



ЗАМЕТКИ

УДК 574.583:574.24

УГЛЕВОДЫ КАК ОРГАНИЧЕСКИЙ СУБСТРАТ ДЛЯ МИКРОВОДОРОСЛИ *TISOCHRYSIS LUTEA* (НАРТОРФУТА) В УСЛОВИЯХ ЛАБОРАТОРНОЙ КУЛЬТУРЫ

© 2021 г. А. В. Огнистая^{1,2}, Ж. В. Маркина¹¹Национальный научный центр морской биологии имени А. В. Жирмунского ДВО РАН,
Владивосток, Российская Федерация²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Российская Федерация
E-mail: alya_lokshina@mail.ruПоступила в редакцию 22.03.2021; после доработки 04.06.2021;
принята к публикации 29.09.2021; опубликована онлайн 30.11.2021.

Исследована возможность применения углеводов для оптимизации процесса культивирования микроводоросли *Tisochrysis lutea* (Haptophyta). Проанализировано влияние D-галактозы, глюкозы и сахарозы в концентрациях 100 и 200 мг·л⁻¹ на динамику численности популяции *T. lutea*. Установлено, что добавление всех изученных углеводов стимулировало рост микроводоросли, однако наибольший эффект оказала сахароза в концентрации 200 мг·л⁻¹.

Ключевые слова: *Tisochrysis lutea*, численность клеток, углеводы, аквакультура

Микроводоросли являются источником пищи для представителей различных групп гидробионтов. Среди морских микроводорослей *Tisochrysis lutea* вызывает большой интерес как кормовой объект для беспозвоночных (мидий, устриц, гребешка, трепанга). Кроме того, её применяют для подкормки личинок лососевых, камбаловых и представителей других семейств рыб. Управление параметрами роста альгокультур (обогащение состава сред, внесение питательных субстратов и др.) приводит к его ускорению (Bigagli et al., 2018). В настоящее время одной из задач культивирования является получение высокой численности микроводорослей в короткие сроки.

Цель данной работы — оценить влияние углеводов на рост морской микроводоросли *Tisochrysis lutea*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования послужила культура одноклеточной водоросли *T. lutea* (Haptophyta) — штамм MBRU_Tiso-08 из коллекции микроводорослей ресурсного центра «Морской биобанк» ННЦМБ ДВО РАН (Efimova et al., 2016). Культивирование *T. lutea* проводили на питательной среде *f* с добавлением D-галактозы, глюкозы и сахарозы в концентрациях 100 и 200 мг·л⁻¹, при температуре +20 °С, интенсивности освещения 50 мкмоль·м⁻²·с⁻¹ в области видимого света и свето-темновом периоде 12 ч : 12 ч (свет : темнота). Микроводоросль выращивали в конических колбах объёмом 250 мл с количеством культуральной среды 100 мл;

режим культивирования — периодический. Контролем служила водоросль, выращенная на среде *f* без добавления углеводов. Продолжительность экспериментов — 21 сутки. Численность *T. lutea* подсчитывали под микроскопом в камере Горяева. Биомассу водорослей (сырой вес) рассчитывали по известной формуле (Левич и др., 1997). Эксперименты проведены в трёх биологических повторностях. Рассчитаны средние значения и стандартные отклонения. Статистическая обработка данных проведена в Microsoft Office Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выявлено, что добавление D-галактозы в обеих концентрациях способствовало росту *T. lutea* и увеличению её биомассы по 18-е сутки. На 21-е сутки данные показатели были ниже контрольных при 100 мг·л⁻¹ D-галактозы (табл. 1).

Таблица 1. Влияние углеводов на численность и биомассу *Tisochrysis lutea*

Table 1. Effect of carbohydrates on *Tisochrysis lutea* abundance and biomass

Сутки	Контроль	D-галактоза		Глюкоза		Сахароза	
		100 мг·л ⁻¹	200 мг·л ⁻¹	100 мг·л ⁻¹	200 мг·л ⁻¹	100 мг·л ⁻¹	200 мг·л ⁻¹
Численность клеток, × 10 ⁴ в мл							
0	21 ± 0,2	21 ± 0,2	21 ± 0,2	21 ± 0,2	21 ± 0,2	21 ± 0,2	21 ± 0,2
2	24,5 ± 0,1	29 ± 0,3	23,8 ± 0,1	21,2 ± 0,2	21,7 ± 0,4	23,7 ± 0,4	32,3 ± 0,9
4	26,5 ± 0,3	34,5 ± 0,5	29,8 ± 0,4	31,7 ± 0,5	25,5 ± 0,5	35,0 ± 0,7	31,2 ± 1,2
7	33,8 ± 0,3	52,8 ± 1,0	51,0 ± 1,5	36,7 ± 0,7	59,2 ± 0,8	49,4 ± 0,5	47,0 ± 0,9
9	64,5 ± 0,6	84,9 ± 0,8	93,2 ± 0,9	74,2 ± 0,9	74,7 ± 1,0	70,4 ± 0,7	69,9 ± 1,2
11	102,8 ± 0,7	121,0 ± 1,2	121,0 ± 1,3	96,8 ± 0,3	97,5 ± 0,9	246,6 ± 1,0	294,6 ± 1,0
14	122,0 ± 0,4	134,6 ± 1,6	149,8 ± 1,4	142,0 ± 1,3	168,5 ± 1,2	157,2 ± 0,9	165,9 ± 0,9
16	167,0 ± 0,9	176,2 ± 0,9	178,1 ± 0,9	191,2 ± 0,8	194,5 ± 0,8	219,7 ± 1,5	219,0 ± 0,7
18	479,8 ± 1,2	634,3 ± 1,3	585,4 ± 1,7	424,8 ± 1,4	434,2 ± 1,3	745,3 ± 1,8	792,8 ± 1,6
21	587,2 ± 1,4	509,0 ± 1,7	581,7 ± 1,0	607,8 ± 1,0	574,5 ± 1,5	750,3 ± 0,9	833,6 ± 0,5
Биомасса, мг·л ⁻¹							
0	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3	0,6 ± 0,3
2	0,7 ± 0,2	0,9 ± 0,4	0,7 ± 0,2	0,6 ± 0,5	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,9 ± 0,4
4	0,8 ± 0,4	1,0 ± 0,6	0,9 ± 0,5	1,0 ± 0,6	0,8 ± 0,4	1,0 ± 0,4	1,0 ± 0,6
7	1,0 ± 0,9	1,6 ± 0,4	1,6 ± 0,7	1,1 ± 0,5	1,8 ± 0,8	1,5 ± 0,5	1,4 ± 0,8
9	1,9 ± 0,3	1,5 ± 1,2	1,6 ± 0,9	2,2 ± 0,8	2,2 ± 0,4	2,1 ± 1,2	2,1 ± 0,8
11	3,1 ± 1,1	3,7 ± 0,7	3,7 ± 1,1	2,9 ± 1,1	3,0 ± 1,2	7,5 ± 1,1	8,9 ± 1,3
14	3,7 ± 1,1	4,0 ± 1,2	4,4 ± 1,5	4,3 ± 0,9	5,1 ± 1,0	4,8 ± 0,8	5,0 ± 1,5
16	5,0 ± 0,9	5,4 ± 0,9	5,4 ± 0,9	5,8 ± 1,3	5,9 ± 0,7	6,7 ± 0,9	6,7 ± 1,2
18	14,5 ± 1,8	19,2 ± 1,3	17,8 ± 1,9	12,9 ± 1,7	13,1 ± 1,6	22,7 ± 1,9	24,1 ± 2,0
21	17,8 ± 1,6	15,5 ± 1,8	17,7 ± 1,3	18,5 ± 1,8	17,4 ± 1,3	22,8 ± 2,2	25,3 ± 1,9

Примечание: представлены средние значения и стандартные отклонения.

Note: mean values and standard deviations are given.

При внесении глюкозы в обеих концентрациях увеличение численности и биомассы *T. lutea* обнаружено с 7-х по 16-е сутки эксперимента (см. табл. 1). Сахароза стимулировала рост водоросли, особенно с 11-х суток (см. табл. 1). Наиболее выраженным был эффект при 200 мг·л⁻¹. В литературе также показано, что рост микроводорослей при внесении органических субстратов (в том числе углеводов) становился более интенсивным, например у *Chlamydomonas reinhardtii* и *Haematococcus pluvialis* (Jeon et al., 2006), *Chlorella sorokiniana* и *Chlorella* sp. (Heredia-Arroyo et al., 2010), *Nannochloropsis* sp. (Hu & Gao, 2003).

Заключение. Добавление D-галактозы, глюкозы и особенно сахарозы приводило к увеличению численности и биомассы *T. lutea*. Влияние углеводов на рост микроводоросли носило дозозависимый характер. Таким образом, добавление углеводов является перспективным способом выращивания *T. lutea*.

Работа выполнена за счёт гранта Российского научного фонда № 21-74-30004.

Благодарность. Авторы признательны ресурсному центру «Морской биобанк» НИЦМБ ДВО РАН (<http://marbank.dvo.ru>) за предоставление культуры *Tisochrysis lutea* (Haptophyta) MBRU_Tiso-08.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Левич А. П., Максимов В. Н., Булгаков Н. Г. *Теоретическая и экспериментальная экология фитопланктона: управление структурой и функциями сообществ*. Москва : Изд-во НИЛ, 1997. 192 с. [Levich A. P., Maksimov V. N., Bulgakov N. G. *Teoreticheskaya i eksperimental'naya ekologiya fitoplanktona: upravlenie strukturoi i funktsiyami soobshchestv*. Moscow : Izd-vo NIL, 1997, 192 p. (in Russ.)]
2. Bigagli E., Cinci L., Nicolai A., Biondi N. Preliminary data on the dietary safety, tolerability and effects on lipid metabolism of the marine microalga *Tisochrysis lutea*. *Algal Research*, 2018, vol. 34, pp. 244–249. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.008>
3. Efimova K. V., Orlova T. Y., Brykov V. A. Molecular genetic identification of a new *Tisochrysis lutea* (Bendif et Probert, 2013) strain isolated from the Russian coastal waters of the Sea of Japan. *Microbiology*, 2016, vol. 85, pp. 325–332. <https://doi.org/10.1134/S0026261716030036>
4. Heredia-Arroyo T., Wei W., Hu B. Oil accumulation via heterotrophic/mixotrophic *Chlorella protothecoides*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2010, vol. 162, iss. 7, pp. 1978–1995. <https://doi.org/10.1007/s12010-010-8974-4>
5. Hu H., Gao K. Optimization of growth and fatty acid composition of a unicellular marine picoplankton, *Nannochloropsis* sp., with enriched carbon sources. *Biotechnology Letters*, 2003, vol. 25, iss. 5, pp. 421–425. <https://doi.org/10.1023/a:1022489108980>
6. Jeon Y. C., Cho C. W., Yun Y. S. Combined effects of light intensity and acetate concentration on the growth of unicellular microalga *Haematococcus pluvialis*. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006, vol. 39, iss. 3, pp. 490–495. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.12.021>

CARBOHYDRATES AS AN ORGANIC SUBSTRATE FOR MICROALGAE *TISOCHRYSIS LUTEA* (HAPTOPHYTA) UNDER CONDITIONS OF LABORATORY CULTURE

A. V. Ognistaya^{1,2} and Zh. V. Markina¹

¹A. V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, FEB RAS, Vladivostok, Russian Federation

²Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

E-mail: alya_lokshina@mail.ru

The possibility was studied of using carbohydrates in order to optimize the cultivation process of microalgae *Tisochrysis lutea* (Haptophyta). The effect of D-galactose, glucose, and sucrose at concentrations of 100 and 200 mg·L⁻¹ on the dynamics of *T. lutea* abundance was analyzed. As found, adding of all the studied carbohydrates stimulated microalgae growth, with sucrose at a concentration of 200 mg·L⁻¹ having the most pronounced effect.

Keywords: *Tisochrysis lutea*, cell abundance, carbohydrates, aquaculture