури *D. brasiliensis* відмічено при температурах 31 – 34 °C, за умов збільшення чисельності клітин та зменшення їх розмірів.

4. З'ясовано, що для *D. brasiliensis* максимальні показники питомого фотосинтезу та інтенсивності дихання, виявлені на експоненційній фазі росту при 25±1 та 28±1 °C, в той час як температура вище 31 °C викликає зниження даних процесів.

5. Доведено, що підвищення продукційних характеристик зелених мікроводоростей за показниками питомого фотосинтезу в умовах константного терморегіму більш виражено у культур *T. obliquus*, *M. griffithii*, а динамічного підвищення температури – у *S. obtusus*, *D. brasiliensis*.

6. Встановлено, що адаптивна здатність зелених мікроводоростей залежить від виду та рівня впливу абіотичних чинників і проявляється зокрема

у культури *M. griffithii* за умов PPFD 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, спектрального складу світла з довжиною хвилі 400–480 нм; *D. brasiliensis* – 600–700 і 400–700 нм.

7. Показано, що максимальний вміст білків (47 %), ліпідів (18 %) та вуглеводів (14 %) у клітинах *D. brasiliensis* відзначали в інтервалі температур 31–34 °С, що підтверджується найвищими показниками питомої швидкості росту і може свідчити про оптимальні умови культивування.

8. Встановлено, що у клітинах *D. brasiliensis* підвищення вмісту білків (30 %), та ліпідів (18 %), спостерігалось при PPFD 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> і спектральному складі з довжиною хвилі 400–480 нм, а вуглеводів (16 %) при 600–700 нм.

9. Показано, що зелені мікродорості характеризуються видовою специфічністю залежно від співвідношення в культуральному середовищі нітратного азоту та фосфору фосфатів: *D. brasiliensis*, *T. dimorphus*, *S. ellipticus* – 11:1, *T. dimorphus*, *C. vulgaris* – 1:1.

10. Вперше встановлено, що культури *D. brasiliensis* та *T. dimorphus* порівняно з іншими дослідженими видами, характеризуються найвищими адаптивними можливостями, що проявляються за дії провідних абіотичних чинників (температура, PPFD, спектральний склад, поживні речовини) в певному діапазоні.

11. Вперше розроблено практичні рекомендації та технологічну схему масового культивування культури *D. brasiliensis* в штучних умовах при безперервно-циклічному вирощуванні.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Антоненко С. П., Догадина Т. В., Комаристая В. П. Изменчивость морфометрических признаков *Dunaliella salina* в условиях культуры. *Экология моря*. 2010. Вып. 81. С. 5–12.
2. Бакай С. М., Шелест В. П., Волох В. Н. Использование хлореллы в рационе свиней. *Свиноводство: Республиканский межведомственный тематический научный сборник*. 1966. Вып. 2. С. 63–67.
3. Барська філія «ВП «Цукорпромводоналадка». *Акціонерна компанія "САТЕР"*: веб-сайт. URL: <http://sater.kiev.ua/uk/structure/bar>. (дата звернення: 01.09.2022).
4. Білик Т. І., Веренікін О. М., Леонтьєва Т. О. Вплив сучасних мийних засобів на гідробіонти-фільтратори водних екосистем. *Науково-практичний журнал. Екологічні науки*. 2021. Вип. 34, № 7. С. 122–128.
5. Біорізноманіття та біоресурсний потенціал екосистем дніпровських водосховищ в умовах кліматичних змін і розвитку біологічної інвазії: монографія / Романенко В. Д. та ін. Київ: Наук. думка, 2019. 275 с.
6. Биотехнология культивирования гидробионтов / Романенко В. Д., Крот Ю. Г, Сиренко Л. А., Соломатина В. Д. . Киев: Институт гидробиологии НАН Украины, 1999. 264 с.
7. Богданов Н. И. Биологическая реабилитация водоемов. 3 издание, дополненное и переработанное. Пенза: РИО ПГСХА, 2008. 152 с.
8. Боднар О. І. Біотехнологічні перспективи використання мікроводоростей: основні напрями (огляд). *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*. 2017. № 1 (68). С. 138–146.
9. Боднар О. І. Вплив мікроелементів на ліпідний метаболізм у *Chlorella vulgaris* Beijer. *Вісник Одеського національного університету. Біологія*. 2018. Т. 23, Вип. 2. С. 11–22.

10. Бойко М. Ф. Ботаніка. Систематика несудинних рослин. Київ: Ліра-К, 2016. 250 с.
11. Выращивание водорослей на газах горения нефтедобывающих и нефтеперерабатывающих предприятий / Сиренко Л. А. и др. *Промышленное культивирование микроводорослей*: тез. докл. всес. конф. Андижан, 1990.
12. Водорості ґрунтів України (історія та методи дослідження, система, конспект флори) / Костіков І. Ю. та ін. Київ: Фітосоціоцентр, 2001. 300 с.
13. Вплив синтетичних миючих засобів на ріст синьо-зелених (*Microcystis aeruginosa*) та зелених водоростей (*Desmodesmus brasiliensis*) / М. Т. Гончарова та ін. *Біологічні дослідження – 2021*: зб. наук. праць. Житомир, 2021. С. 144–146.
14. Грубінко В. В. Системна оцінка метаболічних адаптацій у гідробіонтів. Фізіологія, біохімія і біофізика водних тварин. *Наукові записки національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія, Спец. випуск: Гідроекологія*. 2001. № 4 (15). С. 36–39.
15. Дедю И. И. Экологический энциклопедический словарь. Кишинев: Главная редакция Молдавской советской энциклопедии, 1989.
16. Дослідження гідроекосистем Київського та Канівського водосховищ (р. Дніпро, Україна) за результатами дистанційного моніторингу та експедиційних досліджень / Білоус О. та ін. *Актуальні проблеми ботаніки та екології*: мат. Міжнар. конф. молодих учених. Київ: LAT & K, 2021. С. 9.
17. Золотарева Е. К., Шнюкова Е. И., Подорванов В. В. Микроводоросли как продуценты водовода *Альгология*. 2010. Т. 20, № 2. С. 225–249.
18. Исмаилходжаев Б. Ш. Влияние экологических факторов на рост, продуктивность и биохимические особенности некоотрых видов *Chlorella* Beyer., *Scenedesmus* Meyen, *Ankistrodesmus corda*, *Chlamydomonas* Ehr. в культуре: дис. на здобуття ступеня к.б.н.: 03.00.05. Ташкент, 1984. 161 с.

19. Исмаилходжаев Б. Ш. Физиолого-биохимические особенности зеленых и эвгленовых микроводорослей и перспективы их применения: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д.б.н.: 03.00.12. Ташкент, 1994. 46 с.
20. Использование микроводорослей для доочистки жидких отходов птицефабрик / Мыслович В. О., Карпенко В. И., Сиренко Л. А., Кирпенко Н. И. *Гидробиологический журнал*. 1987.
21. Калиновська А. В. Особливості функціонування прісноводних водоростей за дії світла різної якості та інтенсивності: автореф. дис. на здобуття наук. ступен к.б.н.: 03.00.17. Київ, 2012. 24 с.
22. Карпевич А. Ф. Избранные труды в 2 томах. Т. 1. Москва: ВНИРО, 1998. 922 с.
23. Кирпенко Н. И. Алелопатическое взаимовлияние пресноводных водорослей. Киев: Наук. думка, 2013. 250 с.
24. Кірпенко Н. І., Леонтьєва Т. О., Мусій Т. О. Варіабельність розмірних характеристик зелених мікроводоростей в умовах культур. *Біологічні дослідження – 2020*: зб. наук. праць. Житомир, 2020. С. 166–168.
25. Кірпенко Н. І. Шляхи використання біополімерів мікроводоростей. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія*. 2004. № 3–4 (24). С. 48–52.
26. Клоченко П. Д. Метаболізм азоту у прісноводних водоростей та його роль у формуванні їх угруповань і якості води: дис. на здобуття наук. ступеня д.б.н.: 03.00.17. Київ, 2002. 38 с.
27. Клоченко П. Д., Медведь В. А. Трансформация азотсодержащих удобрений в процессе роста некоторых зеленых и синезеленых водорослей. *Гидробиологический журнал*. 1992. Т. 28, № 6. С. 56–60.
28. Колекція культур мікроводоростей HPDP / Білоус О. П., Незбрицька І. М., Клоченко П. Д., Кірпенко Н. І. Київ: Альтерпрес, 2018. 36 с.



29. Коллекция живых культур микроскопических водорослей (акроним коллекции HPDP) / Сиренко Л. А., Рыбак Н. В., Паршикова Т. В., Пахомова М. Н. Киев: Укр. Фитосоцицентр, 2005. 54 с.
30. Коржов Є. І., Леонтьєва Т. О. Зовнішній водообмін як один з факторів формування кількісних показників фітопланктону заплавних водойм пониззя Дніпра. *Сучасна Гідроекологія: Місце Наукових Досліджень У Вирішенні Актуальних Проблем*: зб. мат. VII Всеукр. наук. конф. для молодих вчених присвяченої 100-річчю НАН України. Київ, 2018. С. 23–24.
31. Культивирование микроводоросли с целью получения биомассы в лабораторных условиях / Жумадилова Ж. Ш. и др. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015. № 10. С. 838–839.
32. Ладыгина Л. В. Интенсивность роста и биохимический состав микроводоросли *Dunaliella viridis* Teod. в зависимости от условий культивирования. *Экология моря*. 2005. Вып. 6. С. 56–59.
33. Левинских М. А. Физиолого-экологические характеристики одноклеточной водоросли *Closteriopsis acicularis* var. *Africana* hind. применительно к биологической системе жизнеобеспечения человека: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня к.б.н.: 14.00.32. 1983. 21 с.
34. Леонтьєва Т. О., Кірпенко Н. І. Вплив температури на інтенсивність росту зелених мікроводоростей. *Перспективи гідроекологічних досліджень в контексті проблем довкілля та соціальних викликів*: мат. VIII з'їзду гідроекол. тов. України присвяченої 110 річчю з дня заснування Дніпровської біологічної станції. Київ, 2019. С. 133–135.
35. Ліщук А. В. Еколого-фізіологічні основи формування фітопланктону прісноводних екосистем: дис. на здобуття наук. ступеня д.б.н.: 03.00.17. Київ, 2007. 38 с.
36. Мазур О. В., Рогачук О. О. Формування енергоефективного штучного освітлення рослин та методика вимірювання його параметрів. *Автоматизація технологічних і бізнес-процесів*. 2015. Т. 7, № 2. С. 52–60.

37. Мардаревич М. Г., Сибірцова В. А., Леонтьєва Т. О., Кудрявцева Д. О. Продуктивність *Daphnia magna* при її харчуванні різними видами зелених мікроводоростей. *Перспективи гідроекологічних досліджень в контексті проблем довкілля та соціальних викликів*: мат. VIII з'їзду гідроекол. тов. України присвяченої 110 річчю з дня заснування Дніпровської біологічної станції. Київ, 2019. С. 138–140.
38. Масюк Н. П., Костіков І. Ю. Водорості в системі органічного світу. Київ: Академіюдика, 2002. 180 с.
39. Масюк Н. П., Посудин Ю. И., Лилицкая Г. Г. Фотодвижение клеток *Dunaliella* Теод. (*Dunaliellales*, *Chlorophyceae*, *Viridiplantae*). Киев: Академперіодика, 2007. 265 с.
40. Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод / за ред. В. Д. Романенко. Київ: ЛОГОС, 2006. 408 с.
41. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Сиренко Л. А. и др. Киев: Наук. Думка, 1975. 248 с.
42. Методические рекомендации по использованию сестона в качестве удобрений под. сельскохозяйственные растения / отв. ред. Л. А. Сиренко. Київ: Наук. думка, 1980. 37 с.
43. Незбрицька І. М. Особливості функціонування представників *Chlorophyta* та *Cyanoprokaryota* за умов підвищення водного середовища: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня к.б.н.: 03.00.17. Київ, 2017. 23 с.
44. Общая и экспериментальная альгология / Догадина Т. В., Комаристая В. П., Горбулин О. С., Рудась А. Н. Харьков: ХНУ имени В. Н. Каразина, 2013. 148 с.
45. Онищенко О. М., Дворецкий А. І. Мікроводорості як віновлювальний біологічний ресурс для потреб сільського господарства. *Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. Біологічні науки*. 2013. Т. 32, № 2. С. 48–50.

46. Основы альгосозологии / Отв. ред. Н. В. Кондратьева, П. М. Царенко. Киев: Академперіодика, 2008. 480 с.
47. Особенности накопления нитритного азота в культурах хлорококковых (Chlorococcales, Chlorophyta) водорослей / Ключенко П.Д. и др. *Альгология*. 2000. Т. 10, № 3. С. 257–264.
48. Оцінка функціональної активності фітопланктону в заростях макрофітів (на прикладі Канівського водосховища) / Незбрицька І. М. та ін. *Актуальні проблеми ботаніки та екології: мат. Міжнар. конф. молодих учених*. Київ: LAT & K, 2021. С. 62.
49. Паршикова Т. В., Третьяков В. О., Пацко О. В. Застосування мікроелементів для оптимізації мінерального живлення за промислового культивування мікроскопічних водоростей. *Физиология и биохимия культур растений*. 2010. Т. 42, № 5. С. 403–413.
50. Перспективи використання мікрководоростей у біотехнології / Золотарьова О. К. та ін.; за ред. О. К. Золотарьова. Київ: Альтерпрес, 2008. 235 с.
51. ПП "Хлорелла Украина": веб сайт. URL: <https://hlorella.jimdo.com/> (дата звернення 01.09.2022).
52. Рахманкулова З. Ф., Шуйская Е. В., Рогожникова Е. С. Влияние дефицита воды на функции митохондрий и полиморфизм ферментов дыхания у растений. *Журнал общей биологии*. 2013. Т. 74, № 3. С. 167–179.
53. Сакевич О. Й., Усенко О. М., Баланда О. В. Біохімічний аналіз водяних рослин. Київ: Логос, 2009. 372 с.
54. Систер В. Г., Иванникова Е. М., Чирков В. Г., Кожевников Ю. А. Использование микроводорослей в энергогенерирующих циклах, потребляющих жидкое углеводородное топливо ископаемого происхождения. *Альтернативная энергетика и экология*. 2013. Вып. № 9 (131). С. 36–41.
55. Сіренко Л. Я., Кірпенко Н. И., Комаренко О. І.. Ресурси біомаси макро- й мікрководоростей в Україні - джерело для одержання біологічно

активних речовин: тези доп. четвертої міжнар. конф. з медичної ботаніки. Київ: Укрфітотерапія, 1997. С. 51–53.

56. Спосіб одержання ключої основи складу для передпосівної обробки насіння: пат. 13946 Україна: МПК: C09J 199/00, A01C 1/06, C09J 201/00; опубл. 25.04.1997.

57. Спосіб одержання хлорофіло-каротинової пасти з репаративно-регенеративними властивостями: пат. 13945 України: МПК: A61K 36/05; опубл. 24.04.97.

58. Тимощук О. М. Альтернативне біопаливо. *Сільськогосподарські машини*. 2013. Вип. 24. С. 359–362.

59. Триліс В. В., Серeda Т. М. Досвід боротьби з «цвітінням» природних водойм за допомогою внесення концентрату хлорелли (*Chlorella vulgaris* Beijer.). *Чиста вода. Фундаментальні, прикладні та промислові аспекти*: мат. VI Міжнар. наук.-практ. конф. Київ, 2019. С. 198–200.

60. Упитис В. В. Макро- и микроэлементы в оптимизации минерального питания микроводорослей. Рига: Зинатне, 1983. 240 с.].

61. Усенко О. М., Леонтьева Т. О. Ступінь трансформації біогенних елементів у культуральному середовищі зеленої водорості *Monoraphidium griffithii* (Berk.) Komark.-Legner. за дії поверхнево активних речовин (без фосфатних та фосфатних порошоків). *Проблеми та перспективи розвитку сучасної біології та біологічної освіти*: I Всеукр. наук.-практ. конф. Житомир, 2021. С. 52–55.

62. Усенко О. М., Леонтьева Т. О., Яновська Д. О. Ефективність використання біофлаваноїдів при вирощуванні зелених водоростей у біотехнологічних комплексах. *Новітні досягнення біотехнології*: мат. V Міжнар. наук.-практ. конф. Київ, 2021. С. 77–78.

63. Физиология растений / Под ред. И. П. Ермакова. Москва: Академия, 2005. 640 с.

64. Филиппович Ю. Б., Егорова Т. А., Севастьянова Г. А. Практикум по общей биохимии. Москва: Просвещение, 1975. 318 с.

65. Царенко П. М., Борисова Е. В. Коллекция культур микроводорослей IBASU-A – потенциальный ресурс биосырья для производства биодизеля. *Альгология*. 2014. Т. 24, № 3. С. 409–412.
66. Чубчикова И. М., Дробецкая И. В., Минюк Г. С. Скрининг зеленых микроводорослей как потенциальных источников природных кетокаротиноидов 2. Особенности роста и вторичного каротиногенеза у представителей рода *Bracteacoccus* (Chlorophyceae). *Морський екологічний журнал*. 2011. Т. 10, № 1. С. 91–97.
67. Щербак В.І. Гідроекологічні аспекти вирішення проблеми оцінки та зменшення загроз біорізноманіттю континентальних водойм України. *Оцінка і напрямки зменшення загроз біорізноманіття України*. Київ: Хімджест, 2003. С. 273–348.
68. Щербак В. І. Методи досліджень фітопланктону. *Методичні основи гідробіологічних досліджень водних екосистем*. Київ, 2002. С. 41–47.
69. Щербак В.І. Фітопланктон. *Методи гідроекологічних досліджень поверхневих вод*. Київ: ЛОГОС, 2006. С. 12–44.
70. Яновська Д. О., Леонтєва Т. О., Усенко О. М. Вплив біофлаваноїдів кварцитну та рутину на функціональну активність культур зелених мікроводоростей за різного спектру освітлення. зб. тез XIX Міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених. Київ, 2021. С. 180–183.
71. A Review on the assessment of stress conditions for simultaneous production of microalgal lipids and carotenoids / A. K. Minhas et al. *Frontiers in Microbiology*. 2016. Vol. 7. P. 546.
72. Accumulation fatty acids of in *Chlorella vulgaris* under heterotrophic conditions in relation to activity of acetyl-CoA carboxylase, temperature, and co-immobilization with *Azospirillum brasilense* / L. A. Leyva et al. *Naturwissenschaften*. 2014. Vol. 101, no. 10. P. 819–830.
73. Accumulation of energy reserves in algae: From cell cycles to biotechnological applications / M. Vitova et al. *Biotechnology Advances*. 2015. Vol. 33, no. 6. P. 1204–1218.

74. Aleya L., Dauta A., Reynolds C. S. Endogenous regulation of the growth-rate responses of a spring-dwelling strain of the freshwater alga, *Chlorella minutissima*, to light and temperature. *European Journal of Protistology*. 2011. Vol. 4, no 47. P. 239–44.
75. Algae of Ukraine: Diversity, Nomenclature, Taxonomy, Ecology and Geography. Vol. 3. Chlorophyta / ed. by P. M. Tsarenko, S. P. Wasser, E. Nevo. Ruggel A.R.A. Gartner Verlag K.-G., 2011. 511 p.
76. Algae of Ukraine: Diversity, Nomenclature, Taxonomy, Ecology and Geography. Vol. 4. Charophyta / ed. by P. M. Tsarenko, S. P. Wasser, E. Nevo. Ruggel A.R.A. Gartner Verlag K.-G, 2014. 703 p.
77. *AlgaeBase*: веб сайт. URL: <https://www.algaebase.org/> (дата звернення 15.09.2022).
78. Algal Culturing Techniques / ed. by R. A. Andersen. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005. 589 p.
79. Amini Khoeyi Z., Seyfabadi J., Ramezanpour Z. Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*. *Aquaculture International*. 2012. Vol. 20, no. 1. P. 41–49.
80. Ammonia Triggers Photodamage of Photosystem II in the Cyanobacterium *Synechocystis* sp. Strain PCC 6803 / M. Drath et al. *Plant Physiology*. 2008. Vol. 147, no. 1. P. 206–215.
81. Ammonium nitrogen tolerant chlorella strain screening and its damaging effects on photosynthesis / J. Wang et al. *Frontiers in Microbiology*. 2019. Vol. 9.
82. Bajguz A. Brassinosteroid enhanced the level of abscisic acid in *Chlorella vulgaris* subjected to short-term heat stress. *Journal of Plant Physiology*. 2009. Vol. 166, no. 8. P. 882–886.
83. Barinova S., Tsarenko P., Nevo A. Algae from experimental pools on the Dead Sea coast, Israel. *Journal of Plant Sciences*. 2004. Vol. 52, no. 3. P. 265–275.

84. Barsanti L., Gualtieri P. *Algae. Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. Boca Raton: CRC Press, 2005. 320 p.
85. Becker E. W. *Microalgae for human and animal nutrition. Handbook of Microalgal Culture*. Oxford, UK, 2013. P. 461–503.
86. Ben-Amotz A., Katz A., Avron M. Accumulation of  $\beta$ -carotene in halotolerant algae: purification and characterization of  $\beta$ -carotene rich globules from *Dunaliella bardawil*. (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*. 1982. Vol. 18, no. 4. P. 529–537.
87. Berman-Frank I., Dubinsky Z. Balanced growth and aquatic plants: Myth or reality? *Bioscience*. 1999. Vol. 49, no. 1. P. 29–37.
88. Biochemical composition of three algal species proposed as food for captive freshwater mussels / C. M. Gatenby et al. *Journal of Applied Phycology*. 2003. Vol. 15, no. 1. P. 1–11.
89. Biofuel potential of the newly isolated microalgae *Acutodesmus dimorphus* under temperature induced oxidative stress conditions / K. Chokshi et al. *Bioresource Technology*. 2015. Vol. 180. P. 162–171.
90. Biomass and lutein productivity of *Scenedesmus almeriensis*: influence of irradiance, dilution rate and temperature / J. F. Sánchez et al. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2008. Vol. 79, no. 5. P. 719–729.
91. Biovolumes and size-classes of phytoplankton in the Baltic Sea / I. Olenina et al. *Baltic Sea Environment Proceedings* 2006. Vol. 106, 144 p.
92. Bisphenol A removal by the Chlorophyta *Picocystis* sp.: optimization and kinetic study / R. Ben Ali et al. *International Journal of Phytoremediation*. 2021. Vol. 23, no. 8. P. 818-828.
93. Blair M. F., Bahareh K., Gnaneswar G. V. Light and growth medium effect on *Chlorella vulgaris* biomass production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2014. Vol. 2, no. 1. P. 665–674.
94. Borgen K. Evaluation of physicochemical properties of modified algae protein adhesives. Manhattan: Kansas state university, 2012. 46 p.

95. Borowitzka A., Vonshak A. Scaling up microalgal cultures to commercial scale. *European Journal of Phycology*. 2017. Vol. 52, no 4. P. 407–418.
96. Boussiba S., Fan L., Vonshak A. Enhancement and determination of astaxanthin accumulation in green alga *Haematococcus pluvialis*. *Methods in Enzymology*. 1992. Vol. 213. P. 386–391.
97. Bouterfas R., Belkoura M., Dauta A. Light and temperature effects on the growth rate of three freshwater [2pt] algae isolated from a eutrophic lake. *Hydrobiologia*. 2002. Vol. 489. P. 207–217.
98. Burlew J. S. Algal culture: from laboratory to pilot plant. Carnegie Institute (WA), 1953. 366 p.
99. Carbon dioxide sequestration in wastewater by a consortium of elevated carbon dioxide-tolerant microalgae / J. N. Bhakta et al. *Journal of CO<sub>2</sub> Utilization*. 2015. Vol. 10. P. 105–112.
100. Cepák V., Pribyl P., Vítová M. The effect of light color on the nucleocytoplasmic and chloroplast cycle of the green chlorococcal alga *Scenedesmus obliquus*. *Folia Microbiol (Praha)*. 2006. Vol. 51, no. 4. P. 342–348.
101. Chávez-Fuentes P., Ruiz-Marin A., Canedo-López Y. Biodiesel synthesis from *Chlorella vulgaris* under effect of nitrogen limitation, intensity and quality light: estimation on the based fatty acids profiles. *Molecular Biology Reports*. 2018. Vol. 45, no. 5. P. 1145–1154.
102. *Chlorella thermophila* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta), a novel thermo-tolerant *Chlorella* species isolated from an occupied rooftop incubator / S. Ma et al. *Hydrobiologia*. 2015. Vol. 760, no. 1. P. 81–89.
103. Chu W.-L. Strategies to enhance production of microalgal biomass and lipids for biofuel feedstock. *European Journal of Phycology*. 2017. Vol. 52, no. 4. P. 419–437.
104. Collier J. L., Grossman A. R. Chlorosis induced by nutrient deprivation in *Synechococcus* sp. strain PCC 7942: not all bleaching is the same. *Journal of Bacteriology*. Vol. 1992. Vol. 174, no. 14. P. 4718–4726.



105. Collos Y., Harrison P. J. Acclimation and toxicity of high ammonium concentrations to unicellular algae. *Marine Pollution Bulletin*. 2014. Vol. 80, no. 1-2. P. 8–23.
106. Combined influence of light and temperature on growth rates of *Nannochloropsis oceanica*: linking cellular responses to large-scale biomass production / J. M. Sandnes et al. *Journal of Applied Phycology*. 2005. Vol. 17, no. 6. P. 515–525.
107. Commercial applications of microalgae / P. Spolaore et al. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2006. Vol. 101, no. 2. P. 87–96.
108. Comparison of growth rate and nutrient content of five microalgae species cultivated in greenhouses / M. N. Metsoviti et al. *Plants*. 2019. Vol. 8, no. 8. P. 279.
109. Content of proteins, carbohydrates, and lipids in the cultures of green algae under different conditions of illumination / N. I. Kirpenko et al. *Hydrobiological Journal*. 2020. Vol. 56, no. 5. P. 33–40.
110. Cultivating microalgae in desert conditions: evaluation of the effect of light-temperature summer conditions on the growth and metabolism of *Nannochloropsis* QU130 / H. Al Jabri et al. *Applied Sciences*. 2021. Vol. 11, no. 9. P. 3799.
111. Culturing *Neochloris oleoabundans* microalga in a nitrogen-limited, heterotrophic fed-batch system to enhance lipid and carbohydrate accumulation / D. Morales-Sánchez et al. *Algal Research*. 2014. Vol. 5. P. 61–69.
112. Cyanobacteria and microalgae: A positive prospect for biofuels / A. Parmar et al. *Bioresource Technology*. 2011. Vol. 102, no. 22. P. 10163–10172.
113. Daniel-Vedele F., Filleur S., Caboche M. Nitrate transport: a key step in nitrate assimilation. *Current Opinion in Plant Biology*. 1998. Vol. 1, no. 3. P. 235–239.
114. Deciphering the relationship among phosphate dynamics, electron-dense body and lipid accumulation in the green alga *Parachlorella kessleri* / S. Ota et al. *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6, no. 1.

115. Devi S. S., Sahoo D. *Culturing Algae*. The Algae World. Dordrecht, 2015. P. 555–579.

116. Diversity of nitrogen assimilation pathways among microbial photosynthetic eukaryotes / R. Terrado et al. *Journal of Phycology*. 2015. Vol. 51, no. 3. P. 490–506.

117. Dynamic interactions between root  $\text{NH}_4^+$  influx and long-distance n translocation in rice: insights into feedback processes / H. J. Kronzucker et al. *Plant and Cell Physiology*. 1998. Vol. 39, no. 12. P. 1287–1293.

118. Effect of different light spectra on the growth and productivity of acclimated *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae) / A. Vadiveloo et al. *Algal Research*. 2015. Vol. 8. P. 121–127.

119. Effect of green and red light in lipid accumulation and transcriptional profile of genes implicated in lipid biosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii* / D. E. Gaytán-Luna et al. *Biotechnology Progress*. 2016. Vol. 32, no. 6. P. 1404–1411.

120. Effect of light intensity and pH condition on the growth, biomass and lipid content of microalgae *Scenedesmus* species / A. Difusa et al. *Biofuels*. 2015. Vol. 6, no. 1. P. 37–44.

121. Effect of light intensity on algal biomass accumulation and biodiesel production for mixotrophic strains *Chlorella kessleri* and *Chlorella protothecoide* cultivated in highly concentrated municipal wastewater / Y. Li et al. *Biotechnology and Bioengineering*. 2012. Vol. 109, no. 9. P. 2222–2229.

122. Effect of nitrogen concentration on the growth rate and biochemical composition of the microalga, *Isochrysis galbana* / M. J. Zarrinmehr et al. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*. 2020. Vol. 46, no. 2. P. 153–158.

123. Effect of nutrient supply status on biomass composition of eukaryotic green microalgae / G. Procházková et al. *Journal of Applied Phycology*. 2013. Vol. 26, no. 3. P. 1359–1377.

124. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel

production / A. Converti et al. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. 2009. Vol. 48, no. 6. P. 1146–1151.

125. Effect of temperature on growth and fatty acids profile of the biodiesel producing microalga *Scenedesmus acutus* / M. El-Sheekh et al. *BASE*. 2017. P. 233–239.

126. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures / S. M. Renaud et al. *Aquaculture*. 2002. Vol. 211, no. 1-4. P. 195–214.

127. Effect of various forms of dietary *Chlorella* supplementation on growth performance, immune characteristics, and intestinal microflora population of broiler chickens / H. K. Kang et al. *Journal of Applied Poultry Research*. 2013. Vol. 22, no. 1. P. 100–108.

128. Effects of auxin derivatives on phenotypic plasticity and stress tolerance in five species of the green alga *Desmodesmus* (Chlorophyceae, Chlorophyta) / W.-J. Lin et al. *Peer Journals*. 2020. Vol. 8. P. e8623.

129. Effects of different media composition, light intensity and photoperiod on morphology and physiology of freshwater microalgae *Ankistrodesmus falcatus* – A potential strain for biofuel production / B. George et al. *Bioresource Technology*. 2014. Vol. 171. P. 367–374.

130. Effects of light intensity, CO<sub>2</sub> and nitrogen supply on lipid class composition of *Dunaliella viridis* / F. J. L. Gordillo et al. *Journal of Applied Phycology*. 1998. Vol. 10, no. 2. P. 135–144.

131. Effects of light quality on the accumulation of oil in a mixed culture of *Chlorella* sp. and *Saccharomyces cerevisiae* / C.-H. Shu et al. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 2011. Vol. 87, no. 5. P. 601–607.

132. Effects of light-emitting diodes (LEDs) on the accumulation of lipid content using a two-phase culture process with three microalgae / C.-H. Ra et al. *Bioresource Technology*. 2016. Vol. 212. P. 254–261.

133. Effects of nitrogen forms and supply mode on lipid production of microalga *Scenedesmus obliquus* / M. An et al. *Energies*. 2020. Vol. 13, no. 3. P. 697.
134. Effects of temperature on growth constants of *Selenastrum Capricornutum* / J. H. Reynolds et. al. *Water Pollution Control Federation*. 1975. Vol. 47, no. 10. P. 2420–2436.
135. Efficiency of maturation oxidation ponds as a post-treatment technique of wastewater / M. Kaid et al. *Current Chemistry Letters*. 2022. Vol. 11, no. 4. P. 415–422.
136. Eizaguirre C., Baltazar-Soares M. Evolutionary conservation-evaluating the adaptive potential of species. *Evolutionary Applications*. 2014. Vol. 7, no. 9. P. 963–967.
137. Enhanced CO<sub>2</sub> fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions / A. Kumar et al. *Trends in Biotechnology*. 2010. Vol. 28, no. 7. P. 371–380.
138. Enhancing growth and lipid production of marine microalgae for biodiesel production via the use of different LED wavelengths / C. L. Teo et al. *Bioresource Technology*. 2014. Vol. 162. P. 38–44.
139. Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change / ed. by P. Ahmad, M. N. V. Prasad. New York: Springer New York, 2012. 518 p.
140. Evaluation of novel thermo-resistant *Micractinium* and *Scenedesmus* sp. for efficient biomass and lipid production under different temperature and nutrient regimes / C. Sonmez et al. *Bioresource Technology*. 2016. Vol. 211. P. 422–428.
141. Fernandez E., Galvan A. Inorganic nitrogen assimilation in *Chlamydomonas*. *Journal of Experimental Botany*. 2007. Vol. 58, no. 9. P. 2279–2287.

142. Free ammonia inhibition in microalgae and cyanobacteria grown in wastewaters: Photo-respirometric evaluation and modelling / S. Rossi et al. *Bioresource Technology*. 2020. Vol. 305. P. 123046.
143. Friedl T., Bhattacharya D. Origin and evolution of green lichen algae. *Symbiosis*. Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, 2002. P. 341–357.
144. Gacheva G., Pilarski P. The resistance of a new strain *Chlorella* sp. R-06/2, isolated from an extreme habitat to environmental stress factors. *General and Applied Plant Physiology*. 2008. Vol. 34. P. 347–360.
145. Genome analysis of the smallest free-living eukaryote *Ostreococcus tauri* unveils many unique features / E. Derelle et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006. Vol. 103, no. 31. P. 11647–11652.
146. Guschina I. A., Harwood J. L. Algal lipids and effect of the environment on their biochemistry. *Lipids in Aquatic Ecosystems*. New York, NY, 2009. P. 1–24.
147. Harnedy P. A., FitzGerald R. J. Bioactive proteins, peptides, and amino acids from macroalgae. *Journal of Phycology*. 2011. Vol. 47, no. 2. P. 218–232.
148. Harvesting of microalgae biomass from the phycoremediation process of greywater / H. Atiku et al. *Environmental Science and Pollution Research*. 2016. Vol. 23, no. 24. P. 24624–24641.
149. Heterotrophy as a tool to overcome the long and costly autotrophic scale-up process for large scale production of microalgae / A. Barros et al. *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9, no. 1. P.13935.
150. Hidden levels of phylodiversity in Antarctic green algae: further evidence for the existence of glacial refugia / A. De Wever et al. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2009. Vol. 276, no. 1673. P. 3591–3599.
151. Hu H. Y., Hong Y. Algal-bloom control by allelopathy of aquatic macrophytes – a Review. *Frontiers of Environmental Science & Engineering in China*. 2008. Vol. 2, no. 4. P. 421–438.

152. Impacts of enriching growing rabbit diets with *Chlorella vulgaris* microalgae on growth, blood variables, carcass traits, immunological and antioxidant indices / Abdelnour S. et al. *Animals*. 2019. Vol. 9, no. 10. P. 788.

153. Improving conservation policy with genomics: a guide to integrating adaptive potential into U.S. Endangered Species Act decisions for conservation practitioners and geneticists / W. C. Funk et al. *Conservation Genetics*. 2018. Vol. 20, no. 1. P. 115–134.

154. Improving of lipid productivity of the oleaginous microalgae *Chlorella pyrenoidosa* via atmospheric and room temperature plasma (ARTP) / S. Cao et al. *Bioresource Technology*. 2017. Vol. 244. P. 1400–1406.

155. Influence of culture conditions on the productivity and lutein content of the new strain *Scenedesmus almeriensis* / J. F. Sánchez et al. *Process Biochemistry*. 2008. Vol. 43, no. 4. P. 398–405.

156. Influence of light conditions on microalgae growth and content of lipids, carotenoids, and fatty acid composition / Y. Maltsev et al. *Biology*. 2021. Vol. 10, no. 10. P. 1060.

157. Influence of light intensity and temperature on cultivation of microalgae *Desmodesmus Communis* in flasks and laboratory-scale stirred tank photobioreactor / J. Vanags et al. *Latvian Journal of Physics and Technical Sciences*. 2015. Vol. 52, no. 2. P. 59–70.

158. Influence of light intensity on microalgal growth, nutrients removal and capture of carbon in the wastewater under intermittent supply of CO<sub>2</sub> / X. Liu et al. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 2018. Vol. 93, no. 12. P. 3582–3589.

159. Influence of nitrogen sources on biomass productivity of microalgae *Scenedesmus bijugatus* / M. Arumugam et al. *Bioresource Technology*. 2013. Vol. 131. P. 246–249.

160. Influence of nutrients and LED light intensities on biomass production of microalgae *Chlorella vulgaris* / A. Khalili et al. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2015. Vol. 20, no. 2. P. 284–290.

161. Intracellular invasion of green algae in a salamander host / R. Kerney et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011. Vol. 108, no. 16. P. 6497–6502.

162. Isolation and characterization of a new Cyanobacterial strain with a unique fatty acid composition / F. K. Sarsekeyeva et al. *Advances in Microbiology*. 2014. Vol. 04, no. 15. P. 1033–1043.

163. Isolation and characterization of a novel ammonium overly sensitive mutant, amos2, in *Arabidopsis thaliana* / G. Li et al. *Planta*. 2011. Vol. 235, no. 2. P. 239–252.

164. Isolation and characterization of a *Scenedesmus acutus* strain to be used for bioremediation of urban wastewater / E. Doria et al. *Journal of Applied Phycology*. 2012. Vol. 24, no. 3. P. 375–383.

165. Isolation and cultivation of endosymbiotic algae from green hydra and phylogenetic analysis of 18S rDNA sequences / G. Kovačević et al. *Folia Biologica*. 2010. Vol. 58, no. 1. P. 135–143.

166. Jonker C., Van Ginkel C., Olivier J. Association between physical and geochemical characteristics of thermal springs and algal diversity in Limpopo Province, South Africa. *Water SA*. 2013. Vol. 39, no. 1. P. 95–104.

167. Juneja A., Ceballos R., Murthy G. Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: A Review. *Energies*. 2013. Vol. 6, no. 9. P. 4607–4638.

168. Karunkyi O., Reznik T., Kulidzhanov Ye. *Chlorella* suspension and its usage in finishing pigs' rations. *Grain products and mixed fodder's*. 2019. Vol. 19, no. 1. P. 46–49.

169. Keelin O. C. Evaluating algal growth at different temperatures. *Theses and Dissertations - Biosystems and Agricultural Engineering*. 2011. Vol. 3. 59 p.

170. Kessler E. Physiological and biochemical contributions to the taxonomy of the genera *Ankistrodesmus* and *Scenedesmus*. *Archives of Microbiology*. 1980. Vol. 126, no. 1. P. 11–14.

171. Kessler E. Upper limits of temperature for growth in *Chlorella* (Chlorophyceae). *Plant Systematics and Evolution*. 1985. Vol. 151, no. 1. P. 67–71.
172. Khoeyi Z., Seyfabadi J., Ramezanpour Z. Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae *Chlorella vulgaris*. *Aquaculture*. 2012. Vol. 32, no 6. P. 1404–1411.
173. Kim G., Mujtaba G., Lee K. Effects of nitrogen sources on cell growth and biochemical composition of marine chlorophyte *Tetraselmis* sp. for lipid production. *Algae*. 2016. Vol. 31, no. 3. P. 257–266.
174. Kinetic flux profiling dissects nitrogen utilization pathways in the oleaginous green alga *Chlorella protothecoides* / C. Wu et al. *Journal of Phycology*. 2016. Vol. 52, no. 1. P. 116–124.
175. Kirpenko N. I. Dynamics of the content of different forms of nitrogen in the medium used for intensive cultivation of *Chlorella*. *Hydrobiological Journal*. 2001. Vol. 37, no 6. P. 78–85.
176. Kirpenko N. I., Leontieva T. O. Growth intensity of *Desmodesmus communis* Hegew and *D. subspicatus* Hegew. Et Schmidt in various environments. *Advances in Modern Phycology: Book of Abstracts of the VI International Conference*. Kyiv, 2019. P. 52–54.
177. Kirpenko N. I., Usenko O. M., Musiy T. O. Biochemical composition of green algae at different stages of their growth. 2015. *Hydrobiological Journal*. Vol. 51, no. 4. P. 39–45.
178. Kirpenko N. I., Usenko O. M., Musiy T. O. Variability of the biochemical composition of algae (a review). 2015. *Hydrobiological Journal*. Vol. 51, no. 1. P. 49–62.
179. Kirpenko N. I., Usenko O. M., Musiy T. O. Comparative analysis of the content of proteins, carbohydrates, and lipids in the cells of green microalgae. *Hydrobiological Journal*. 2018. Vol. 54, no. 2. P. 81–91.
180. Kirpenko N. I., Usenko O. M., Musiy T. O. Content of proteins, carbohydrates and lipids in the cells of green microalgae at short term fluctuations of temperature. *Hydrobiological Journal*. 2017. Vol. 53, no. 1. P. 50–59.



181. Kirpenko N., Leontieva T. Biotechnological prospects of microalgae. *Biotechnologia Acta*. 2019. Vol. 12, no 6. P. 25–34.
182. Kirpenko N. I., Leontieva T. O., Tsarenko P. M. Morphometric characteristics of green microalgae in culture. *Hydrobiological Journal*. 2021. Vol. 57. no. 3. P. 37–47.
183. Kirpenko N. I., Usenko O. M., Musiy T. O. Content of proteins, carbohydrates and lipids in biomass of green algae under different temperature of cultivation. *Hydrobiological Journal*. 2016. Vol. 52, no. 1. P. 99–105.
184. Knight J. A. Chemical basis of the sulfo-phospho-vanilin reaction for estimating total serum lipids. *Clinical chemistry*. 1972. Vol. 18, no. 3. P. 199–202.
185. Koller M. Design of closed photobioreactors for algal cultivation. *Algal Biorefineries*. Cham, 2015. P. 133–186.
186. Komárková-Legnerová J. The systematics and ontogenesis of the genera *Ankistrodesmus* Corda and *Monoraphidium* gen. nov. *Studies in Phycology*. Prague: Academia Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, 1969. P. 75-144.
187. Kondzior P., Tyniecki D., Butarewicz A. Influence of color temperature of white LED diodes and illumination intensity on the content of photosynthetic pigments in *Chlorella vulgaris* Algae Cells. *Proceedings*. 2019. Vol. 16, no. 1. P. 46.
188. Latała A. Effects of salinity, temperature and light on the growth and morphology of green planktonic algae. *Octanologia*. 1991. Vol. 21. P. 119–138.
189. Lee E., Jalalizadeh M., Zhang Q. Growth kinetic models for microalgae cultivation: A review. *Algal Research*. 2015. Vol. 12. P. 497–512.
190. Lee R. E. *Phycology*. Cambridge University Press. 2018. 535 p.
191. Leliaert F., Verbruggen H., Zechman F. W. Into the deep: new discoveries at the base of the green plant phylogeny. *BioEssays*. 2011. Vol. 33, no. 9. P. 683–92.
192. Leontieva T. A., Kirpenko N. I. Chlorophyta growth rate on different cultivation media. *International Journal on Algae*. 2020. Vol. 22, no 1. P. 69–76.

193. Lewis L. A., Lewis P. O. Unearthing the molecular phylodiversity of desert soil green algae (Chlorophyta). *Systematic Biology*. 2005. Vol. 54, no 6. P. 936–47.
194. Lewis L. A., Muller-Parker G. Phylogenetic placement of "Zoochlorellae" (Chlorophyta), algal symbiont of the temperate sea anemone *Anthopleura elegantissima*. *The Biological Bulletin*. 2004. Vol. 207, no. 2. P. 87–92.
195. Li X., Xu H., Wu Q. Large-scale biodiesel production from microalga *Chlorella protothecoides* through heterotrophic cultivation in bioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*. 2007. Vol. 98, no. 4. P. 764-771.
196. Liu B. H., Lee Y. K. Effect of total secondary carotenoids extracts from *Chlorococcum* sp. on *Helicobacter pylori*-infected BALB/c mice. *International Immunopharmacology*. 2003. Vol. 3, no. 7. P. 979–986.
197. López-Bautista J. M., Rindi F., Guiry M. D. Molecular systematics of the subaerial green algal order Trentepohliales: an assessment based on morphological and molecular data. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2006. Vol. 56, no 7. P. 1709–1715.
198. Maddux W. S., Jones R. F. Some interactions of temperature, light intensity, and nutrient concentration during the continuous culture of *Nitzschia closterium* and *Tetraselmis* sp. *Limnology and Oceanography*. 1964. Vol. 9, no 1. P. 79–86.
199. Markou G., Vandamme D., Muylaert K. Ammonia inhibition on *Arthrospira platensis* in relation to the initial biomass density and pH. *Bioresource Technology*. 2014. Vol. 166. P. 259–265.
200. Markou G., Vandamme D., Muylaert K. Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients. *Water Research*. 2014. Vol. 65. P. 186–202.
201. Mayo A. W. Effects of temperature and pH on the kinetic growth of unialga *Chlorella vulgaris* cultures containing bacteria. *Water Environment Research*. 1997. Vol. 69, no. 1. P. 64–72.

202. McCree K. J. Test of current definitions of photosynthetically active radiation against leaf photosynthesis data. *Agricultural Meteorology*. 1972. Vol. 10. P. 443–453.

203. Medved' V. A., Borisova Y. V., Gorbunova Z. N. Transformation of urea during the growth of some blue-green (Cyanoprocaryota) and green (Chlorophyta, Chlorococcales) algae. *International Journal on Algae*. 2001. Vol. 3, no. 4. P. 89–100.

204. Medved V. O., Gorbunova Z. N., Vitovetska T. V. Peculiarities of accumulation of proteins, carbohydrates and lipids in the cells of green algae under different light conditions and photoperiod. *Hydrobiological Journal*. 2020. Vol. 56, no. 3. P. 97–104.

205. Medved' V. A., Gorbunova Z. N. Peculiarities of green algae growth and accumulation of pigments in their cells under different conditions of illumination and photoperiod length. *Hydrobiological Journal*. 2020. Vol. 56, no. 2. P. 63–72.

206. Mengel K. Potassium. *Handbook of Plant Nutrition*. Boca Raton: Taylor & Francis, 2007. P. 91–120.

207. Metabolic regulation of triacylglycerol accumulation in the green algae: identification of potential targets for engineering to improve oil yield / E. C. Goncalves et al. *Plant Biotechnology Journal*. 2016. Vol. 14, no. 8. P. 1649–1660.

208. Michalak I., Chojnacka K. Algae as production systems of bioactive compounds. *Engineering in Life Sciences*. 2015. Vol. 15, no. 2. P. 160–176.

209. Microalgal-based feed: promising alternative feedstocks for livestock and poultry production / I. Saadaoui et al. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2021. Vol. 12, no. 1. P. 76.

210. Mine I., Menzel D., Okuda K. Morphogenesis in giant-celled algae. *International review of cell and molecular biology*. 2008. Vol. 266. P. 37–83.

211. Mock T., Kroon B. M. A. Photosynthetic energy conversion under extreme conditions–II: the significance of lipids under light limited growth in Antarctic sea ice diatoms. *Phytochemistry*. 2002. Vol. 61, no. 1. P. 53–60.

212. Mohamed Z. A. Macrophytes-Cyanobacteria allelopathic interactions and their implications for water resources management – a review. *Limnologica*. 2017. Vol. 63. P. 122–132.
213. Molina E., Ación Fernández F., García Camacho F. Scale-up of tubular photobioreactors. *Journal of Applied Phycology*. 2000. Vol. 12. P. 355–368.
214. Muñoz R., Guieysse B. Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water Research*. 2006. Vol. 40, no. 15. P. 2799–2815.
215. Naselli-Flores L., Barone R. Green Algae. *Encyclopedia of Inland Waters*. 2009. P. 166–173.
216. Nezbritskaya I. N., Kureyshevich A. V. Changes in the content of photosynthetic pigments in representatives of Chlorophyta and Cyanoprokaryota at a high temperature. *Hydrobiological Journal*. 2015. Vol. 51, no. 4. P. 46–56.
217. Nezbrýtska I. M., Kureyshevich A. V., Vasilenko O. V. Effect of thermal conditions on growth processes and glutamate dehydrogenase activity in selected species of Chlorophyta and Cyanoprokaryota. *Hydrobiological Journal*. 2016. Vol. 52, no. 1. P. 106–113.
218. Nwoba E. G. Effect of selected light spectra on the growth of *Chlorella* spp. (Chlorophyta). *Nigerian Journal of Biotechnology*. 2017. Vol. 32, no. 1. P. 69-76.
219. O'Brien T. L. Inhibition of vacuolar membrane fusion by intracellular symbiotic algae in *Hydra viridis* (Florida strain). *Journal of Experimental Zoology*. 1982. Vol. 223, no. 3. P. 211–218.
220. Ogbonna J. C., Tanaka H. Night biomass loss and changes in biochemical composition of cells during light/dark cyclic culture of *Chlorella pyrenoidosa*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 1996. Vol. 82, no. 6. P. 558–564.
221. Park J. K. Algal polysaccharides: properties and applications. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*. 2015. Vol. 4, no 2.

222. Parker B. C., Jones V. A., Neves R. J. Biochemical composition of three algal species proposed as food for captive freshwater mussels. *Journal of Applied Phycology*. 2003. Vol. 15, no. 1. P. 1–11.
223. Pearson J., Stewart G. R. The deposition of atmospheric ammonia and its effects on plants. *New Phytologist*. 1993. Vol. 125, no. 2. P. 283–305.
224. Peralta E., Jerez C. G., Figueroa, F. L. Centrate grown *Chlorella fusca* (Chlorophyta): Potential for biomass production and centrate bioremediation. *Algal Research*. 2019. № 39.
225. Photosynthetic response to elevated temperature in the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium microadriaticum* in culture. / R. Iglesias-Prieto et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1992. Vol. 89, no. 21. P. 10302–10305.
226. Phylogenetic analysis identifies the invertebrate pathogen *Helicosporidium* sp. as a green alga (Chlorophyta). / A. Tartar et al. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2002. Vol. 52, no. 1. P. 273–279.
227. Phylogeny and molecular evolution of the green algae / F. Leliaert et al. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2012. Vol. 31, no. 1. P. 1–46.
228. Potential use of aquatic vascular plants to control cyanobacterial blooms: a Review / I. Nezbrzytska et al. *Water*. 2022. Vol. 14, no. 11. P. 1727.
229. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowry et al. *Journal of biological chemistry*. 1951. Vol. 193, no. 1. P. 265-275.
230. Ras M., Steyer J. P., Bernard O. Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. 2013. Vol. 12, no. 2. P. 153–164.
231. Raven J. A., Geider R. J. Temperature and algal growth. 1988. *New Phytologist*. Vol. 110. P. 441-461.
232. Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor / A. Ozkan et al. *Bioresource Technology*. 2012. Vol. 114. P. 542–548.

233. Remias D., Lütz-Meindl U., Lütz C. Photosynthesis, pigments and ultrastructure of the alpine snow alga *Chlamydomonas nivalis*. *European Journal of Phycology*. 2005. Vol. 40, no. 3. P. 259–268.
234. Rezvani M., Zaghari M., Moravej H. A. Survey on *Chlorella vulgaris* effect's on performance and cellular immunity in broilers. *International Journal of Agricultural Science and Research*. 2012. Vol. 3. P. 9–15.
235. Rhee G.-Y. Effects of Environmental factors and their interactions on phytoplankton growth. *Advances in Microbial Ecology*. 1982. Vol. 6. P. 33–74.
236. Richmond A., Cheng-Wu Z., Zarmi Y. Efficient use of strong light for high photosynthetic productivity: interrelationships between the optical path, the optimal population density and cell-growth inhibition. *Biomolecular Engineering*. 2003. Vol. 20, no. 4-6. P. 229–236.
237. Richmond A., Hu Q. Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology. Wiley & Sons, Incorporated, John, 2013. 736 p.
238. Romanenko V. D., Krot Yu. G. Biotechnological researches in the Institute of hydrobiology of National academy of sciences of Ukraine. *Hydrobiological Journal*. 2015. Vol. 51, no. 4. P. 21–30.
239. Ruan Z., Giordano M. The use of  $\text{NH}_4^+$  rather than  $\text{NO}_3^-$  affects cell stoichiometry, C allocation, photosynthesis and growth in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. UTEX LB 2380, only when energy is limiting. *Plant, Cell & Environment*. 2017. Vol. 40, no. 2. P. 227–236.
240. Ruangsomboon S. Effect of light, nutrient, cultivation time and salinity on lipid production of newly isolated strain of the green microalga, *Botryococcus braunii* KMITL 2. *Bioresource Technology*. 2012. Vol. 109. P. 261–265.
241. Ruangsomboon S. Effects of different media and nitrogen sources and levels on growth and lipid of green microalga *Botryococcus braunii* KMITL and its biodiesel properties based on fatty acid composition. *Bioresource Technology*. 2015. Vol. 191. P. 377–384.

242. Salbitani G., Carfagna S. Ammonium utilization in microalgae: a sustainable method for wastewater treatment. *Sustainability*. 2021. Vol. 13, no. 2. P. 956.

243. Salbitani G., Carfagna S. Different behaviour between autotrophic and heterotrophic *Galdieria sulphuraria* (Rhodophyta) cells to nitrogen starvation and restoration. Impact on pigment and free amino acid contents. *International Journal of Plant Biology*. 2020. Vol. 11, no. 1. P. 8567.

244. Sarpong G., Gude V. G. Near future energy self-sufficient wastewater treatment schemes. *International Journal of Environmental Research*. 2020. Vol. 14, no. 4. P. 479–488.

245. Scaling-up sustainable *Chlorella vulgaris* microalgal biomass cultivation from laboratory to pilot-plant photobioreactor, towards biofuel / Papapolymerou G. et. al. / *Global NEST Journal*. 2018. Vol. 21, no. 1. P. 37–42.

246. Serrano-Aroca Á., Chirivella-Martorell J. Direct spectrophotometric method to determine cell density of *Isochrysis galbana* in serial batch cultures from a larger scale fed-batch culture in exponential phase. *International conference on multidisciplinary sciences, 3rd edition*. Basel, Switzerland, 2017.

247. Seyfabadi J., Ramezanpour Z., Amini Khoeyi Z. Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. *Journal of Applied Phycology*. 2010. Vol. 23, no. 4. P. 721–726.

248. Shalaby E. Algae as Promising Organisms for Environment and Health. *Plant Signaling & Behavior*. 2011. Vol. 6, no 9. P. 1338–1350.

249. Shcherbak V.I. Response of phytoplankton of the Kiev Reservoir to the increase in summer temperatures. *Hydrobiological Journal*. 2019. Vol. 55, no. 1. P. 18–35.

250. Singh S. P., Singh P. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2015. Vol. 50. P. 431–444.

251. Soloviy K., Malovanyy M. Freshwater ecosystem macrophytes and microphytes: development, environmental problems, usage as raw material. Review. *Environmental problems*. 2019. Vol. 4, no. 3. P. 115–124.

252. Some Problems of the use of microalgae for nitrogen and phosphorus removal from wastewater (a Review) / I. M. Nezbrytska et al. *Hydrobiological Journal*. 2021. Vol. 57, no. 2. P. 62–78.

253. Species-specific Peculiarities of the green algae growth at additional carbon nutrition. Report 1. Growth rate of the green algae at maximal saturation of medium by CO<sub>2</sub> in open cultivation system / V. D. Romanenko et al. *Hydrobiological Journal*. 2010. Vol. 46, no. 3. P. 60–72.

254. Species-specific peculiarities of the green algae growth at additional carbonic nutrition. Report 2. growth of *Chlorella vulgaris* Beijer. Strain LARG-3 at CO<sub>2</sub> utilization in close cultivation system / V. D. Romanenko et al. *Hydrobiological Journal*. 2010. Vol. 46, no. 5. P. 44–50.

255. Starch metabolism in green algae / M. V. Busi et al.. 2014. *Starke*. Vol. 66, no. 1-2. P. 28–40.

256. Stéphanie B., Bruno D., Juliette J. Biophysical properties of glycerolipids and their impact on membrane architecture and biology. *Advances in Botanical Research*. 2022. Vol. 101. P. 1–57.

257. Strain of the green microalga *Monoraphidium* sp. HPDP-105 - a producer of biologically valuable compounds / N. I. Kirpenko et al. *Hydrobiological Journal*. 2021. Vol. 57, no. 6. P. 82–91.

258. Sukenik A., Carmeli Y., Berner T. Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp. 1. *Journal of Phycology*. 1989. Vol. 25, no. 4. P. 686–692.

259. Tailoring microalgae for efficient biofuel production / P. K. Sharma et al. *Frontiers in Marine Science*. 2018. Vol. 5. P. 382.

260. Tanaka Y., Nishiyama Y., Murata N. Acclimation of the photosynthetic machinery to high temperature in *Chlamydomonas reinhardtii* requires synthesis de



novo of proteins encoded by the nuclear and chloroplast genomes. *Plant Physiology*. 2000. Vol. 124, no. 1. P. 441–449.

261. Temperature dependence of population growth in a green microalga: thermodynamic characteristics of growth intensity and the influence of cell concentration / C. J. Soeder et al. *Zeitschrift für Naturforschung*. 1985. Vol. 40, no. 3-4. P. 227–233.

262. Teoh M.-L., Chu W.-L., Phang S.-M. Effect of temperature change on physiology and biochemistry of algae: a review. *Malaysian journal of science*. 2010. Vol. 29, no 1. P. 82–97.

263. The application of the microalgae *Chlorella* spp. as a supplement in broiler feed / S. A. Abdelnour et al. *World's Poultry Science Journal*. 2019. Vol. 75, no. 2. P. 305–318.

264. The cell composition of *Nannochloropsis* sp. changes under different irradiances in semicontinuous culture / J. Fábregas et al. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2004. Vol. 20, no. 1. P. 31–35.

265. The cell wall evolution and diversity / J. U. Fangel et al. *Frontiers in Plant Science*. 2012. Vol. 3. P. 82.

266. The *Chlamydomonas reinhardtii* plastid chromosome / J. E. Maul et al. *The Plant Cell*. 2002. Vol. 14, no. 11. P. 2659–2679.

267. The dietary effects of fermented chlorella vulgaris (CBT) on Production performance, liver lipids and intestinal microflora in laying hens / L. Zheng et al. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2011. Vol. 25, no. 2. P. 261–266.

268. The effects of light intensities, temperatures, ph and salinities on photosynthesis of *Chlorella* / Z.-R. Ouyang et al. *Plant Science Journal*. 2010. Vol. 30, no. 1. P. 49–55.

269. The *Hydra viridis* / *Chlorella* symbiosis. Growth and sexual differentiation in polyps without symbionts / M. Habetha et al. *Zoology*. 2003. Vol. 106, no. 2. P. 101–108.

270. The Microalga *Nannochloropsis* during transition from quiescence to autotrophy in response to nitrogen availability / A. Zienkiewicz et al. *Plant Physiology*. 2019. Vol. 182, no. 2. P. 819–839.

271. The taurine biosynthetic pathway of microalgae / R. Tevatia et al. *Algal Research*. 2015. Vol. 9. P. 21–26.

272. The unexpected extremophile: Tolerance to fluctuating salinity in the green alga *Picochlorum* / F. Foflonker et al. *Algal Research*. 2016. Vol. 16. P. 465–472.

273. Thompson P. A., Guo M., Harrison P. J. Effects of temperature. I. On the biochemical composition of eight species of marine phytoplankton. *Journal of Phycology*. 1992. Vol. 28, no. 4. P. 481–488.

274. Transcriptome analysis for phosphorus starvation-induced lipid accumulation in *Scenedesmus* sp / F. Yang et al. *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8, no. 1. P. 1–11.

275. Tsarenko P., Borysova O., Blume Ya. High biomass producers and promising candidates for biodiesel production from microalgae collection IBASU-A (Ukraine). *Oceanological and Hydrobiological Studies*. 2016. Vol. 45, no 1. P. 79–85.

276. Van Donk E., Van de Bund W. J. Impact of submerged macrophytes including charophytes on phyto- and zooplankton communities: allelopathy versus other mechanisms. *Aquatic Botany*. 2002. Vol. 72, no. 3-4. P. 261–274.

277. Vechtel B., Eichenberger W., Ruppel G. Lipid bodies in *Eremosphaera viridis* de bary (Chlorophyceae). *Plant & Cell Physiology*. 1992. Vol. 33. P. 41–48.

278. Vinayak V. Algae as sustainable food in space missions. *Biomass, Biofuels, Biochemicals*. 2022. P. 517–540.

279. Wahidin S., Idris A., Shaleh S. R. M. The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp. *Bioresource Technology*. 2013. Vol. 129. P. 7–11.

280. Warming will affect phytoplankton differently: evidence through a mechanistic approach / I. E. Huertas et al. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2011. Vol. 278, no. 1724. P. 3534–3543.
281. Wijffels R. H., Barbosa M. J., Eppink M. H. M. Microalgae for the production of bulk chemicals and biofuels. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*. 2010. Vol. 4, no. 3. P. 287–295.
282. 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 Physiology and Biochemistry*. 2016. Vol. 106. P. 305–315.
283. Yalçın Duygu D. Growth kinetics of *Scenedesmus obliquus* strains in different nutrient media. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*. 2019. Vol. 5, no. 2. P. 95–103.
284. Yamori W. Photosynthesis and respiration. *Plant Factory*. 2016. P. 141–150.
285. Yodsuwan N., Sawayama S., Sirisansaneeyakul S. Effect of nitrogen concentration on growth, lipid production and fatty acid profiles of the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Agriculture and Natural Resources*. 2017. Vol. 51, no. 3. P. 190–197.
286. You T., Barnett S. M. Effect of light quality on production of extracellular polysaccharides and growth rate of *Porphyridium cruentum*. *Biochemical Engineering Journal*. 2004. Vol. 19, no. 3. P. 251–258.
287. Yun Y. S., Park J. M. Attenuation of monochromatic and polychromatic lights in *Chlorella vulgaris* suspensions. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2001. Vol. 55, no 6. P. 765–770.
288. Yun Y. S., Park J. M. Kinetic modeling of the light-dependent photosynthetic activity of the green microalga *Chlorella vulgaris*. *Biotechnology and Bioengineering*. 2003. Vol. 83, no. 3. P. 303–311.