

НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 579.8.017.6.083.134

**РОСТ КУЛЬТУР МОРСКИХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ  
*PORPHYRIDIUM PURPUREUM* И *TETRASELMIS VIRIDIS*  
НА МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ**

© 2024 г. А. Б. Боровков, И. Н. Гудвиллович, Я. Д. Жондарева

ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,

Севастополь, Российская Федерация

E-mail: [gudirina2008@yandex.ru](mailto:gudirina2008@yandex.ru)

Поступила в редакцию 23.01.2024; после доработки 19.02.2024;  
принята к публикации 27.08.2024; опубликована онлайн 09.09.2024.

Морские виды микроводорослей, которые способны синтезировать широкий спектр биологически активных веществ, в настоящее время считают наиболее перспективными источниками таких соединений. Большинство питательных сред для культивирования микроводорослей приготавливают на основе природной или искусственной морской воды. Представляется перспективной модификация питательной среды для выращивания морских микроводорослей путём замены её водной основы с природной морской воды на пресную. Альгологически чистые культуры морских микроводорослей *Porphyridium purpureum* и *Tetraselmis viridis* выращивали, заменяя стерильную морскую воду на пресную, в которую добавляли морскую соль до концентрации 18 и 28 г·л<sup>-1</sup> для *T. viridis* и *P. purpureum* соответственно. На основании полученных экспериментальных данных определены продукционные характеристики накопительных культур *P. purpureum* и *T. viridis* при их выращивании на пресной и морской водной основе питательной среды. В целом изменение плотности культур *P. purpureum* и *T. viridis* при накопительном культивировании как на пресной, так и на морской воде имело однонаправленный характер (коэффициенты корреляции в обоих случаях 0,99), а водная основа питательной среды не оказывала существенного влияния на скорость их роста. Показано, что выход биомассы *P. purpureum* и *T. viridis* при использовании пресной воды в качестве основы питательной среды составляет 3,2–3,4 г с 1 л культуры (в пересчёте на сухое вещество) и в основном соответствует аналогичному параметру культур, выращенных с применением морской воды. Несмотря на то, что средняя скорость роста *T. viridis* при выращивании на пресной воде существенно не отличалась от скорости роста культуры на морской воде, отмечены повышенные средние скорости синтеза пигментов и их суммарное накопление у культуры, выращиваемой на морской воде. Для *P. purpureum* водная основа питательной среды не оказывала заметного влияния на такие характеристики, как скорость синтеза В-фикоэритрина и содержание этого пигмента в культуре и в биомассе микроводоросли. Результаты работы показывают, что культуры морских микроводорослей *P. purpureum* и *T. viridis* можно успешно выращивать без использования природной морской воды, что существенно снижает трудозатраты и себестоимость получаемой биомассы, а также расширяет географические перспективы их массового культивирования.

**Ключевые слова:** морские микроводоросли, *Porphyridium purpureum*, *Tetraselmis viridis*, пресная вода, продуктивность, биомасса, пигменты

Морские виды микроводорослей в настоящее время считают одними из наиболее перспективных источников биологически активных веществ благодаря их способности синтезировать широкий спектр соединений, оказывающих выраженное положительное влияние на организм человека и животных [Минюк и др., 2008]. В их числе — полиненасыщенные жирные кислоты, сульфатированные полисахариды, фотосинтетические пигменты (хлорофиллы, каротиноиды и фикобилипротеины), витамины и другие вещества, обладающие противовоспалительными, противогрибковыми, иммуномодулирующими и антиоксидантными свойствами [Borowitzka, 2013; Chauton et al., 2015; Gaignard et al., 2019; Geada et al., 2021; Li S. et al., 2019]. Всё это позволяет использовать биомассу морских микроводорослей и продукты биосинтеза в качестве биологически активных добавок, а также применять их в косметологии, фармакологии и производстве продуктов питания.

Потребность в полиненасыщенных жирных кислотах возросла в связи с развитием аквакультуры; для всех водных животных основным источником полезных длинноцепочечных омега-3 жирных кислот служат микроводоросли [Borowitzka, 2013]. Также морские микроводоросли нашли применение в качестве добавки к корму для рыб как источник необходимых аминокислот, жирных кислот, полисахаридов, антиоксидантов, витаминов и минералов: эти соединения стимулируют рост и выживаемость личинок рыб, а также повышают качество конечной продукции [Chauton et al., 2015; Gargouch et al., 2018; Ma, Hu, 2024; Tredici et al., 2009].

Выращивание морских микроводорослей в прибрежных зонах, как правило, менее затратно из-за меньших инвестиционных, логистических и эксплуатационных расходов. Однако существование ряда ограничений из-за конкуренции с зонами рекреации, рыболовства и рыбоводства, а также развитие городов вынуждают переносить комплексы по выращиванию морских водорослей в отдалённые от берега районы.

Большинство питательных сред для выращивания микроводорослей приготавливают на основе природной или искусственной морской воды. Описаны различные питательные среды для выращивания морских водорослей: F/2, Artificial Seawater Medium, Pm и другие [Fuentes-Grunewald et al., 2015; Gargouch et al., 2018; Kathiresan et al., 2006; Lelekov et al., 2016; Raes et al., 2013; Strizh et al., 2004]. Состав этих сред позволяет поддерживать клетки микроводорослей в вегетативном состоянии. Тем не менее скорость роста культуры и выход биомассы могут значительно отличаться из-за различной стартовой концентрации элементов минерального питания и условий выращивания культуры.

Культивирование морских микроводорослей становится невыгодным вдали от береговой линии в случае использования питательных сред на основе природной морской воды. Её минеральный состав уникален, его невозможно полностью воспроизвести в искусственных условиях: кроме минеральных солей и микроэлементов, в морской воде содержится большое количество свободных ионов. Одним из путей снижения себестоимости получаемой биомассы микроводорослей является их культивирование с использованием питательных сред на основе искусственной морской воды, однако это предполагает дополнительные материальные затраты и трудозатраты на её приготовление. Замена основы питательной среды на пресную воду с добавлением природной морской соли позволяет получить основу, близкую по своим характеристикам к натуральной морской воде. Такая модификация исключает зависимость от природного источника морской воды и снижает себестоимость получаемой биомассы, что является определяющим фактором для повышения эффективности и для территориального расширения интенсивного культивирования микроводорослей.

Красная микроводоросль *Porphyridium purpureum* (Bory) K. M. Drew & R. Ross, 1965 представляет интерес как источник сульфатированных экзополисахаридов, эссенциальных жирных кислот и пигментов, относящихся к группе фикобилипротеинов, биотехнологический

потенциал которых используется в нутрицевтике, фармацевтике, пищевой и косметической промышленности, а также в биомедицинских исследованиях и клинической диагностике [Gaignard et al., 2019; Li S. et al., 2019; Manirafasha et al., 2016]. Зелёная микроводоросль *Tetraselmis viridis* (Rouchijajnen) R. E. Norris, Hori & Chihara, 1980 является одним из видов, способных накапливать значительные количества полиненасыщенных жирных кислот, которые играют важнейшую роль в организме человека, участвуя в обменных процессах. Высокая продуктивность и питательная ценность делают её перспективной для производства биологически активных веществ, а также пищевых добавок для людей и животных [Borowitzka, 2013; Raes et al., 2013]. Микроводоросли рода *Tetraselmis* нашли широкое применение в аквакультуре как высокоценные корма, обогащённые полиненасыщенными жирными кислотами и белком [Borowitzka, 2013; Ma, Hu, 2024; Tredici et al., 2009], причём значительные концентрации липидов (до 22 %) могут накапливаться у этих видов даже при относительно высоком уровне белка (31–36 %) [Barka, Blecker, 2016].

В связи с этим может быть перспективным выращивание данных биотехнологически ценных видов морских микроводорослей на модифицированной питательной среде путём замены её водной основы с природной морской воды на пресную с добавлением морской соли. Поэтому целью настоящей работы являлась апробация культивирования морских микроводорослей *Tetraselmis viridis* и *Porphyridium purpureum* на модифицированной питательной среде на основе пресной воды.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись альгологически чистые культуры морских микроводорослей *P. purpureum* (Rhodophyta) и *T. viridis* (Chlorophyta) из ЦКП «Коллекция гидробионтов Мирового океана» ФИЦ ИнБЮМ.

Выращивание осуществляли на питательных средах следующего состава [Тренкеншу и др., 1981]:

- Для *P. purpureum*:  $\text{NaNO}_3$  — 1,2 г·л<sup>-1</sup>;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  — 0,45 г·л<sup>-1</sup>; EDTA- $\text{Na}_2$  — 0,037 г·л<sup>-1</sup>;  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O}$  — 0,0265 г·л<sup>-1</sup>;  $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  — 0,004 г·л<sup>-1</sup>;  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  — 0,0031 г·л<sup>-1</sup>;  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$  — 0,0009 г·л<sup>-1</sup>;  $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  — 0,0017 г·л<sup>-1</sup>.
- Для *T. viridis*:  $\text{NaNO}_3$  — 1,8 г·л<sup>-1</sup>;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  — 0,3 г·л<sup>-1</sup>; EDTA- $\text{Na}_2$  — 0,037 г·л<sup>-1</sup>;  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O}$  — 0,042 г·л<sup>-1</sup>;  $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  — 0,008 г·л<sup>-1</sup>;  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  — 0,00625 г·л<sup>-1</sup>;  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$  — 0,00183 г·л<sup>-1</sup>;  $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  — 0,00238 г·л<sup>-1</sup>.

Питательную среду для каждого вида готовили на стерильной черноморской воде (для *P. purpureum* дополнительно вносили 10 г·л<sup>-1</sup> морской соли). При её модификации морскую воду заменяли на пресную, в которую добавляли морскую соль (производитель ПК «Галит») до концентрации 18 и 28 г·л<sup>-1</sup> для *T. viridis* и *P. purpureum* соответственно.

Культуры микроводорослей выращивали в стеклянных фотобиореакторах плоскопараллельного типа размерами 25 × 50 см. Рабочая толщина — 2 и 5 см, объём — 1 и 3 л для *T. viridis* и *P. purpureum* соответственно. Объём поддерживали на протяжении всего эксперимента, ежедневно доливая перед отбором проб дистиллированную воду, чтобы компенсировать испарение. В качестве осветителя использовали световую решётку из 18-ваттных люминесцентных ламп; средняя интенсивность освещения на поверхности фотобиореакторов составляла 20 и 40 Вт·м<sup>-2</sup> для *P. purpureum* и *T. viridis* соответственно. Интенсивность освещения на поверхности фотобиореакторов регистрировали при помощи измерителя LI-250A с пиранометрическим датчиком (LI-COR, США). Температуру поддерживали на уровне +26...+28 °C; pH среды в процессе культивирования изменялся от 8 до 10. Барботаж культур осуществляли воздухом с помощью компрессора Hailea ACO-308; скорость подачи воздуха составляла около 0,5 л·л<sup>-1</sup> культуры в минуту. Для повышения растворимости углекислого газа атмосферного воздуха барботаж

осуществляли через распылитель, представляющий собой пластиковую трубку длиной 5 см и диаметром 5 мм, у которой диаметр пор не превышал 0,1 мм. Продолжительность эксперимента — 18 и 10 сут для *P. purpureum* и *T. viridis* соответственно.

Оптическую плотность культур ( $D_{750}$ ) измеряли на фотометре Unicо 2100 в кюветах с рабочей длиной 5 мм на длине волны 750 нм. Содержание сухого вещества (СВ) в культурах определяли фотометрическим методом [Методы физиолого-биохимического исследования водорослей, 1975] с использованием уравнения  $СВ = k \times D_{750}$ , предварительно определив эмпирические коэффициенты перехода от оптической плотности культур к сухому веществу (1,4 и 0,8 для *P. purpureum* и *T. viridis* соответственно) [Боровков, Геворгиз, 2005; Borovkov et al., 2023].

Максимальную продуктивность ( $P_m$ ) рассчитывали аппроксимацией эмпирических данных линейной фазы накопительной кривой микроводорослей, используя уравнение (1):

$$B = B_l + P_m \cdot t, \quad (1)$$

где  $B_l$  — плотность культуры в начале линейной фазы роста, г·л<sup>-1</sup>;

$t$  — время, сутки.

Содержание пигментов устанавливали спектрофотометрическим методом. Пробы для определения концентрации пигментов отбирали на различных фазах роста накопительной культуры после тщательного перемешивания. Суспензию центрифугировали в течение 10 мин, надосадочную жидкость сливали, осаждённую биомассу использовали для определения пигментов. Спектры экстрактов пигментов измеряли на спектрофотометре СФ-2000 (Россия). Для количественного определения В-фикоэритрина (далее — В-ФЭ) проводили экстракцию биомассы *P. purpureum* фосфатным буфером (0,05 М; рН 7–7,5). Оптическую плотность полученных экстрактов регистрировали в области характеристических максимумов поглощения В-ФЭ (545 нм), R-фикоцианина (615 нм) и аллофикоцианина (650 нм), а также при 750 нм (для учёта неспецифического поглощения раствора). Концентрацию В-ФЭ в водном экстракте рассчитывали по [Стадничук, 1990], используя значения оптической плотности для соответствующих длин волн:

$$B\text{-}\Phi\text{Э} = 0,1 \times D_{545} - 0,063 \times D_{615} + 0,023 \times D_{650}. \quad (2)$$

Хлорофиллы и каротиноиды экстрагировали из клеток 100%-ным ацетоном. Расчёт концентраций хлорофиллов и общих каротиноидов проводили по формулам, предложенным [Wellburn, 1994], по значениям оптической плотности на длинах волн, которые соответствуют максимумам поглощения аналогичных пигментов:

$$\text{Chl } a = 11,75 \times D_{662} - 2,35 \times D_{645};$$

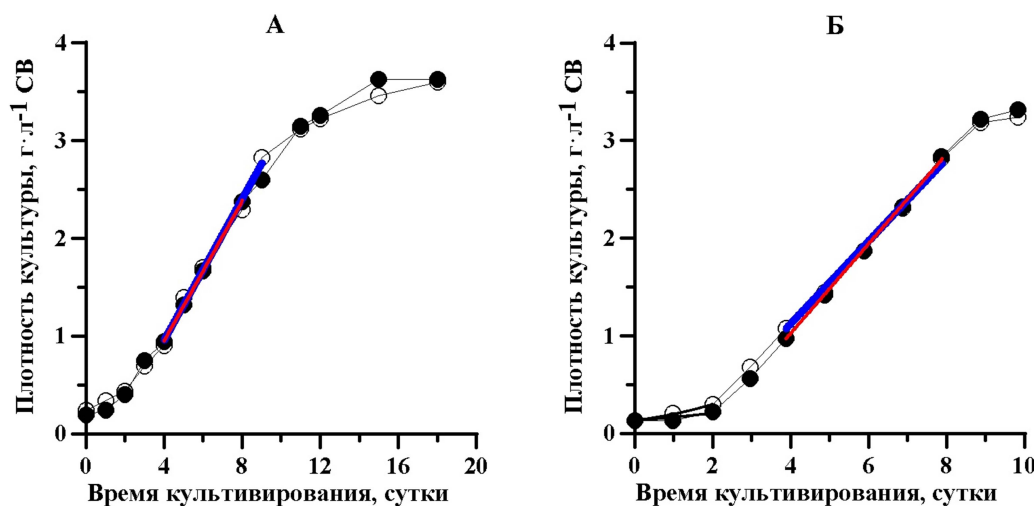
$$\text{Chl } b = 18,61 \times D_{645} - 3,96 \times D_{662};$$

$$\text{Carotenoids} = (1000 \times D_{470} - 2,27 \times \text{Chl } a - 81,4 \times \text{Chl } b) / 227.$$

Рассчитывали средние арифметические ( $\bar{x}$ ), стандартные отклонения ( $S$ ), основные ошибки средних и доверительные интервалы для средних ( $\Delta\bar{x}$ ). Все вычисления проводили в программах LibreOffice и SciDAVis для уровня значимости  $\alpha = 0,05$ . Во избежание загромождения графиков статистические показатели, характеризующие вариабельность исследуемых признаков, опускали без ущерба для восприятия результатов работы. В таблицах представлены средние значения и рассчитанные доверительные интервалы ( $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$ ) для трёх повторов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Первоначальная плотность культуры для каждого из двух вариантов (основой питательной среды была морская и пресная вода) у *P. purpureum* составляла около  $0,2 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$ , а у *T. viridis* —  $0,13 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$ . За весь период культивирования биомасса *P. purpureum* по сравнению с первоначальной увеличилась более чем в 15 раз, а *T. viridis* — в 25 раз (рис. 1).



**Рис. 1.** Динамика плотности накопительной культуры *Porphyridium purpureum* (А) и *Tetraselmis viridis* (Б) при выращивании на питательной среде: ● — на основе пресной воды; ○ — на основе морской воды. Сплошные линии — аппроксимация линейной фазы уравнением (1) (красные — основой является пресная вода; синие — морская вода). Значения коэффициентов (максимальной продуктивности) приведены в табл. 1

**Fig. 1.** Dynamics of *Porphyridium purpureum* (А) and *Tetraselmis viridis* (Б) batch culture density when grown on a nutrient medium: ●, based on freshwater; ○, based on seawater. Solid lines are an approximation of the linear phase by equation (1) (red, based on freshwater; blue, based on seawater). The values of the coefficients (maximum productivity) are given in Table 1

При накопительном режиме выращивания поддержание клеток культур водорослей в вегетативном состоянии обеспечивается за счёт первоначального запаса элементов минерального питания, при этом плотность культур постепенно увеличивается и достигает максимального значения, что определяет общий выход биомассы микроводорослей. На протяжении всего периода выращивания *P. purpureum* и *T. viridis* характер изменения накопительных кривых культур на морской и пресной воде был почти идентичен и отличался высокой корреляцией (коэффициент корреляции равен 0,99 как для *P. purpureum*, так и для *T. viridis*). Суммарный прирост биомассы у вариантов эксперимента также не имел существенных отличий (рис. 1). На основании полученных данных определены продукционные характеристики накопительных культур *P. purpureum* и *T. viridis* по биомассе на пресной и морской водной основе питательной среды (табл. 1).

Питательные среды, которые были использованы для выращивания *P. purpureum* и *T. viridis*, рассчитаны на получение около 4 г биомассы с 1 л культуры [Тренкеншу и др., 1981; Упитис и др., 1989]. Расчётный прирост биомассы культур за весь период выращивания, с учётом концентрации азота в среде и разбавления, мог составлять около  $3\text{--}3,5 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$ , что соответствовало данным, полученным в эксперименте (табл. 1).

Продуктивность *P. purpureum* и *T. viridis* по биомассе на линейной стадии роста при их выращивании на пресной воде существенно не отличалась от продуктивности соответствующих культур на морской воде. Как максимальная, так и средняя скорость роста у *T. viridis* несколько выше, чем у *P. purpureum*, что объясняется, по-видимому, индивидуальными особенностями культуры. Однако удельная скорость роста *T. viridis* при выращивании на пресной воде ниже

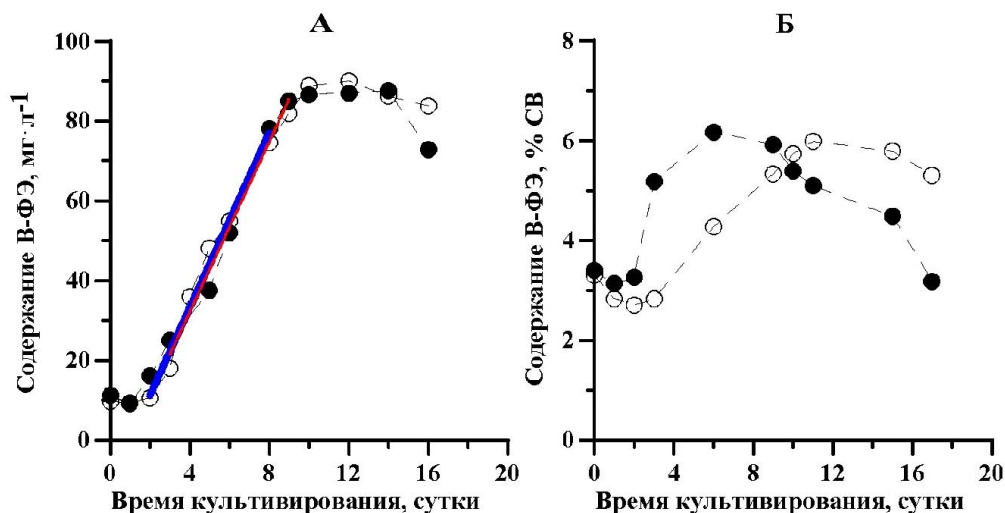
почти в 2 раза, чем аналогичный параметр роста культуры на морской воде (табл. 1). Поскольку культуру *T. viridis* предварительно выращивали на среде без модификации, можно предположить, что в течение первых двух суток клетки водоросли адаптировались к новым условиям; это подтверждается некоторыми отличиями формы накопительной кривой (рис. 1Б). В целом изменение плотности культур *P. purpureum* и *T. viridis* при накопительном культивировании как на пресной, так и на морской воде имело однонаправленный характер, а на продуктивность культур водная основа питательной среды не оказывала существенного влияния.

**Таблица 1.** Продукционные характеристики накопительных культур *Porphyridium purpureum* и *Tetraselmis viridis* при их выращивании на питательной среде на основе пресной и морской воды

**Table 1.** Production characteristics of *Porphyridium purpureum* and *Tetraselmis viridis* batch cultures when grown on freshwater-based and seawater-based nutrient media

Культура	Водная основа питательной среды	Удельная скорость роста, сут <sup>-1</sup>	Максимальная продуктивность, г·л <sup>-1</sup> ·сут <sup>-1</sup>	Продуктивность на линейной стадии роста, г·л <sup>-1</sup> ·сут <sup>-1</sup>	Общий прирост биомассы, г·л <sup>-1</sup>
<i>Porphyridium purpureum</i>	Пресная	0,45	0,36	0,27 ± 0,02	3,44 ± 0,23
	Морская	0,35	0,36	0,29 ± 0,01	3,36 ± 0,02
<i>Tetraselmis viridis</i>	Пресная	0,23	0,46	0,43 ± 0,01	3,19 ± 0,02
	Морская	0,42	0,46	0,42 ± 0,006	3,11 ± 0,01

При накопительном выращивании биохимический состав получаемой биомассы микроводорослей определяется многими параметрами, важнейшими из которых являются концентрация элементов минерального питания и условия культивирования. Поэтому также исследовано влияние замены водной основы питательной среды на пресную воду на скорость синтеза и суммарное накопление пигментов в культурах *P. purpureum* и *T. viridis*. Рост *P. purpureum* в этих условиях сопровождался изменением содержания В-ФЭ как в культуре, так и в её клетках (рис. 2).



**Рис. 2.** Содержание В-фикоэритрина (В-ФЭ) в накопительной культуре (А) и в клетках (Б) *Porphyridium purpureum* при выращивании на питательной среде: ● — на основе пресной воды; ○ — на основе морской воды. Сплошные линии — аппроксимация линейной фазы (красная — основой является пресная вода; синяя — морская вода). Значения коэффициентов (максимальной скорости синтеза) приведены в табл. 2

**Fig. 2.** B-phycoerythrin (B-ФЭ) content in a batch culture (А) and in cells (Б) of *Porphyridium purpureum* when grown on a nutrient medium: ●, based on freshwater; ○, based on seawater. Solid lines are an approximation of the linear phase (red, based on freshwater; blue, based on seawater). The values of the coefficients (maximum synthesis rate) are given in Table 2

Содержание пигмента В-ФЭ в процессе культивирования *P. purpureum* как на пресной, так и на морской воде постепенно увеличивалось (в 9,2–9,5 раза) и достигало максимальных значений в культуре ( $88\text{--}90\text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ ) на 10–14-е сутки от начала эксперимента (рис. 2А). Изменение концентрации В-ФЭ в культуре имело однонаправленный характер для двух вариантов среды, а коэффициент корреляции был равен 0,98. Увеличение содержания В-ФЭ в клетках *P. purpureum* менее выражено: за семь суток оно составило около 2 раз, достигнув в среднем 6 % сухого вещества для каждого из вариантов (рис. 2Б). Уменьшение концентрации В-ФЭ в клетках *P. purpureum* во второй половине накопительного культивирования, зафиксированное в проведённом эксперименте, отмечено многими исследователями и объясняется прямой зависимостью концентрации этого пигмента от содержания азота в среде, которое может снижаться до минимальных значений к конечному этапу выращивания [Fuentes-Grunewald et al., 2015; Li T. et al., 2019]. Данные, характеризующие скорость накопления В-ФЭ в культуре водоросли при её выращивании на пресной и морской водной основе питательной среды, представлены в табл. 2.

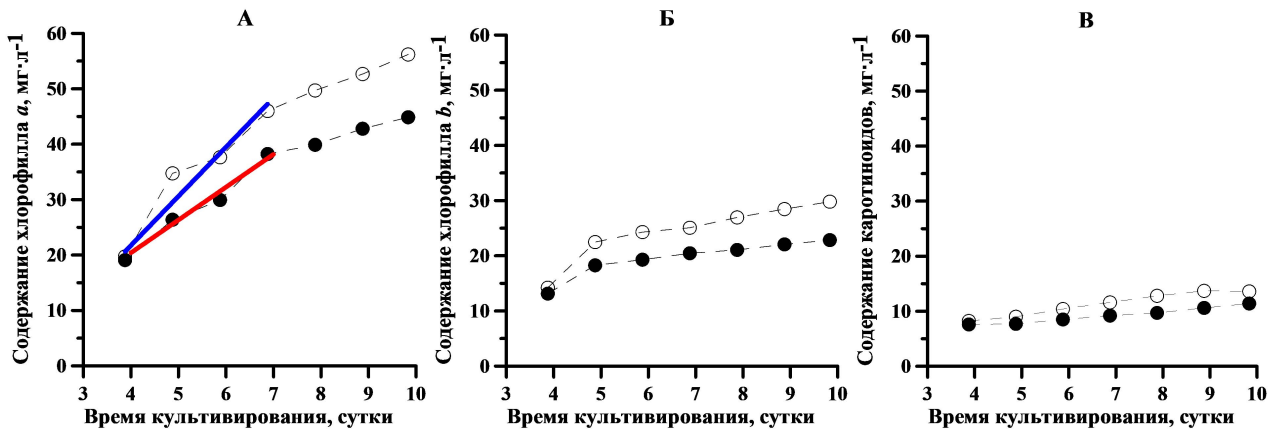
**Таблица 2.** Продукционные характеристики накопительной культуры *Porphyridium purpureum* по В-фикоэритрину (В-ФЭ) при её выращивании на питательной среде на основе пресной и морской воды

**Table 2.** В-phycoerythrin (В-ФЭ) production characteristics of *Porphyridium purpureum* batch culture when grown on freshwater-based and seawater-based nutrient media

Водная основа питательной среды	Удельная скорость синтеза (0-е – 3-и сут), $\text{сут}^{-1}$	Максимальная скорость синтеза В-ФЭ, $\text{мг}\cdot\text{л}^{-1}\cdot\text{сут}^{-1}$	Средняя скорость синтеза В-ФЭ (2–9-е сут), $\text{мг}\cdot\text{л}^{-1}\cdot\text{сут}^{-1}$	Общее накопление В-ФЭ, $\text{мг}\cdot\text{л}^{-1}$
Пресная	0,3	12,1	$9,8 \pm 1,75$	$77,9 \pm 4,7$
Морская	0,2	12,3	$10,2 \pm 2,3$	$80,5 \pm 5,4$

Результаты расчётов показали, что максимальная скорость синтеза В-ФЭ в культуре *P. purpureum* как на пресной, так и на морской воде практически одинакова. Средняя скорость синтеза В-ФЭ на линейной стадии и уровень накопления пигмента несколько выше у культуры, выращиваемой на морской воде, однако эти различия незначительны (табл. 2). Несмотря на близкие значения скорости роста культуры (табл. 1), а также наблюдаемой скорости синтеза В-ФЭ у двух вариантов эксперимента, отмечено некоторое временное несоответствие динамики содержания В-ФЭ в биомассе *P. purpureum* (рис. 2Б). Это можно объяснить существенным различием между удельными скоростями синтеза пигмента у двух вариантов в первые трое суток эксперимента. В этот период скорость синтеза пигмента у культуры, выращиваемой на пресной воде с добавлением морской соли, в 1,5 раза выше соответствующих параметров культуры на морской воде. В данном случае накопление В-ФЭ в клетках *P. purpureum* могло идти значительно быстрее не только в первые сутки, но и в следующие несколько дней.

Рост культуры *T. viridis* на среде с использованием как морской, так и пресной воды также сопровождался изменением содержания пигментов в процессе выращивания (рис. 3). Содержание хлорофилла *a* и хлорофилла *b* при культивировании *T. viridis* (с четвёртых по десятые сутки) как на пресной, так и на морской воде постепенно увеличивалось и достигало максимальных значений в культуре к окончанию эксперимента: был отмечен рост в 2,4–3 и 1,7–2,2 раза для хлорофилла *a* и хлорофилла *b* соответственно (рис. 3А, Б). Изменение концентрации этих пигментов в культуре также имело однонаправленный характер для двух вариантов среды, а коэффициент корреляции составлял 0,99. Для суммарных каротиноидов тоже отмечено увеличение концентрации пигментов в культуре, однако эти изменения выражены в меньшей степени, чем изменения содержания хлорофиллов (рис. 3В). При сопоставимой плотности культуры *T. viridis* для двух вариантов концентрация пигментов на протяжении всего периода эксперимента выше в культуре, выращиваемой на морской воде.



**Рис. 3.** Содержание хлорофилла *a* (А), хлорофилла *b* (Б) и суммарных каротиноидов (В) в накопительной культуре *Tetraselmis viridis* при выращивании на питательной среде: ● — на основе пресной воды; ○ — на основе морской воды. Сплошные линии — аппроксимация линейной фазы (красная — основой является пресная вода; синяя — морская вода). Значения коэффициентов (максимальной скорости синтеза) приведены в табл. 3

**Fig. 3.** Content of chlorophyll *a* (A), chlorophyll *b* (Б), and carotenoids (В) in *Tetraselmis viridis* batch culture when grown on a nutrient medium: ●, based on freshwater; ○, based on seawater. Solid lines are an approximation of the linear phase (red, based on freshwater; blue, based on seawater). The values of the coefficients (maximum synthesis rate) are given in Table 3

Данные, характеризующие особенности накопления пигментов в культуре *T. viridis* при выращивании с использованием пресной и морской воды, представлены в табл. 3.

**Таблица 3.** Продукционные характеристики накопительной культуры *Tetraselmis viridis* по хлорофиллу *a* и *b* (chl *a* и chl *b*) и суммарным каротиноидам (car) при её выращивании на питательной среде на основе пресной и морской воды

**Table 3.** Production characteristics of *Tetraselmis viridis* batch culture for chlorophyll *a*, chlorophyll *b* (chl *a* and chl *b*), and total carotenoids (car) when grown on freshwater-based and seawater-based nutrient media

Водная основа питательной среды	Максимальная скорость синтеза пигментов, мг·л <sup>-1</sup> ·сут <sup>-1</sup>			Скорость синтеза пигментов на линейной стадии, мг·л <sup>-1</sup> ·сут <sup>-1</sup>			Общее накопление пигментов, мг·л <sup>-1</sup>		
	chl <i>a</i>	chl <i>b</i>	car	chl <i>a</i>	chl <i>b</i>	car	chl <i>a</i>	chl <i>b</i>	car
Пресная	6,38	—	—	2,16 ± 0,53	0,96 ± 0,11	0,71 ± 0,12	25,77 ± 0,08	9,74 ± 0,62	3,44 ± 0,22
Морская	8,76	—	—	3,41 ± 0,34	1,47 ± 0,29	1,23 ± 0,21	36,46 ± 1,27	15,60 ± 1,47	5,50 ± 0,04

Максимальная и средняя скорости синтеза хлорофилла *a*, а также скорости синтеза хлорофилла *b* и суммарных каротиноидов в культуре *T. viridis* при выращивании на питательной среде с морской водой более чем в 1,5 раза выше, чем на среде с пресной водой. Такие существенные отличия привели к увеличению уровня накопления пигментов в 1,4–1,6 раза у *T. viridis*, выращиваемой на морской воде, по сравнению с культурой на пресной воде. Таким образом, хотя средняя скорость роста *T. viridis* при выращивании на пресной воде существенно не отличалась от скорости роста культуры на морской воде, более высокие скорости синтеза пигментов и их суммарное накопление отмечены у культуры, выращиваемой на морской воде.



## ОБСУЖДЕНИЕ

Морские микроводоросли традиционно выращивают на питательных средах, основой которых является морская вода [Fuentes-Grunewald et al., 2015; Kathiresan et al., 2006; Raes et al., 2013; Strizh et al., 2004]. Имеются данные по культивированию некоторых видов морских микроводорослей, при котором в качестве основы питательной среды использована пресная вода [Gargouch et al., 2018; Lelekov et al., 2016]. В частности, описано выращивание морской микроводоросли *Porphyridium marinum* на питательной среде на основе пресной воды [Gargouch et al., 2018]. Наибольшая плотность культуры составила  $(4,6 \pm 0,5) \times 10^6$  кл.·мл<sup>-1</sup>, а содержание В-ФЭ в биомассе — 15,9 мг·г<sup>-1</sup> в пересчёте на сухое вещество. Максимальное количество В-ФЭ в биомассе (41 мг·г<sup>-1</sup>) получено на втором этапе — при повышении концентрации NaNO<sub>3</sub> в 2 раза, уменьшении содержания K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> до 0 г·л<sup>-1</sup>, снижении интенсивности света в 2 раза и увеличении объёма раствора микроэлементов в 1,5 раза. Однако плотность культуры *P. marinum* и её продуктивность, а также количество В-ФЭ в биомассе (при максимальном его содержании) существенно ниже, чем таковые в проведённом эксперименте. Кроме того, использование NaCl потребовало дополнительного внесения Mg и Ca, содержащихся в морской воде, а использование двухэтапного режима культивирования существенно увеличило временной период выращивания культуры [Gargouch et al., 2018].

В нашем эксперименте при выращивании микроводорослей на средах с пресной водой выход биомассы *P. purpureum* и *T. viridis* составил более 3 г сухого вещества с 1 л культуры, а средняя скорость роста — 0,3–0,4 г·л<sup>-1</sup>·сут<sup>-1</sup>. Это сопоставимо с данными, полученными ранее при культивировании *P. purpureum* и *Dunaliella salina* (Dunal) Teodoresco, 1905 на морской воде, где средняя продуктивность культур на линейном участке роста составила 0,37 и 0,2 г·л<sup>-1</sup>·сут<sup>-1</sup> соответственно [Гудвилевич, Боровков, 2017; Gudvilovich et al., 2021], а также с результатами, представленными в работе [Li T. et al., 2019]. Данные, полученные в проведённом эксперименте, также сопоставимы с продукционными параметрами *T. viridis* при её выращивании на искусственной морской воде с концентрацией NaCl 29 г·л<sup>-1</sup>: максимальная плотность культуры к восьмым суткам составляла около  $12 \times 10^6$  кл.·мл<sup>-1</sup> [Strizh et al., 2004]. Кроме того, ранее была показана возможность культивирования диатомовой водоросли *Phaeodactylum tricorutum* Bohlin, 1897 на питательной среде на основе пресной воды с добавлением морской соли [Lelekov et al., 2016]. При этом средняя скорость роста культуры составила 0,3 г·л<sup>-1</sup>·сут<sup>-1</sup>, что также сопоставимо с результатами, полученными в нашем эксперименте. Следует отметить, что культуры *P. purpureum* и *T. viridis* выращивали без дополнительного внесения углерода; был использован апробированный ранее технологический приём распыления атмосферного воздуха [Гудвилевич, Боровков, 2017; Gudvilovich et al., 2021].

Несмотря на то, что скорость роста *T. viridis* при выращивании на пресной воде существенно не отличалась от скорости роста культуры на морской воде, у этого варианта отмечены более низкие скорости синтеза пигментов и их суммарное накопление, что может свидетельствовать о некоторой неоптимальности условий культивирования. Вероятным фактором, оказавшим негативное влияние на процессы синтеза пигментов *T. viridis* в этом случае, мог быть повышенный уровень pH. На протяжении всего периода выращивания pH у культуры на пресной воде был выше в среднем на 5 %, чем у культуры на морской. Начиная с пятых суток выращивания *T. viridis* на пресной воде, когда значения pH были близки к 10, снижение скорости синтеза и продукции пигментов составило до 30–40 % по сравнению с таковыми культуры, выращенной на морской воде. Известно, что pH среды на протяжении накопительного культивирования микроводорослей повышается, а его уровень является одним из наиболее критических условий среды при их выращивании, поскольку определяет растворимость и доступность CO<sub>2</sub> и питательных веществ, а также оказывает значительное влияние на метаболизм микроводорослей [Chen, Durbin, 1994; Kumar, Saramma, 2018; López-Elías et al., 2008; Qiu et al., 2017].

В частности, при изучении влияния pH на рост и биохимический состав *Dunaliella bardawil* и *Chlorella ellipsoidea* показано, что изменение pH смещает и направленность биосинтеза в клетках микроводорослей, таким образом влияя на биохимический состав получаемой биомассы [Khalil et al., 2010]. Обе микроводоросли росли в широком диапазоне pH (4–9 для *D. bardawil* и 4–10 для *C. ellipsoidea*), однако продукция биомассы у *D. bardawil* достигала максимальных значений при pH 7,5, а у *C. ellipsoidea* — при pH 9 [Khalil et al., 2010]. Самые высокие значения накопления хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов у двух видов зафиксированы при pH 7,5; по мере увеличения pH (смещения в щелочную сторону) содержание этих трёх пигментов существенно уменьшалось. Следует отметить, что значительное снижение содержания всех пигментов как у *D. bardawil*, так и у *C. ellipsoidea* (более чем в 2 раза и на 30 % соответственно) зарегистрировано при увеличении pH от 9 до 11, что коррелирует с полученными данными для *T. viridis* в проведённом эксперименте.

Для большинства видов, используемых в аквакультуре, требуется pH от 6 до 9, тем не менее разные виды микроводорослей могут иметь собственные оптимальные диапазоны pH для производства биомассы, причём часто узкие и специфичные для каждого штамма [Khalil et al., 2010; Qiu et al., 2017]. Сравнительная оценка продукционных характеристик накопительных культур *P. purpureum* и *T. viridis* не выявила существенных различий по скорости роста при выращивании на питательных средах на основе пресной и морской воды. Кроме того, в проведённом эксперименте при использовании пресной воды в качестве основы питательной среды у *P. purpureum* не установлено значимых различий по максимальной и средней скорости синтеза В-ФЭ, а также по уровню накопления пигмента в культуре. Все эти характеристики в целом соответствуют аналогичным параметрам биосинтеза В-ФЭ у культуры, выращиваемой на морской воде, как в ранее проведённых экспериментах, так и в описанном выше [Gudvilovich et al., 2021; Li T. et al., 2019].

Все вышеизложенные данные по опыту выращивания таких видов, как *P. purpureum* и *T. viridis*, а также *Ph. tricorutum* [Lelekov et al., 2016], принадлежащих к различным систематическим группам, позволяют считать перспективными дальнейшие исследования культивирования и других морских микроводорослей на питательных средах с использованием в качестве основы пресной воды с добавлением морской соли.

**Выводы.** Показано, что культуры микроводорослей *Porphyridium purpureum* и *Tetraselmis viridis* можно успешно выращивать без использования природной морской воды. При этом водная основа питательной среды не оказывает существенного влияния на продукционные показатели двух видов, а в случае *P. purpureum* — и на такие характеристики, как скорость синтеза В-фикоэритрина и содержание его в культуре и биомассе. При выращивании *T. viridis* следует рассмотреть возможность контроля pH и его корректировки до оптимального уровня. Применение пресной воды вместо природной морской и отсутствие необходимости дополнительного внесения минеральных солей в случае приготовления искусственной морской воды, а также углекислоты позволяют поддерживать скорость роста культур морских микроводорослей на высоком уровне и существенно снижать трудозатраты и себестоимость получаемой биомассы; кроме того, это расширяет географические перспективы их массового культивирования.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по темам «Комплексное исследование механизмов функционирования морских биотехнологических комплексов с целью получения биологически активных веществ из гидробионтов» (№ гос. регистрации 124022400152-1) и «Комплексное исследование экологических и физиолого-биохимических особенностей микроводорослей различных таксономических групп при адаптации к меняющимся условиям среды» (№ гос. регистрации 124021300070-2).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Боровков А. Б., Геворгиз Р. Г. Продуктивность микроводорослей *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>
2. Гудвилевич И. Н., Боровков А. Б. Продуктивность микроводоросли *Dunaliella salina* Теод. при различных способах внесения углекислого газа в культуру // *Морской биологический журнал*. 2017. Т. 2, № 2. С. 34–40. [Gudvilovich I. N., Borovkov A. B. *Dunaliella salina* Teod. microalgae productivity, when grown under the different addition of carbon dioxide in culture. *Morskoy biologicheskij zhurnal*, 2017, vol. 2, no. 2, pp. 34–40. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.21072/mbj.2017.02.2.03>
3. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. Киев : Наукова думка, 1975. 247 с. [Metody fiziologo-biokhimicheskogo issledovaniya vodoroslei v gidrobiologicheskoi praktike. Kyiv : Naukova dumka, 1975, 247 p. (in Russ.)]
4. Минюк Г. С., Дробецкая И. В., Чубчикова И. Н., Терентьева Н. В. Одноклеточные водоросли как возобновляемый биологический ресурс: обзор // *Морской экологический журнал*. 2008. Т. 7, № 2. С. 5–23. [Minyuk G. S., Drobetskaya I. V., Chubchikova I. N., Terentyeva N. V. Unicellular algae as renewable biological resource: A review. *Morskoy ekologicheskij zhurnal*, 2008, vol. 7, no. 2, pp. 5–23. (in Russ.)]. <https://repository.marine-research.ru/handle/299011/956>
5. Стадничук И. Н. *Фикобилипротеины*. Москва : ВИНТИ, 1990. 193 с. (Итоги науки и техники. Серия: Биологическая химия ; т. 40). [Stadnichuk I. N. *Fikobiliproteiny*. Moscow : VINITI, 1990, 193 p. (Itogi nauki i tekhniki. Seriya: Biologicheskaya khimiya ; vol. 40). (in Russ.)]
6. Тренкеншу Р. П., Терсков И. А., Сидько Ф. Я. Плотные культуры морских микроводорослей // *Известия Сибирского отделения Академии наук СССР*. 1981. № 5. С. 75–82. (Серия биологических наук ; вып. 1). [Trenkenshu R. P., Terskov I. A., Sidko F. Ya. Plotnye kul'tury morskikh mikrovdoroslei. *Izvestiya Sibirskogo otdeleniya Akademii nauk SSSR*, 1981, no. 5, pp. 75–82. (Seriya biologicheskikh nauk ; iss. 1). (in Russ.)]
7. Упитис В. В., Пакалне Д. С., Шульце И. Ф. Оптимизация минерального питания красной морской водоросли *Porphyridium cruentum* // *Известия Академии наук Латвийской ССР*. 1989. Т. 505, № 8. С. 95–104. [Upitis V. V., Pakalne D. S., Shultse I. F. Optimizatsiya mineral'nogo pitaniya krasnoi morskoi vodorosli *Porphyridium cruentum*. *Izvestiya Akademii nauk Latvii skoi SSR*, 1989, vol. 505, no. 8, pp. 95–104. (in Russ.)]
8. Barka A., Blecker C. Microalgae as a potential source of single-cell proteins. A review. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 2016, vol. 20, no. 3, pp. 427–436. <https://doi.org/10.25518/1780-4507.13132>
9. Borovkov A. B., Gudvilovich I. N., Lelekov A. S., Avsiyan A. L. Effect of specific irradiance on productivity and pigment and protein production of *Porphyridium purpureum* (Rhodophyta) semi-continuous culture. *Bioresource Technology*, 2023, vol. 374, art. no. 128771 (11 p.). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128771>
10. Borowitzka M. A. High-value products from microalgae – their development and commercialization. *Journal of Applied Phycology*, 2013, vol. 25, iss. 3, pp. 743–756. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-9983-9>
11. Chen C. Y., Durbin E. G. Effects of pH on the growth and carbon uptake of marine phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, 1994, vol. 109, pp. 83–94. <https://doi.org/10.3354/meps109083>
12. Chauton M. S., Reitan K. I., Norsker N. H., Tveterås R., Kleivdal H. T. A techno-economic analysis of industrial production of marine microalgae as a source of EPA and DHA-rich raw material for aquafeed: Research challenges and possibilities. *Aquaculture*, 2015, vol. 436, pp. 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.038>
13. Fuentes-Grunewald C., Bayliss C., Zanain M., Pooley C., Scolamacchia M., Silkina A. Evaluation

- of batch and semi-continuous culture of *Porphyridium purpureum* in a photobioreactor in high latitudes using Fourier transform infrared spectroscopy for monitoring biomass composition and metabolites production. *Biore-source Technology*, 2015, vol. 189, pp. 357–363. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.04.042>
14. Gaignard C., Gargouch N., Dubessay P., Delattre C., Pierre G., Laroche C., Fendri I., Abdelkafi S., Michaud P. New horizons in culture and valorization of red microalgae. *Biotechnology Advances*, 2019, vol. 37, iss. 1, pp. 193–222. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.014>
15. Gargouch N., Karkouch I., Elleuch J., Elkahoui S., Michaud P., Abdelkafi S., Laroche C., Fendri I. Enhanced B-phycoerythrin production by the red microalga *Porphyridium marinum*: A powerful agent in industrial applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, vol. 120, pt B, pp. 2106–2114. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.037>
16. Geada P., Moreira C., Silva M., Nunes R., Madureira L., Rocha C. M. R., Pereira R. N., Vicente A. A., Teixeira J. A. Algal proteins: Production strategies and nutritional and functional properties. *Biore-source Technology*, 2021, vol. 332, art. no. 125125 (14 p.). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125125>
17. Gudvilovich I. N., Lelekov A. S., Mal'tsev E. I., Kulikovskii M. S., Borovkov A. B. Growth of *Porphyridium purpureum* (Porphyridiales, Rhodophyta) and production of B-phycoerythrin under varying illumination. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2021, vol. 68, iss. 1, pp. 188–196. <https://doi.org/10.1134/S1021443720060059>
18. Kathiresan S., Sarada R., Bhattacharya S., Ravishankar A. Culture media optimization for growth and phycoerythrin production from *Porphyridium purpureum*. *Biotechnology and Bioengineering*, 2006, vol. 96, iss. 3, pp. 456–463. <https://doi.org/10.1002/bit.21138>
19. Khalil Z. I., Asker M. M. S., El-Sayed S., Kobbia I. A. Effect of pH on growth and biochemical responses of *Dunaliella bardawil* and *Chlorella ellipsoidea*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2010, vol. 26, iss. 7, pp. 1225–1231. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0292-z>
20. Kumar S. S., Saramma A. V. Effect of salinity and pH ranges on the growth and biochemical composition of marine microalga *Nannochloropsis salina*. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*, 2018, vol. 11, no. 4, pp. 651–660. <https://doi.org/10.30954/0974-1712.08.2018.6>
21. Lelekov A. S., Gevorgiz R. G., Zhondareva Y. D. Production characteristics of *Phaeodactylum tri-cornutum* Bohlin grown on medium with artificial sea water. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2016, vol. 52, iss. 3, pp. 331–335. <https://doi.org/10.1134/S0003683816030091>
22. Li S., Ji L., Shi Q., Wu H., Fan J. Advances in the production of bioactive substances from marine unicellular microalgae *Porphyridium* spp. *Biore-source Technology*, 2019, vol. 292, art. no. 122048 (16 p.). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122048>
23. Li T., Xu J., Wu H., Jiang P., Chen Z., Xiang W. Growth and biochemical composition of *Porphyridium purpureum* SCS-02 under different nitrogen concentrations. *Marine Drugs*, 2019, vol. 17, iss. 2, art. no. 124 (16 p.). <https://doi.org/10.3390/md17020124>
24. López-Elías J. A., Enriquez-Ocana F., Pablos-Mitre M. N., Huerta-Aldaz N., Leal S., Miranda-Baeza A., Nieves-Soto M., Vásquez-Salgado I. Growth and biomass production of *Chaetoceros muelleri* in mass outdoor cultures: Effect of the hour of the inoculation, size of the inoculum and culture medium. *Revista de Investigaciones Marinas*, 2008, vol. 29, no. 2, pp. 171–177.
25. Ma M., Hu Q. Microalgae as feed sources and feed additives for sustainable aquaculture: Prospects and challenges. *Reviews in Aquaculture*, 2024, vol. 16, iss. 2, pp. 818–835. <https://doi.org/10.1111/raq.12869>
26. Manirafasha E., Ndikubwimana T., Zeng X., Lu Y., Jing K. Phycobiliprotein: Potential microalgae derived pharmaceutical and biological reagent. *Biochemical Engineering Journal*, 2016, vol. 109, pp. 282–296. <https://doi.org/10.1016/J.BEJ.2016.01.025>
27. Qiu R., Gao S., Lopez P. A., Ogden K. L. Effects of pH on cell growth, lipid production and CO<sub>2</sub> addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. *Algal Research*, 2017, vol. 28, pp. 192–199. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.004>

28. Raes E. J., Isdepsky A., Muylaert K., Borowitzka M. A., Moheimani N. R. Comparison of growth of *Tetraselmis* in a tubular photobioreactor (Biocoil) and a raceway pond. *Journal of Applied Phycology*, 2013, vol. 26, iss. 1, pp. 247–255. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0077-5>
29. Strizh I. G., Popova L. G., Balnokin Yu. V. Physiological aspects of adaptation of the marine microalga *Tetraselmis (Platymonas) viridis* to various medium salinity. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2004, vol. 51, iss. 2, pp. 176–182. <https://doi.org/10.1023/B:RUPP.0000019210.59579.6b>
30. Tredici M. R., Biondi N., Ponis E., Rodolfi L., Chini Zittelli G. Advances in microalgal culture for aquaculture feed and other uses. In: *New Technologies in Aquaculture: Improving Production Efficiency, Quality and Environmental Management* / G. Burnell, G. Allan (Eds). Cambridge : Woodhead Publishing, 2009, pp. 610–676. <https://doi.org/10.1533/9781845696474.3.610>
31. Wellburn A. R. 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. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)

## GROWTH OF CULTURES OF MARINE MICROALGAE *PORPHYRIDIDIUM PURPUREUM* AND *TETRASELMIS VIRIDIS* ON MODIFIED NUTRIENT MEDIA

A. Borovkov, I. Gudvilovich, and Ya. Zhondareva

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation  
E-mail: [gudirina2008@yandex.ru](mailto:gudirina2008@yandex.ru)

Marine species of microalgae are capable of synthesizing a wide range of biologically active substances and are currently considered as the most promising sources of such compounds. Nutrient media for cultivation of microalgae are mostly prepared based on natural or artificial seawater. Modifying the nutrient medium for cultivation of marine microalgae by replacing its natural seawater base with freshwater one seems promising. Unialgal cultures of the marine microalgae *Porphyridium purpureum* and *Tetraselmis viridis* were grown under conditions of replacing sterile seawater with freshwater, with sea salt added up to a concentration of 18 and 28 g·L<sup>-1</sup> for *T. viridis* and *P. purpureum*, respectively. Based on experimental data obtained, production characteristics of *P. purpureum* and *T. viridis* batch cultures were determined when grown on freshwater-based and seawater-based nutrient media. In general, a change in the density of *P. purpureum* and *T. viridis* cultures during batch cultivation both on freshwater and seawater had a unidirectional character (correlation coefficients in both cases were 0.99), and the water base of the nutrient medium had no significant effect on their growth rate. As shown experimentally, the biomass yield of *P. purpureum* and *T. viridis* using freshwater as a base of the nutrient medium was 3.2–3.4 g of dry weight per 1 L of the culture and generally corresponded to the similar parameter of cultures grown using seawater. Despite the fact that the mean growth rate of *T. viridis* cultured in freshwater did not differ significantly from the growth rate of the microalga cultured in seawater, higher mean rates of pigment synthesis and their total accumulation were observed in the culture grown in seawater. In the case of *P. purpureum*, the water base of the nutrient medium had no noticeable effect on B-phycoerythrin synthesis rate and content of this pigment in the culture and biomass of the microalga. The obtained results show that cultures of marine microalgae *P. purpureum* and *T. viridis* can be successfully grown without using natural seawater. It significantly reduces labor costs and biomass production costs; also, it expands geographical perspectives for their mass cultivation.

**Keywords:** marine microalgae, *Porphyridium purpureum*, *Tetraselmis viridis*, freshwater, productivity, biomass, pigments