

НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 582.263:57.083.13

**ТЕХНОЛОГИЯ ВЫРАЩИВАНИЯ
МОРСКОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *TETRASELMIS VIRIDIS*
ПРИ ЕСТЕСТВЕННОМ ОСВЕЩЕНИИ
И МИНИМАЛЬНЫХ ТЕХНИЧЕСКИХ ЗАТРАТАХ**

© 2023 г. С. Ю. Горбунова¹, А. А. Чекушкин

¹ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: svetlana_8423@mail.ru

Поступила в редакцию 28.12.2020; после доработки 23.03.2021;
принята к публикации 04.08.2023; опубликована онлайн 21.09.2023.

Главной причиной медленного внедрения научных разработок морской альготехнологии в промышленную практику является отсутствие систем, позволяющих получать биомассу микроводорослей в количествах, которые необходимы для исследования потенциальных продуктов и для отработки промышленной технологии их производства. Такие системы позволяют значительно снизить экономические затраты на создание и поддержание благоприятных абиотических условий для выращивания микроводорослей в промышленных масштабах, поскольку в качестве источника освещения используется энергия солнца. В статье предложен способ выращивания морской микроводоросли *Tetraselmis viridis* при естественном освещении и минимальных технических затратах. Авторами разработана мобильная установка для культивирования морских микроводорослей и для исследования их ростовых характеристик в условиях естественного освещения. Данную установку предлагается использовать при переходе от лабораторных масштабов культивирования микроводорослей к промышленным. Приведены основные требования, которым должна удовлетворять мобильная установка, и обоснованы её конструкции для промышленного выращивания альгологически чистой культуры *T. viridis*. Разработана технология, позволяющая обеспечить организацию процесса культивирования *T. viridis* с максимальной производительностью культуры $5,7 \text{ г} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сут}^{-1}$ и плотностью $271,6 \text{ млрд кл.} \cdot \text{м}^{-2}$ ($R^2 = 0,99$). Дана сравнительная оценка биохимического состава и кинетических характеристик роста *T. viridis* при выращивании в мобильной установке в условиях естественного освещения и в лабораторных культиваторах при постоянном искусственном освещении.

Ключевые слова: микроводоросли, *Tetraselmis viridis*, накопительная культура, продуктивность, промышленное культивирование

Интенсивное культивирование микроводорослей в открытых водоёмах проводят в основном для получения биомассы и использования её в пищу [Гудвилевич, Боровков, 2012; Venemann, 1992; Chaumont, 1993], для применения в качестве источника сырья для производства химических веществ и использования их в фармацевтической промышленности [Жондарева, Тренкеншу, 2019; Demmig-Adams, Adams, 2002], а также для очистки сточных вод [de la Noüe et al., 1992; Dobrojan, 2010; Markou, 2015]. Главной причиной медленного внедрения научных

разработок альготехнологии в практику является отсутствие промышленных систем, позволяющих получать биомассу микроводорослей в количествах, которые необходимы для исследования потенциальных продуктов и для отработки технологий их производства.

Технология массового культивирования микроводорослей в большинстве случаев предполагает применение открытых систем с естественным освещением, состоящих из бассейнов и прудов. Чаще всего это бассейны небольшой глубины, выстланные плёнкой, реже — цементированные траншеи, лотки различной формы, цистерны. Такие системы позволяют значительно снизить экономические затраты на создание и поддержание благоприятных условий для выращивания микроводорослей в промышленных масштабах, поскольку в качестве источника освещения используется энергия солнца. Однако при применении открытых систем существует вероятность загрязнения биомассы бактериями и другими инвазивными организмами. Кроме того, производства целесообразно размещать в районах, где мало облачных и дождливых дней и невелики суточные перепады температур. Одним из таких регионов является юг России, что обусловлено благоприятными климатическими условиями, позволяющими выращивать микроводоросли с использованием только солнечной энергии непрерывно 2–3 сезона в течение года [Абдулагатов и др., 2018; Borovkov et al., 2020; Peel et al., 2007].

Задача данной работы заключалась в разработке дешёвого варианта мобильной установки, условия в которой приближены к промышленным условиям выращивания морских микроводорослей на примере *Tetraselmis viridis* (Rouchijajnen) R. E. Norris, Hori & Chihara, 1980, а также в сравнительной оценке биохимического состава и кинетических характеристик роста водоросли при выращивании в лабораторных условиях при круглосуточном искусственном освещении и в мобильной установке в условиях естественного освещения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали зелёную микроводоросль *T. viridis* — штамм IBSS-25 из коллекции ФИЦ ИнБЮМ. Питательную среду готовили на основе нестерильной черноморской воды солёностью 1,4–1,8 ‰. Состав среды для культивирования *T. viridis* в плотной культуре приведён ранее [Тренкеншу и др., 1981]. С целью сохранения альгологически чистой культуры микроводорослей уровень солёности в среде доводили до средиземноморского путём добавления 15 г·л⁻¹ NaCl [Горбунова, Тренкеншу, 2020]. Для получения инокулята *T. viridis* в течение 5 сут выращивали в лабораторных условиях накопительным методом в культиваторах объёмом 3 л при освещённости 10 клк на питательной среде Тренкеншу. Для засева бассейна использовали активно делящуюся культуру с начальной плотностью 0,08 г·л⁻¹ сухого вещества.

Установка для культивирования микроводорослей была размещена на причале лабораторного корпуса ФИЦ ИнБЮМ в период с 26 августа по 7 сентября 2020 г. Она представляет собой бассейн размером 1 × 1 м и высотой 0,1 м (рис. 1). Так как установка круглосуточно находилась под открытым небом, необходимо было поддерживать в ней температуру в пределах оптимума культивирования *T. viridis*. С этой целью была подключена система охлаждения. По всему периметру дна бассейна был уложен лист пенопласта, а на него — полиуретановая трубка, по которой непрерывно циркулировала морская вода. Трубку засыпали песком, дно бассейна выстлали полиэтиленовой плёнкой.

С помощью водяного насоса Air Pump АСО-008 мощностью 120 Вт и давлением менее 0,032 МПа воду подавали из моря на причал. Дневная температура суспензии в бассейне была ниже температуры воздуха на 3–7 °С. В течение всего эксперимента ежесуточную температуру в установке поддерживали в диапазоне +23...+28 °С. Без системы охлаждения культура перегревалась и за 36–48 ч погибала. Во избежание попадания в бассейн мусора и возможных осадков была установлена скошенная крыша, обтянутая полиэтиленовой плёнкой (рис. 1); это обеспечивало

естественную вентиляцию установки. Рабочий объём бассейна составлял 70 л. С целью компенсации испарения воды такой объём поддерживали на протяжении всего эксперимента, доливая перед измерениями дистиллированную воду до отметки 7 см.



Рис. 1. Бассейн с системой охлаждения

Fig. 1. The pool with a cooling system

Непрерывное перемешивание микроводорослей в бассейне осуществляли при помощи водяной помпы со скоростью прокачки суспензии $2800 \text{ л}\cdot\text{ч}^{-1}$, что обеспечивало круглосуточный газообмен культуры и равномерное освещение клеток по всему объёму установки. Освещённость на поверхности бассейна контролировали 2 раза в сутки люксметром Ю-116. До запуска установки культура находилась в иных световых условиях: в лаборатории освещённость была постоянной, её интенсивность была ниже естественной максимальной суточной освещённости более чем в 6 раз. Первые трое суток, пока плотность культуры была небольшой, крышу бассейна закрывали сеткой. В противном случае в условиях безоблачной погоды клетки *T. viridis* полностью обесцвечивались. В среднем, за всё время эксперимента, максимальная суточная освещённость в области фотосинтетически активной радиации составляла $300 \text{ Вт}\cdot\text{м}^{-2}$; для расчётов использовали данные, представленные в работе [Чекушкин и др., 2020]. Значение освещённости указано с учётом поглощения 25 % солнечной энергии крышей бассейна.

Параллельно *T. viridis* выращивали в лабораторном культиваторе при тех же условиях, что и инокулят для засева бассейна. Оптическую плотность рассчитывали по формуле $D = -\lg(T)$, где T — величина пропускания, определяемая на Unico 2100 (United Products & Instruments, США) при длине волны 750 нм, в кюветах с рабочей длиной 0,5 см. Абсолютная погрешность не превышала 1,0 %.

Для удобства сравнения полученных результатов с данными, представленными в работе [Жондарева, Тренкеншу, 2019], оптическую плотность слоя суспензии (7 см) определяли путём умножения значений плотности в кювете (0,5 см) на 14.

При пересчёте единиц оптической плотности на сухую массу микроводорослей (далее — СМ) использовали эмпирически определённый коэффициент k , равный $0,8 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}\cdot\text{ед. опт. пл}^{-1}$: $\text{СМ} = k \times D_{750}$ [Боровков, Геворгиз, 2005]. Концентрацию клеток определяли прямым подсчётом в камере Горяева под микроскопом в восьмикратной повторности. Микроскопический контроль культуры производили с помощью светового микроскопа Carl Zeiss Axiostar Plus (Германия).

Пигменты (хлорофилл *a*, хлорофилл *b*, каротиноиды) экстрагировали из клеток микроводорослей ацетоном (100 %) [Копытов и др., 2015]. Спектры поглощения ацетоновых экстрактов фиксировали в диапазоне от 400 до 800 нм в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 см. Оценку пигментного состава по спектру поглощения ацетонового экстракта проводили

в трёх повторностях по стандартной методике, с использованием линейных уравнений по трём точкам в спектре поглощения экстракта [Wellburn, 1994]. Все расчёты проводили для уровня значимости $\alpha = 0,05$. Математическую обработку и моделирование экспериментальных данных осуществляли с помощью компьютерных программ Grapher 3, MS Excel и MATLAB.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рост культуры *T. viridis* в бассейне при круглосуточном освещении контролировали в течение 12 суток. Линейный рост культуры зарегистрирован со 2-х по 10-е сутки эксперимента (рис. 2А). За это время плотность культуры увеличилась в 7,5 раза.

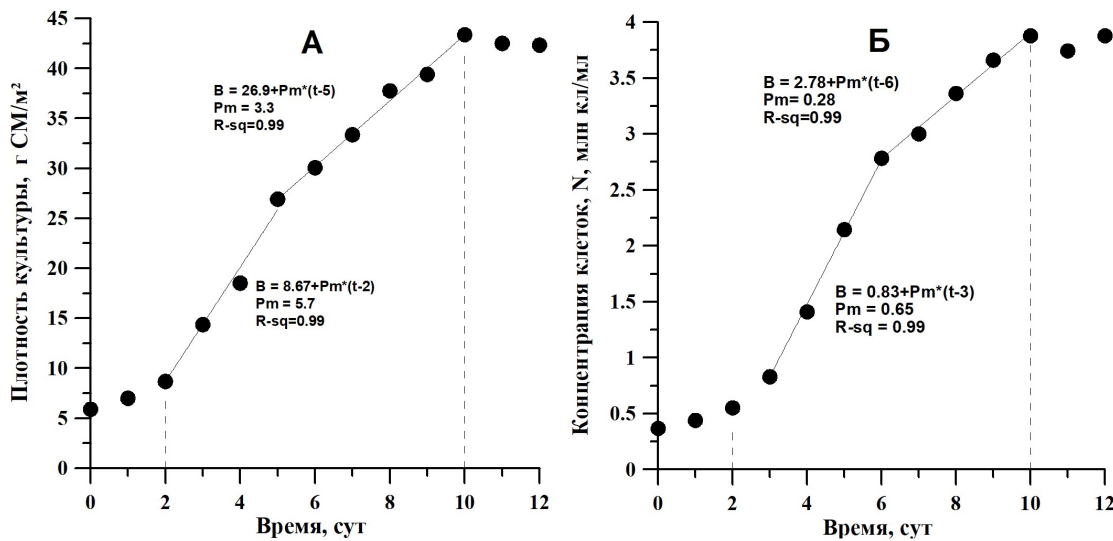


Рис. 2. Динамика плотности (А) и роста (Б) клеток культуры *Tetraselmis viridis* при выращивании в бассейне в условиях естественного освещения

Fig. 2. Dynamics of *Tetraselmis viridis* density (А) and growth (Б) in the pool under natural light

На 5-е сутки продуктивность культуры по биомассе (Pm) уменьшилась с 5,7 до 3,3 г $СМ \cdot м^{-2}$ ($R^2 = 0,99$); это, видимо, является следствием начала лимитирования роста микроводорослей по углероду или световым условиям, поскольку на линейном участке скорость роста определяется величиной внешнего потока (света или углекислого газа), который полностью поглощается культурой и ограничивает её продуктивность [Тренкеншу, 2005]. На 11-е сутки рост *T. viridis* прекратился. Окончание линейной фазы роста свидетельствует о смене лимитирующего фактора [Лелеков, Тренкеншу, 2007]; ограничивать рост микроводорослей могут как световые, так и минеральные условия среды. В нашем эксперименте минеральная составляющая не может быть лимитирующим фактором, так как питательная среда Тренкеншу, на которой выращивали *T. viridis*, рассчитана на достижение плотности культуры 4–6 г $СМ$ с литра [Тренкеншу и др., 1981]. Таким образом, мы можем предположить, что рост культуры был ограничен световыми условиями.

Полученные характеристики сравнили с результатами, представленными в [Жондарева, Тренкеншу, 2019]. В этой работе линейная фаза роста *T. viridis* была в два раза короче, чем по нашим данным, и была отмечена только с 1-х по 5-е сутки. С 6-х суток рост микроводорослей прекращается, в то время как в нашем эксперименте выделен участок линейной фазы роста с 5-х по 10-е сутки, на котором максимальная продуктивность составила 3,3 г $СМ \cdot м^{-2}$. Таким образом, мы получили урожай микроводорослей, равный 43,4 г $СМ \cdot м^{-2}$, и данное значение в 2 раза выше, чем в [Жондарева, Тренкеншу, 2019]. Это можно объяснить созданием оптимальных условий

для выращивания *T. viridis* — наличием системы охлаждения, повышением уровня солёности культуральной среды до средиземноморского, слоем микроводорослей в бассейне 7 см, эффективной системой перемешивания. Аналогичную картину наблюдали для динамики концентрации клеток *T. viridis* в культуре (рис. 2Б).

Установлено, что линейный рост культуры происходит с 3-х по 10-е сутки эксперимента, со сменой угла наклона кривой на 6-е сутки, что подтверждает теорию о начале лимитирования роста микроводорослей по углероду или световым условиям. Продуктивность *T. viridis* на первом участке линейной фазы роста составила 650 тыс. кл.·сут⁻¹, на втором участке (6–10-е сутки) — 280 тыс. кл.·сут⁻¹. За время эксперимента концентрация клеток практически достигла значения 4 млн кл.·мл⁻¹. На рис. 3 представлен внешний вид бассейна в момент запуска и в конце эксперимента (через 12 сут).



Рис. 3. Бассейн с культурой *Tetraselmis viridis* в начале эксперимента (слева) и в конце (справа)

Fig. 3. The pool with *Tetraselmis viridis* culture at the beginning of the experiment (left) and at the end (right)

Показано, что при использовании элементарного оборудования и минимальных капиталовложениях возможна организация процесса культивирования *T. viridis* с производительностью до $5,7$ г СМ·м⁻²·сут⁻¹. При запуске процесса выращивания микроводорослей в больших объёмах в условиях естественного освещения показатели продуктивности далеки от теоретического максимума; также они могут отличаться от характеристик, определённых в лабораторных условиях [Béchet et al., 2017; Bonnefond et al., 2016].

Данные по биохимическому составу и кинетическим характеристикам *T. viridis*, полученные при выращивании в лабораторном культиваторе при круглосуточном освещении и в бассейне при естественном освещении, приведены в табл. 1.

В обоих случаях культуру выращивали на одной и той же питательной среде и без использования дополнительных источников углерода. Отбор проб для анализа осуществляли в одно и то же время. На рис. 4 представлен внешний вид лабораторных культиваторов в начале эксперимента и на 12-е сутки.

Для оценки биологической ценности полученного урожая микроводорослей и быстрого расчёта концентраций пигментов в культуре использовали модели нативных форм хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и суммарных каротиноидов [Чернышев и др., 2020]. Полученные результаты по химическому составу *T. viridis* при выращивании в лабораторных условиях хорошо согласуются с данными [Харчук, Береговая, 2019].

Таблица 1. Биохимический состав и кинетические характеристики роста микроводоросли *Tetraselmis viridis* (конец линейной фазы роста)

Table 1. Biochemical composition and kinetic characteristics of the microalga *Tetraselmis viridis* growth (the end of the linear growth phase)

Параметр	<i>Tetraselmis viridis</i> в лабораторном культиваторе	<i>Tetraselmis viridis</i> в бассейне
Хлорофилл <i>a</i> , %	1,05 ± 0,05	1,01 ± 0,01
Хлорофилл <i>b</i> , %	0,58 ± 0,07	0,52 ± 0,01
Суммарные каротиноиды, %	0,23 ± 0,01	0,21 ± 0,004
Максимальная плотность, г СМ·л ⁻¹	1,00 ± 0,05	0,62 ± 0,03
Максимальная продуктивность, г СМ·л ⁻¹ ·сут ⁻¹ ($R^2 = 0,99$)	0,122	0,08

Значительных отличий в биохимическом составе микроводорослей в зависимости от условий выращивания обнаружено не было. При этом отмечена тенденция к снижению концентрации биохимических компонентов в клетках *T. viridis* при выращивании в бассейне при естественном освещении. Это можно объяснить сменой физико-химических параметров, отсутствием возможности соблюдения стерильных условий выращивания из-за больших объёмов бассейнов, а также суточными изменениями освещённости, сопровождающимися потерями части биомассы микроводорослей в темновой период [Авсиян, 2018; Bonnefond et al., 2016; Xu et al., 2016].

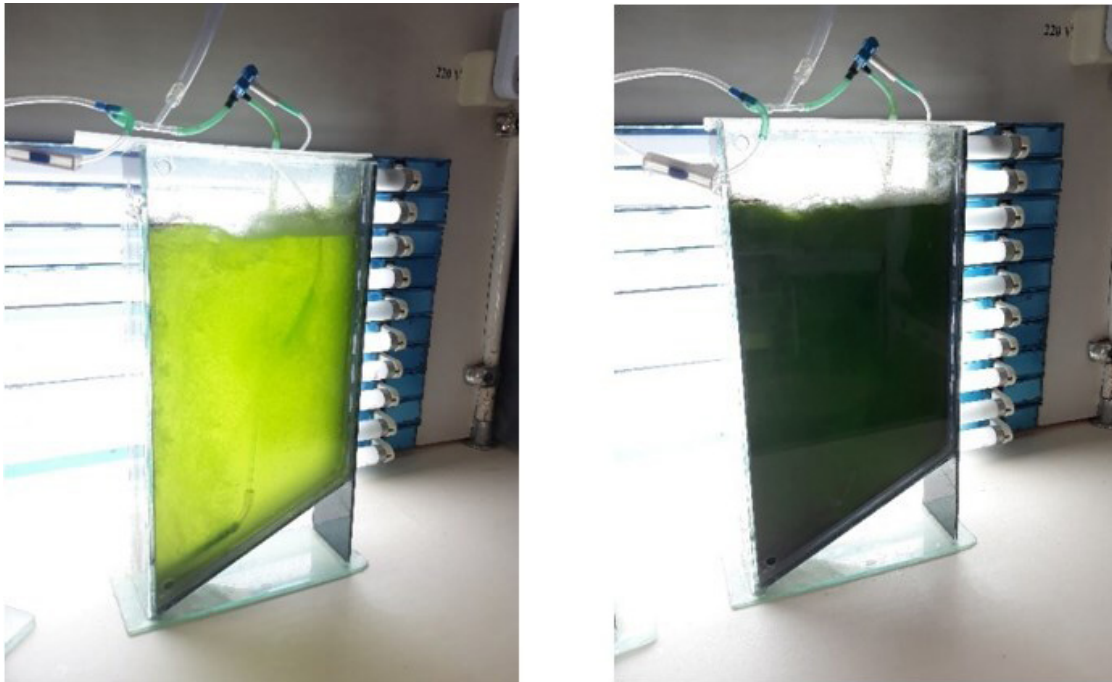


Рис. 4. Фото лабораторного культиватора с микроводорослью *Tetraselmis viridis* в начале эксперимента (слева) и на 12-е сутки (справа)

Fig. 4. Photo of the laboratory photobioreactor with the microalga *Tetraselmis viridis* at the beginning of the experiment (left) and after 12 days (right)

Вывод. Разработана мобильная установка для культивирования морских микроводорослей. Исследованы их ростовые характеристики в условиях естественного освещения. Данную установку предлагается использовать при переходе от лабораторных масштабов культивирования морских микроводорослей к промышленным. Экспериментально показано, что минимизация капиталовложений обеспечивается: наличием элементарного оборудования и системы охлаждения, повышением солёности культуральной среды до средиземноморского уровня, выбором оптимального слоя микроводорослей в бассейне, отсутствием дополнительных источников углерода, наличием эффективной системы перемешивания, а также энергии солнца в качестве источника освещения. Предложенный подход позволяет обеспечить культивирование *Tetraselmis viridis* с максимальной производительностью $5,7 \text{ г} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{сут}^{-1}$ и плотностью культуры $271,6 \text{ млрд кл.} \cdot \text{м}^{-2}$. Установлено отсутствие значимых отличий биохимических и кинетических характеристик роста *T. viridis* при выращивании в мобильной установке в условиях естественного освещения и в лабораторных культиваторах при постоянном искусственном освещении.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Абдулагатов И. М., Алхасов А. Б., Догеев Г. Д., Тумалаев Н. Р., Алиев Р. М., Бадавов Г. Б., Алиев А. М., Салихова А. С. Микроводоросли и их технологические применения в энергетике и защите окружающей среды // *Юг России: экология, развитие*. 2018. Т. 13, № 1. С. 166–183. [Abdulagatov I. M., Alkhasov A. B., Dogeev G. D., Tumalaev N. R., Aliev R. M., Badavov G. B., Aliev A. M., Salikhova A. S. Technological application of microalgae in power industry and environmental protection. *Yug Rossii: ekologiya, razvitiye*, 2018, vol. 1, no. 13, pp. 166–183. (in Russ.). <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2018-1-166-183>
2. Авсиян А. Л. Влияние суточного светового режима на продуктивность культуры *Arthrospira platensis* Gomont // *Вопросы современной альгологии*. 2018. № 3 (18). [Avsiyan A. L. Influence of diurnal light regimen on *Arthrospira platensis* Gomont culture productivity. *Voprosy sovremennoi algologii*, 2018, no. 3 (18). (in Russ.). <http://algology.ru/1374>
3. Боровков А. Б., Геворгиз Р. Г. Продуктивность *Spirulina platensis* и *Tetraselmis viridis* при использовании различных методов культивирования // *Экология моря*. 2005. Вып. 70. С. 9–13. [Borovkov A. B., Gevorgiz R. G. Production of *Spirulina platensis* and *Tetraselmis viridis* by different methods of cultivation. *Ekologiya morya*, 2005, iss. 70, pp. 9–13. (in Russ.). <https://repository.marine-research.ru/handle/299011/4698>
4. Горбунова С. Ю., Тренкеншу Р. П. Опыт получения альгологически чистой культуры *Tetraselmis viridis* Rouch. в нестерильных условиях // *Вопросы современной альгологии*. 2020. № 1 (22). С. 94–100. [Gorbunova S. Yu., Trenkenshu R. P. Experiment on obtaining an algologically pure culture of *Tetraselmis viridis* in non-sterile conditions. *Voprosy sovremennoi algologii*, 2020, no. 1 (22), pp. 94–100. (in Russ.). [https://doi.org/10.33624/2311-0147-2020-1\(22\)-94-100](https://doi.org/10.33624/2311-0147-2020-1(22)-94-100)
5. Гудвиллович И. Н., Боровков А. Б. Биологическая ценность БАД на основе спирулины // *Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада*. 2012. Вып. 105. С. 130–133. [Gudvilovich I. N., Borovkov A. B. Biological value of BAS on the base of *Spirulina* supplements. *Byulleten' Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada*, 2012, iss. 105, pp. 130–133. (in Russ.)]
6. Жондарева Я. Д., Тренкеншу Р. П. Рост *Tetraselmis viridis* (Rouchi) (Jajnen) R. E. Norris, Hori et Chihara, 1980 в тепличном бассейне при естественном освещении и аэрации воздухом // *Вопросы современной альгологии*. 2019. № 3 (21). С. 76–87. [Zhondareva Ya. D.,

- Trenkenshu R. P. Growth of *Tetraselmis viridis* (Rouchijajnen) R. E. Norris, Hori & Chihara, 1980 in the greenhouse pool under natural light and aeration. *Voprosy sovremennoi algologii*, 2019, no. 3 (21), pp. 76–87. (in Russ.). [https://doi.org/10.33624/2311-0147-2019-3\(21\)-76-87](https://doi.org/10.33624/2311-0147-2019-3(21)-76-87)
7. Копытов Ю. П., Лелеков А. С., Геворгиз Р. Г., Нехорошев М. В., Новикова Т. М. Методика комплексного определения биохимического состава микроводорослей // *Альгология*. 2015. Т. 25, № 1. С. 35–40. [Kopytov Yu. P., Lelekov A. S., Gevorgiz R. G., Nekhoroshev M. V., Novikova T. M. Method of complex analysis of biochemical composition of microalgae. *Al'gologiya*, 2015, vol. 25, no. 1, pp. 35–40. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v17.i4.70>
 8. Лелеков А. С., Тренкеншу Р. П. Простейшие модели роста микроводорослей. 4. Экспоненциальная и линейная фазы роста // *Экология моря*. 2007. Вып. 74. С. 47–49. [Lelekov A. S., Trenkenshu R. P. Simplest models of microalgae growth. 4. Exponential and linear growth phases of microalgae culture. *Ekologiya morya*, 2007, iss. 74, pp. 47–49. (in Russ.)]. <https://repository.marine-research.ru/handle/299011/4780>
 9. Тренкеншу Р. П., Терсков И. А., Сидько Ф. Я. Плотные культуры морских микроводорослей // *Известия Сибирского отделения Академии наук СССР. Серия биологических наук*. 1981. № 15, вып. 3. С. 75–82. [Trenkenshu R. P., Terskov I. A., Sidko F. Ya. Plotnye kul'tury morskikh mikrovodoroslei. *Izvestiya Sibirskogo otdeleniya Akademii nauk SSSR. Seriya biologicheskikh nauk*, 1981, no. 15, iss. 3, pp. 75–82. (in Russ.)]
 10. Тренкеншу Р. П. Простейшие модели роста микроводорослей. 1. Периодическая культура // *Экология моря*. 2005. Вып. 67. С. 89–97. [Trenkenshu R. P. Simplest models of microalgae growth. 1. Batch culture. *Ekologiya morya*, 2005, iss. 67, pp. 89–97. (in Russ.)]. <https://repository.marine-research.ru/handle/299011/4658>
 11. Харчук И. А., Береговая Н. М. Содержание биохимических компонентов в морской микроводоросли *Tetraselmis viridis* при длительном хранении в состоянии холодого анабиоза // *Вопросы современной альгологии*. 2019. № 1 (19). С. 88–95. [Kharchuk I. A., Beregovaya N. M. The content of biochemical components in the marine microalgae *Tetraselmis viridis* during long-term storage in a state of cold hibernation. *Voprosy sovremennoi algologii*, 2019, no. 1 (19), pp. 88–95. (in Russ.)]. [https://doi.org/10.33624/2311-0147-2019-1\(19\)-88-95](https://doi.org/10.33624/2311-0147-2019-1(19)-88-95)
 12. Чекушкин А. А., Лелеков А. С., Геворгиз Р. Г. Сезонная динамика предельной продуктивности в горизонтальном фотобиореакторе // *Актуальные вопросы биологической физики и химии*. 2020. Т. 5, № 3. С. 405–411. [Chekushkin A. A., Lelekov A. S., Gevorgiz R. G. Seasonal dynamics of limit productivity in a horizontal photobioreactor. *Aktual'nye voprosy biologicheskoi fiziki i khimii*, 2020, vol. 5, no. 3, pp. 405–411. (in Russ.)]
 13. Чернышев Д. Н., Горбунова С. Ю., Тренкеншу Р. П. Разделение спектров поглощения культуры и ацетонового экстракта микроводоросли *Tetraselmis viridis* на спектры отдельных пигментов // *Актуальные вопросы биологической физики и химии*. 2020. Т. 5, № 2. С. 232–238. [Chernyshev D. N., Gorbunova S. Yu., Trenkenshu R. P. Decomposition of cultural absorption spectra and the acetone extract of microalgae *Tetraselmis viridis* into spectrum of individual pigments. *Aktual'nye voprosy biologicheskoi fiziki i khimii*, 2020, vol. 5, no. 2, pp. 232–238. (in Russ.)]
 14. Béchet Q., Moussion P., Bernard O. Calibration of a productivity model for the microalgae *Dunaliella salina* accounting for light and temperature. *Algal Research*, 2017, vol. 21, pp. 156–160. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.001>
 15. Benemann J. R. Microalgae aquaculture feeds. *Journal of Applied Phycology*, 1992, vol. 4, iss. 3, pp. 233–245. <https://doi.org/10.1007/BF02161209>
 16. Bonnefond H., Moelants N., Talec A., Bernard O., Sciandra A. Concomitant effects of light and temperature diel variations on the growth rate and lipid production of *Dunaliella salina*. *Algal Research*, 2016, vol. 14, pp. 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.12.018>
 17. Borovkov A. B., Gudvilovich I. N., Avsiyan A. L. Scale-up of *Dunaliella salina* cultivation: From strain selection to open ponds. *Journal*

- of *Applied Phycology*, 2020, vol. 32, iss. 3, pp. 1545–1558. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02104-5>
18. Chaumont D. Biotechnology of algal biomass production: A review of systems for outdoor mass culture. *Journal of Applied Phycology*, 1993, vol. 5, iss. 6, pp. 593–604. <https://doi.org/10.1007/BF02184638>
19. de la Noüe J., Laliberté G., Proulx D. Algae and waste water. *Journal of Applied Phycology*, 1992, vol. 4, iss. 3, pp. 247–254. <https://doi.org/10.1007/BF02161210>
20. Demmig-Adams B., Adams W. Antioxidants in photosynthesis and human nutrition. *Science*, 2002, vol. 298, no. 5601, pp. 2149–2153. <https://doi.org/10.1126/science.1078002>
21. Dobrojan S. Obținerea substanțelor biologice active din biomasa microalgei *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl crescută pe ape reziduale. *Mediul Ambient [Scientific Journal of Information and Ecological Culture]*, 2010, no. 2 (50), pp. 24–28. (in Moldavian).
22. Markou G. Fed-batch cultivation of *Arthrospira* and *Chlorella* in ammonia-rich wastewater: Optimization of nutrient removal and biomass production. *Bioresource Technology*, 2015, vol. 193, pp. 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.071>
23. Peel M. C., Finlayson B., McMahon T. A. Updated world map of the Köppen–Geiger climate classification. *Hydrology and Earth System Sciences*, 2007, vol. 11, iss. 5, pp. 1633–1644. <https://doi.org/10.5194/hess-11-1633-2007>
24. Wellburn R. W. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, 1994, vol. 144, iss. 3, pp. 307–313. [http://dx.doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)
25. 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, pp. 305–315. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.05.021>

TECHNOLOGY OF CULTIVATION OF THE MARINE MICROALGA *TETRASELMIS VIRIDIS* UNDER NATURAL LIGHT AND AT MINIMUM TECHNICAL COST

S. Yu. Gorbunova¹ and A. A. Chekushkin

¹A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation
E-mail: svetlana_8423@mail.ru

The main reason for slow implementation of scientific developments of marine algotechnology into industrial practice is the lack of systems that allow obtaining microalgae biomass in quantities that are necessary for practical study of potential products and development of industrial technology for their production. Such systems can significantly reduce the economic cost of creating and maintaining favorable abiotic conditions for growing microalgae on an industrial scale, since solar energy is used as a light source. The article proposes a method for growing marine microalgae *Tetraselmis viridis* in natural light and at minimum technical cost. The authors developed a mobile unit for cultivating marine microalgae and studying their growth characteristics in natural light. This unit is proposed to be used in the transition from laboratory cultivation to cultivation on an industrial scale. The basic requirements for the mobile unit for industrial cultivation of algologically pure *T. viridis* are specified. The technology ensuring the organization of *T. viridis* cultivation process with a maximum productivity of 5.7 g·m⁻²·day⁻¹ and a maximum culture density of 271.6 billion cells·m⁻² ($R^2 = 0.99$) has been developed. The authors provide a comparative assessment of the biochemical composition and kinetic growth characteristics of *T. viridis* depending on growing conditions using either the mobile unit in natural light or the laboratory photobioreactor in constant artificial light.

Keywords: marine microalgae, *Tetraselmis viridis*, batch culture, productivity, industrial cultivation