

FTAMP: 34.27.00

Ә.Т. АХМЕТКЕРИМ*, Д.К. КИРБАЕВА, А.К. САДВАКАСОВА, Б.К. ЗАЯДАН,
Н.Р. АҚМУХАНОВА, М.О. БАУЕНОВА, Ф.К. САРСЕКЕЕВА
әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті, Алматы, Қазақстан
*e-mail: aigerim.akhmetkerim@mail.ru

МИКРОБАЛДЫР *SCENEDESMUS OBLIQUUS* SP. B7 ШТАМЫНЫҢ ӨСУІ МЕН ӨНІМДІЛІГІНЕ ТҰЗ КОНЦЕНТРАЦИЯЛАРЫНЫҢ ӘСЕРІ

doi: 10.53729/MV-AS.2023.01.09

Түйін

Қоректік орта микробалдырлардың клеткаларының тіршілік әрекеті кезіндегі зат алмасу процестерін, энергия алмасуын қамтамасыз ететін, сондай-ақ өсуге маңызды элементтерді қамтитын субстрат. Микробалдырлардың қоректік ортасын өзгерту арқылы, олардың клеткаларының өсу көрсеткіштерін және химиялық құрамын өзгертуге болады. Бұл жұмыста микробалдыр *Scenedesmus obliquus* sp. B7 штамының өсу ортасына, яғни Прата қоректік ортасына қосымша қосылған натрий хлордың (NaCl) 2,5 г/л және 15 г/л аралықтағы концентрацияларын қосып, бұл орталарда өскен *Scenedesmus obliquus* sp. B7 штамының өсу көрсеткіштері, биомасса құрамындағы пигменттер (хлорофилл *a*, *b*) мен липидтердің мөлшері зерттелді.

Бұл нәтижелер бойынша, бақылаумен салыстырғанда *Scenedesmus obliquus* sp. B7 штамының өсу динамикасы мен бірқатар пигменттер құрамының жиналуына NaCl-дың 10 г/л оңтайлы болып табылса, ал керісінше липидтердің мөлшері NaCl-дың 15 г/л-де ең жоғары мөлшерде жиналғаны анықталды. Мұндағы, өсу тығыздығы бақылаумен салыстырғанда NaCl-дың 10 г/л –де 80% - ға өскен болса, хлорофилл *a* және *b* көрсеткіштері 2,2 және 3 есеге дейін жоғарлағаны белгіленді. Ал, тәжірибедегі бақылаумен және басқа нұсқалармен салыстырғанда NaCl-дың 15 г/л концентрациясындағы биомасса құрамында липидтердің мөлшері 2,52 есе жоғарлағаны анықталды. Бұл көрсеткіштерден микробалдыр *S. obliquus* sp. B7 штамының бізбен алынған тұздың жоғарғы концентрациясында (10 г/л) клеткаларының өсімі мен бейімделгіштігінің жоғары екенін көрсетеді.

Кілтті сөздер: *Scenedesmus obliquus*, қоректік орта, тұздылық, пигменттер, липидтер.

Микробалдырлардың биомассасы көптеген өнеркәсіптік салалар үшін, әсіресе фотосинтездік пигменттер, липидтер және т.б. биологиялық белсенді заттар (ББЗ) көзі ретінде көптеп өсіру жағынан басымдылығы жоғары нысаналар қатарына жатады.

Соңғы кездерде микробалдыр *Scenedesmus* туысты тұщы су микробалдырларына деген үлкен қызығушылық күннен күнге ұлғаюда. Себебі, *Scenedesmus* туысты микробалдырлардың көптеген түрлері қоректік орта құрамына қарай өсу көрсеткіштерін, соның ішінде биомассаның жалпы өсуіне байланысты клеткалардағы органикалық қосылыстардың сапалық және сандық құрамын өзгерту қабілетіне ие [1-3]. Сондықтан адамзат тіршілігіне қажетті құндылығы жоғары метаболиттерді өндіру мүмкіншіліктеріне қарай кейбір *Scenedesmus* туысты микробалдырлардың өкілдерін биотехнологиялық маңызды нысана ретінде қарастыруға толық негіздер бар [4-6].

Микробалдырлардың қарқынды даму кезеңдеріне олардың жасушаларында пигменттер концентрациясының жоғарылауы сәйкес келеді [7]. Бұл микробалдырлардың өнімділігін хлорофиллдердің, липидтердің концентрациясы бойынша бағалауға мүмкіндік береді [8, 9].

Өртүрлі сипаттағы стресс жағдайында өсуге қабілеттілігі мен жоғары бейімделу белсенділігінің арқасында біржасушалы микробалдырлар көп мөлшерде пигменттерді (каротиноидтар, хлорофилл және т.б.) синтездеуге қабілетті болса, ал липидтерінің метаболизміне әсер ететін факторлардың бірі - бұл ортаның тұздылығы маңызды болып табылады [10-12]. Қоректік ортадағы натрий хлор тұзының белгілі бір жеткілікті мөлшерінің өзінен микробалдырлар мембраналарының қалыпты болуына, олардың

ферменттерінің белсенділігінің ұлғаюына, клеткаларының бөлінуі, көміртектің ассимиляциясы, ақуыздар мен нуклеин қышқылдарының метаболизмі, тыныс алу қарқындылығының өзгеруі сияқты өмірлік функциялардың өзгерісіне әкелген мәліметтерді көп кездестіруге болады [13].

Микробалдыр клеткалары негізінен бірнеше физиологиялық және молекулалық процестер арқылы тұз концентрациясының белгілі бір өзгерістеріне шыдай алады. Метаболикалық жүйенің бұл динамикалық өзгеруі биомасса құрамына әсер етеді. Бірқатар зерттеулер тұщы су микробалдырларының өсу фазасында қолданылатын төмен тұздылық биомассаның максималды жиналуына ықпал ететінін көрсетті. Микробалдырлардың тұздардың жоғары концентрациясына төтеп беру қабілеті көптеген зерттеулермен расталады [14].

Жоғарыда айтылған мәліметтерді ескере ортырып, тәжірибелік зерттеулеріміздің мақсаты микробалдыр *Scenedesmus obliquus* sp. B7 штамының өсу көрсеткіштері мен биомасса құрамындағы күрделі фотосинтездік процеске қатысатын хлорофилл көздері мен жасушалық процестерді энергиямен қамтамасыз ететін липидтердің жиналу көрсеткіштеріне қоректік ортадағы әртүрлі концентрациялы натрий хлордың әсерін зерттеу болып табылады.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеу объектісі ретінде әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-нің фототрофты микроорганизмдер коллекциясынан алынған *Scenedesmus obliquus* sp. B7 штаммы қолданылды. Аталған микробалдыр штаммын дақылдауда модификацияланған Прата сұйық қоректік ортасы қолданылды. Тәжірибеде стандарты Прата қоректік ортасының құрамына қосымша NaCl-дың төрт концентрацияларын (2,5; 5,0; 10; 15 г/л) қосып, 3500 люкс жарықта, 25 °C температурада *Scenedesmus obliquus* sp. B7 штаммы өсірілді.

Штамм культурасының клеткалық тығыздығы фотометр КФК-3-«ЗОМЗ» көмегімен 760 нм-де оптикалық тығыздықты (D) тіркеу арқылы күнделікті бақыланды. Барлық талдаулар үш қайталамамен жасалды және орташа мәні алынды.

Дақылдардағы микробалдырлар биомассасының ұлғаюын анықтау үшін аликвоттар тесік диаметрі 0,85–0,95 мкм болатын мембраналық сүзгілерінде сүзіліп, 60°C температурада тұрақты салмаққа дейін кептірілді.

Пигменттердің (хлорофилл *a* және *b*) сандық құрамы 80% ацетон сығындысында анықталды [15]. Құрамындағы каротиноидтың концентрацияларының оптикалық тығыздығы Specord UV-VIS спектрофотометрде (420, 470 нм толқын ұзындығында) өлшенді.

Липидтер хлороформ-изопропанол қоспасымен (1:1 көлемі бойынша) биомассадан алынғаннан кейін гравиметриялық әдіспен анықталды [16].

Тәжірибе барысында микробалдыр *S. obliquus* sp. B7 штамының өсуіне қолайлы Прата қоректік ортасын модификациялау үшін тұздың әртүрлі концентрациялары алынған жұмыстар жүргізілді.

Тәжірибеге алынған зерттеу нұсқалары:

Бақылау (стандарты Прата қоректік ортасы)

Бірінші нұсқа: 2,5 г/л NaCl;

Екінші нұсқа: 5,0 г/л NaCl;

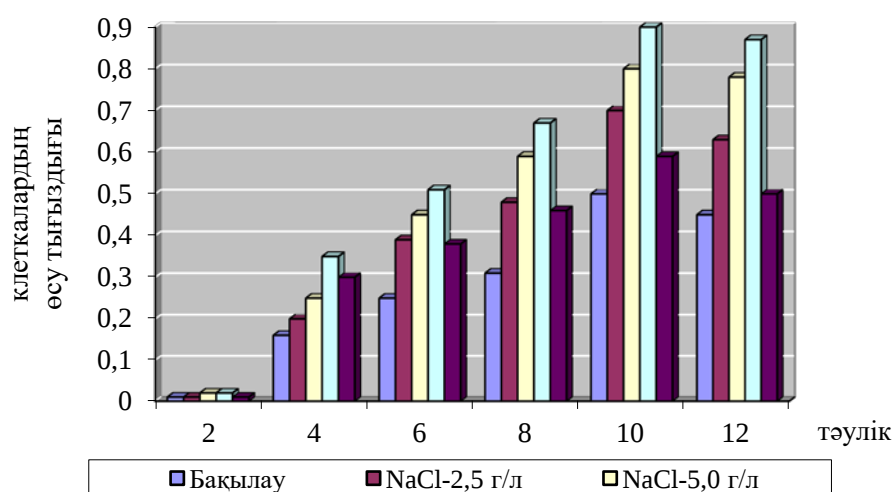
Үшінші нұсқа: 10 г/л NaCl;

Төртінші нұсқа: 15 г/л NaCl.

Зерттеу нәтижелері және талқылау

Зерттеу барысында тәжірибеге алынған микробалдыр *S. obliquus* sp. B7 штамының клеткаларының өсу тығыздығы лабораториялық жағдайда 10 тәулік бойы бақыланды (сурет 1) Бұл зерттеулерден байқағанымыздай, тәжірибенің екінші тәулігінде *S. obliquus* sp. B7 штамының өсуі бақылауда 0,16-ге көтерілсе, тәжірибеге алынған NaCl тұзының әртүрлі

концентрацияларында (2,5 г/л - 0,2; 5 г/л - 0,25; 10 г/л - 0,35;) өсу көрсеткіштерінің жоғарлағаны байқалса, микробалдыр *S. obliquus* sp. B7 штаммының өсу динамикасы 15 г/л – де 0,3 шамасында баяу өскені белгіленді. Ал, 6-шы тәулікте, бақылауда клетканың тығыздық көрсеткіші 0,31-ге дейін жоғарылап, NaCl-дың әртүрлі концентрациясында клеткалардың өсу тығыздығы мынадай көрсеткіште болды: 2,5 г/л - 0,48; 5,0 г/л - 0,59; 10 г/л - 0,67; 15 г/л - 0,46. Келесі 10-шы тәулікте бақылаудадағы клетканың өсуі 0,5-ке келіп өсуін тоқтатқан болса, тәжірибеміздегі NaCl-дың 2,5 г/л концентрациясында клетканың өсуі 0,7-ге дейін жетіп, NaCl-дың 5,0 г/л концентрациясында *S. obliquus* sp. B7 штаммының клеткаларының оптикалық тығыздығы 0,8 шамасында болғандығы анықталынған. Ал, тұздың 10 г/л концентрациясында клетканың өсуі 0,9-ге жоғарылап, NaCl-дың 15 г/л концентрациясында 0,59 шамасында өсуін тоқтатқан.



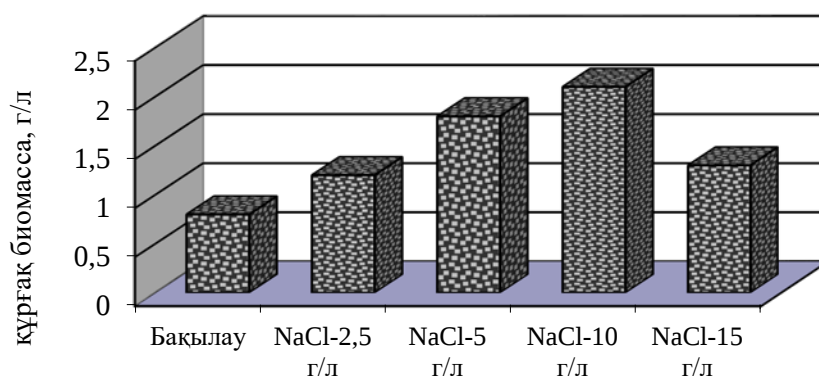
Сурет 1 – Тұздың әртүрлі концентрацияларында өсірілген *S. obliquus* sp. B7 штаммының өсу тығыздығы

Қорытындылай келе, зерттеудің 10-шы тәулігінде *S. obliquus* sp. B7 штаммының өсу тығыздығы бақылаумен салыстырғанда тұздың 2,5 г/л – де 40% - ға; 5 г/л – де 60% - ға; 10 г/л – де 80% - ға дейін жоғарлағаны анықталса, ал бұл кезде бақылаумен және тәжірибедегі басқа нұсқалармен салыстырғанда тұздың 15 г/л концентрациясындағы өскен микробалдырдың өсу тығыздығы 18% - ға төмендегені белгіленді.

S. obliquus sp. B7 штаммының өсу тығыздығына NaCl-дың 2,5 және 10 г/л концентрациясына дейін оңтайлы әсер етіп, бақылаумен салыстырғанда өсу көрсеткіштері жоғарлағаны анықталды. Ал, керісінше, NaCl – дың 15 г/л концентрациясы *S. obliquus* sp. B7 штаммының өсу көрсеткіштеріне кері ықпалын тигізіп, яғни тұздың шамадан тыс мөлшерде болуынан клеткаларының өсуі мен тежелуі тез болғанын байқадық. Бұл клеткалық протеазалар мен эндонуклеаза ферменттерін ынталандыратын электролиттің ағып кетуіне байланысты болуы мүмкін [17].

Тұздың бастапқы деңгейлерінде өсу көрсеткіштерінің жоғарылауының себебі, стандарты Прата қоректік ортасында тұздың жетіспеушілігі әсерінен микробалдырдың өсу көрсеткіштері біршама төмен болды, сондықтан қоректік орта құрамына тұздың әртүрлі концентрацияларын қосу нәтижесінде, тұздың жоғары дәрежеде әсер етуіне байланысты болуы мүмкін. Сонымен бірге, тәжірибе барысында суспензияның өсу динамикасымен бірге, NaCl –дың әртүрлі концентрацияларында *S. obliquus* sp. B7 штаммы қаншалықты өзіне биомасса мөлшерін жинағандығы қадағаланды, оны 2-суреттен көруге болады.

2-суреттен көріп тұрғанымыздай, тәжірибенің соңғы тәулігінде бақылау нұсқасында 0,8 г/л биомасса жиналған болса, бірінші және екінші нұсқаларда сәйкесінше 1,2 г/л және 1,8 г/л биомассаның мөлшері жоғарлағаны анықталды.



Сурет 2 – Тұздың әртүрлі концентрацияларында өскен *S. obliquus* sp. B7 штамының құрғақ биомассасының жиналу көрсеткіштері

Биомассаның ең жоғары жинақталуы үшінші нұсқада 2,1 г/л болып, жоғары өнімділік деңгейін көрсетсе, ал төртінші нұсқада биомасса мөлшері 1,3 г/л шамасына дейін төмендегені белгіленді. Байқағанымыздай, *S. obliquus* sp. B7 штаммының құрғақ биомассасы қоректік ортаға 10 г/л NaCl қосымша қосылғанда жоғары көрсеткішті көрсеткені анықталды. Осылайша, бақылаумен (0,8 г/л) салыстырғанда биомасса жинақталуы бірінші нұсқада 1,5 есе, екінші нұсқада 2,3 есе, үшінші нұсқада 2,6 есе жоғарлағаны белгіленсе, ал төртінші нұсқада 1,6 есе артқаны анықталынды.

Тұздың бастапқы концентрацияларында бақылаумен салыстырғанда биомасса көрсеткіштері жоғары болды. Бұлай болу себебі, микробалдырлардың тұздың бастапқы концентрацияларына бейімделу механизмінің артуы деп болжануда. Төртінші нұсқа нәтижелері біршама төмендегенін байқадық, яғни микробалдырлардың жоғары тұз мөлшерінің әсерінен биомассасы төмендеді, бұлай болу себебі микробалдырлар су қысымын ұстап тұру үшін энергияны жұмсайды және бұл өнімділіктің төмендеуіне немесе өсудің төмендеуіне әкеледі деп болжануда. Нәтижесінде, бұл зерттеуімізде де өсу тығыздығы сияқты биомасса жиналуы бойынша ең жақсы көрсеткіш 10 г/л NaCl нұсқада екендігі анықталды.

Кейінгі зерттеулерімізде, *S. obliquus* sp. B7 штаммының құрғақ биомассаларының құрамындағы биологиялық белсенді заттар көрсеткіштері (хлорофилл *a* және *b*) анықталды (кесте 1).

Кесте 1 – Тұздың әртүрлі концентрациясында өсірілген *S. obliquus* sp. B7 штаммы биомассасындағы хлорофилл көрсеткіштері

Зерттеуге алынған нұсқалар	мг/г	
	хлорофилл <i>a</i>	хлорофилл <i>b</i>
Бақылау	1,17 ± 0,04	0,64 ± 0,02
NaCl 2,5 г/л	1,59 ± 0,06	0,93 ± 0,03
NaCl 5 г/л	1,98 ± 0,08	1,32 ± 0,04
NaCl 10 г/л	2,62 ± 0,11	1,95 ± 0,07
NaCl 15 г/л	1,36 ± 0,05	1,76 ± 0,06

Зерттеудегі бақылаумен (хлорофилл *a* - 1,17 мг/г, хлорофилл *b* - 0,64 мг/г) салыстырғанда, NaCl 2,5 г/л-де өскен *S. obliquus* sp. B7 штаммының хлорофилл *a* - 1,59 мг/г, хлорофилл *b* - 0,93 мг/г (1-кесте) мөлшерін құрады. Ал, бұл кезде NaCl 5,0 г/л нұсқадағы хлорофилл *a* және *b* көрсеткіштері 1,98 және 1,32 мг/г шамасында болып, NaCl 10 г/л нұсқада хлорофилл *a* және *b* көрсеткіші 2,62 мг/г және 1,95 мг/г мөлшерін көрсете келе ең жоғары нәтижені белгілесе, NaCl 15 г/л нұсқадағы хлорофилл *a* және *b* мәндері 1,36 мг/г және 1,76 мг/г жеткені анықталды.

Қорытындылай келе, бақылаумен салыстырғанда (хлорофилл *a* - 1,17 мг/г, *b* - 0,64 мг/г) хлорофилл көрсеткіштері бірінші нұсқада 1,3 және 1,5 есе, екінші нұсқада 1,7 және 2,1 есе, үшінші нұсқада 2,2 және 3 есе мөлшері жоғарылау нүктесіне келіп, төртінші нұсқада 1,2 және 2,7 есе артқандығы анықталды.

Біздің зерттеуімізде бақылаумен салыстырғанда алынған тұздың барлық концентрациясының хлорофиллдері *a* және *b* мөлшерінің жоғарылағаны анықталды, мұндай нәтиженің болу себебі, тұздың фотосинтезді жеңілдету үшін қажет натрий иондарын қамтамасыз ететін қасиетіне, хлоропласт мембраналарының дамуына ықпал етуі деп болжануда. Сондай – ақ, кейбір ғылым зерттеулерде сипатталғандай, микробалдыр *S. obliquus* sp. B7 штаммының биомасса құрамындағы *a* және *b* хлорофилл пигменттерінің артуы қоректік ортадағы натрий хлор тұзына микробалдыр дақылдарының бейімделгіштігі мен олардың клеткаларындағы метаболиттік процеске аса қажеттілігімен байланыстырады [18].

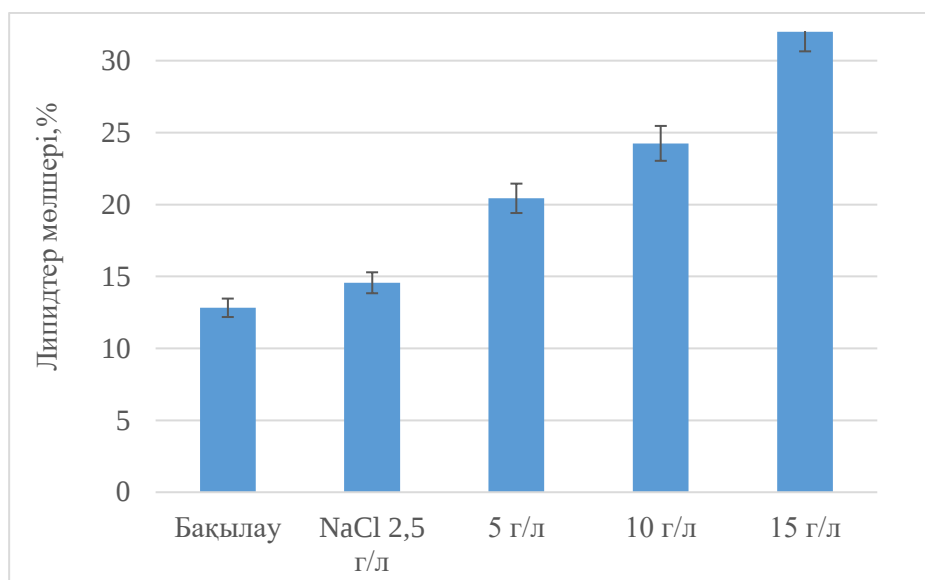
Кейінгі зерттеулерде, микробалдыр *S. obliquus* sp. B7 штаммының клетка құрамындағы жалпы липидтерге NaCl-дың әртүрлі концентрацияларының әсерін бақыладық (сурет 4).

Бақылауда және тұздың әр түрлі концентрациялы биомассаларындығы липидтердің көрсеткіштері келесідей нәтижелер берді: бақылауда – 12,82%, натрий хлордың 2,5 және 5,0 г/л концентрацияларында липидтердің мөлшері 14,56 және 20,43% -ға артқандығы анықталса, ал тұздың 10 және 15 г/л концентрацияларында липидтердің мөлшері 24,25 және 32,26% -ға жетіп жоғарлағаны анықталды.

NaCl концентрациясы мен липидтердің құрамы арасында сенімді корреляция байқалды. Осылайша, липидтердің жоғары мөлшері NaCl жоғары концентрациясында байқалды, бұлай болу себебі, тұз мөлшері және қоректік ортадағы азот тапшылығымен байланысты болуы мүмкін. Тұздың жоғары концентрациясы липидтердің өнімділігін арттыратындығы Панча және т.б. авторлардың еңбектерінде де белгіленгендей, *Scenedesmus* sp. штаммы жоғары тұздылық жағдайында липидтердің жиналуын арттырады. Сондай ақ, қолайсыз немесе өсу жағдайы шектеулі (стрестік жағдайда) орталарда микробалдырлардың бейтарап липидтері биомассада липидті тамшылар түрінде жиналады және олар цитоплазма мен жасушаның негізгі қосалқы компоненттері болып табылады [19].

Нәтижесінде, зерттеу барысында бақылаумен (12,82 г/л) салыстырғанда липидтер мөлшері бірінші нұсқада (2,5 г/л NaCl) 1,1 есе, екінші нұсқада (5,0 г/л NaCl) 1,6 есе, үшінші нұсқада (10 г/л NaCl) 1,9 есе жоғарлағаны анықталып, төртінші нұсқада (15 г/л NaCl) 2,52 есе артқаны белгіленді.

Натрий хлордың ең жоғары мөлшері (15 г/л) қосылған ортада өскен биомассаның құрамында жалпы липидтердің мөлшері көптеп жинақталғаны анықталды. Бұл липидтердің өнімділігі микробалдырлардың биомассасына және липидтердің құрамына тікелей пропорционалды екенін білдіреді. Алайда, липидтердің құрамы биомассаның құрамына тәуелді емес, яғни биомассаның көбеюі липидтердің құрамын айтарлықтай арттырмайды [19].



Сурет 3 – Микробалдыр *S. obliquus* sp. B7 штамының құрамындағы липидтердің жиналу мөлшері, %

Бұл тәжірибелік зерттеулерден NaCl-дың жоғары концентрациясында липидтердің жиналу мөлшерінің жоғары болуына қарап, *S. obliquus* sp. B7 штаммының липидтерді өндіруде тиімді екенін айтуға болады. Бұлай болу себебі, микробалдырлар клеткаларында бейтарап липидтердің көбеюі микробалдырлар клеткаларында осмостық қысымның жоғарылауына жауап беруге және NaCl жоғары концентрациясында жасуша мембранасының сұйықтығы мен тұтастығын сақтауға мүмкіндік беретін бейімделу механизмі болуы мүмкін. Сондықтан микробалдырлардың тіршілік әрекеті мен өнімділігіне, зат алмасу процестері мен көбеюін қамтамасыз ету үшін маңызды болып табылатын қоректік ортаға қосымша қосылған тәжірибелік зерттеудегі NaCl элементінің жоғары маңыздылығын атап өтуге болады.

Қорытынды

Тәжірибедегі микробалдыр *S. obliquus* sp. B7 штаммының өсу ортасына қосымша натрий хлор тұзының әртүрлі концентрацияларын қосып өсірілген ортадағы (10 тәулік бойы) жасушалардың өсу тығыздығы анықталды, бұл нәтижелер бойынша: бақылаумен салыстырғанда, натрий хлордың 2,5 г/л концентрациясында өскен микробалдырдың өсу тығыздығы 40% - ға жоғарласа; ал натрий хлордың 5 г/л концентрациясында бұл көрсеткіш 60% - ға; 10 г/л концентрациясында 80% - ға дейін жоғарлағаны анықталса, келесі натрий хлордың 15 г/л концентрациясындағы өскен микробалдырдың өсу тығыздығы 18% - ға төмендегені белгіленді.

Тәжірибе барысында бақылаумен салыстырғанда (хлорофилл *a* - 1,17 мг/г, *b* - 0,64 мг/г) хлорофилл көрсеткіштері бірінші нұсқада 1,3 және 1,5 есе, екінші нұсқада 1,7 және 2,1 есе, үшінші нұсқада 2,2 және 3 есе мөлшері жоғарылау нүктесіне келіп, төртінші нұсқада 1,2 және 2,7 есе артқандығы анықталды.

Тәжірибедегі микробалдыр биомассасындағы жалпы липидтердің мөлшері анықталды. Бұл зерттеулерден бақылаумен салыстырғанда (липидтер - 12,82 %) NaCl-дың 2,5 және 5,0 г/л концентрацияларында өскен биомассадағы липидтердің мөлшері (липидтер 14,56 және 20,43%) жоғарлап, яғни 1,1 және 1,6 есеге жоғарлаған болса, ал бұл көрсеткіш NaCl 10 және 15 г/л концентрацияларында (липидтер 24,25 және 32,26%) 1,9 және 2,52 есеге жоғарлағаны анықталды.

Қаржыландыру

Бұл зерттеуді Қазақстан Республикасының Білім және ғылым министрлігі қаржыландырды (грант №AP09260077, №AP14972916).

Әдебиеттер:

- 1 Fodorpataki L., Bartha C. Salt stress tolerance of a freshwater green alga under different photon flux densities. *Stud. U.B.B. Biol.*, 2004, 49: 85–93.
- 2 Карякин Д.О. Оптимизация питательной среды для культуры *Scenedesmus* sp. / Д.О. Карякин, Н.В. Мальцевская, М.В. Новичева [и др.] // *Международный научно-исследовательский журнал*, 2017, №8(62) (doi: 10.23670/IRJ.2017.62.081).
- 3 Макарова Е.И., Отурина И.П., Сидякин А.И. Прикладные аспекты применения микроводорослей – обитателей водных экосистем // *Экосистемы, их оптимизация и охрана*, 2009, 20: 120–133.
- 4 Romanenko E.A., Kosakovskaya I.V., Romanenko P.A. Phytohormones of microalgae: Biological role and involvement in the regulation of physiological processes. Pt I. Auxins, Absciscic Acid, Ethylene. *IJA*, 2015, 17(3): 275–289.
- 5 Дмитриевич Н.П. Влияние физиологического состояния микроводорослей на соотношение в их клетках различных пигментов / Н.П. Дмитриевич, Т.В. Козлова // *Вестн. Полес. гос. ун-та. Сер. прир. наук*, 2015, 1: 40–43.
- 6 Anand V., Kashyap M., Samadhiya K., Ghosh A., Kiran B. Salinity driven stress to enhance lipid production in *Scenedesmus vacuolatus*: a biodiesel trigger. *Biomass Bioenergy*, 2019, 127: 105252 (doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.05.021).
- 7 Gaubert J., Payri C.E., Vieira C., Solanki H., Thomas O.P. High metabolic variation for seaweeds in response to environmental changes: a case study of the brown algae *Lobophora* in coral reefs, 2019, 993(9): 1–12 (doi.org/10.1038/s41598-018-38177-z).
- 8 Lartigue J., Neill A., Hayden B.L., Pulfer J., Cebrian J. The impact of salinity fluctuations on net oxygen production and inorganic nitrogen uptake by *Ulva lactuca* (*Chlorophyceae*). *Aquat. Bot.*, 2003, 75: 339–350.
- 9 Romanenko E.A., Romanenko P.A., Babenko L.M., Kosakovskaya I.V. Salt stress effects on growth and photosynthetic pigments' content in algoculture of *Acutodesmus dimorphus* (*Chlorophyta*). *Int. J. Algae*, 2017, 19: 271–282.
- 10 С. Ломадзе, Р. Кабиров, Е. Пурина, Л. Сафиуллина, А. Иванова. Воздействие солей натрия на микроскопическую зеленую водоросль *Scotiellopsis rubescens* // *Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики». Серия: Естественные и технические науки*, 2018, 7: 14–17.
- 11 Gupta B., Huang B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *Int J Genomics*, 2014 (doi: 10.1155/2014/701596).
- 12 Lawton R.J., De Nys R., Magnusson M.E., Paul N.A. The effect of salinity on the biomass productivity, protein and lipid composition of a freshwater macroalga. *Algal Research*, 2015: 213–220 (doi.org/10.1016/j.algal.2015.09.001).
- 13 Bleakley S., Hayes M. Algal proteins: extraction, application, and challenges concerning production. *Foods*, 2017, 6(5): 33 (doi.org/10.3390/foods6050033).
- 14 Д.Н. Павловна, К.А. Сергеевна, С.Н. Анатольевна. Влияние питательной среды и интенсивности барботаж на динамику физиологических параметров роста хлореллы // *Вестник Полесского государственного университета. Серия природоведческих наук*, 2016, 2: 13–18.
- 15 Жила Н.О., Калачёва Г.С., Волова Т.Г. Влияние солёности среды на рост и биохимический состав зелёной микроводоросли *Botryococcus braunii* Kütz IPPAS H-252 // *Журнал СФУ. Биология*, 2011, 4(3): 229–242.
- 16 Na Liu, Yiwen Mou, Kunyang Su, Xue Li, Tianxiang Lu, Wenbao Yan, Mingming Song, Ze Yu. The effect of salinity stress on the growth and lipid accumulation of *Scenedesmus quadricauda* FACHB-1297 under xylose mixotrophic cultivation. *Process Safety and Environmental Protection*, 2022, 165: 887–894, ISSN 0957-5820 (doi.org/10.1016/j.psep.2022.07.051).
- 17 Elloumi W., Jebali A., Maalej A., Chamkha M., Sayadi S. Effect of mild salinity stress on the growth, fatty acid and carotenoid compositions, and biological activities of the thermal freshwater microalgae *Scenedesmus* sp. *Biomolecules*, 2020, 10: 1515 (doi.org/10.3390/biom10111515).

18 Pancha I., Chokshi K., Mishra S. Enhanced biofuel production potential with nutritional stress amelioration through optimization of carbon source and light intensity in *Scenedesmus* sp. CCNM 1077. *Bioresour Technol.*, 2015, 179: 565–572 (doi:10.1016/j.biortech. 2014.12.079).

19 Tang D., Han W., Li P., Miao X., Zhong J. CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. *Bioresour. Technol.*, 2015, 102 (3): 3071–3076.

А.Т. АХМЕТКЕРИМ*, Д.К. КИРБАЕВА, А.К. САДВАКАСОВА, Б.К. ЗАЯДАН,
Н.Р. АКМУХАНОВА, М.О. БАУЕНОВА, Ф.К. САРСЕКЕЕВА
Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан
*e-mail: aigerim.akhmetkerim@mail.ru

ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ СОЛИ НА РОСТ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ШТАММА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ *SCENEDESMUS OBLIQUUS* SP. B7

Аннотация

Питательная среда представляет собой субстрат, обеспечивающий обменные процессы, энергетический обмен при жизнедеятельности клеток микроводорослей, а также включающий важные для роста элементы. Изменяя питательную среду микроводорослей, можно изменить показатели роста и химический состав их клеток. В этой работе изучены показатели роста штамма *Scenedesmus obliquus* sp. B7, пигментов в биомассе (хлорофилл *a*, *b*) и общего количества липидов с добавлением хлорида натрия в концентрациях от 2,5 г/л до 15 г/л в питательную среду Прата для культивирования этого штамма.

По результатам исследований, динамика роста штамма *Scenedesmus obliquus*. sp B7 и накопление ряда пигментов были оптимальными при концентрации NaCl - 10 г/л, а общее содержание липидов было максимальным – при 15 г/л, установлено, что, если плотность роста увеличилась на 80% в 10 г/л NaCl по сравнению с контролем, то показатели хлорофилла *a* и *b* увеличились в 2,2 и 3 раза. По сравнению с экспериментальным наблюдением обнаружено, что содержание общих липидов в биомассе при добавлении в питательную среду 15 г/л NaCl увеличилось в 2,52 раза. Из этих показателей следует, что штамм микроводоросли *Scenedesmus obliquus* sp. B7 демонстрирует высокий рост и адаптируемость клеток при концентрации NaCl в питательной среде 10 г/л.

Ключевые слова: *Scenedesmus obliquus*, питательная среда, соленость, пигменты, липиды.

IRSTI: 34.27.00

А.Т. АХМЕТКЕРИМ*, Д.К. КИРБАЕВА, А.К. САДВАКАСОВА, Б.К. ЗАЯДАН,
Н.Р. АКМУХАНОВА, М.О. БАУЕНОВА, Ф.К. САРСЕКЕЕВА
Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan
*e-mail: aigerim.akhmetkerim@mail.ru

THE EFFECT OF SALT CONCENTRATION ON THE GROWTH AND PRODUCTIVITY OF MICROALGAE STRAINS *SCENEDESMUS OBLIQUUS* SP. B7

doi: 10.53729/MV-AS.2023.01.09

Abstract

Nutrient medium is a substrate that provides metabolic processes during vital activity of microalgae cells, energy metabolism, and elements essential for microalgae growth. It is possible to alter the growth indicators and chemical composition of microalgae cells by changing the components of nutrient medium. In these studies, growth indicators, chlorophyll (*a*, *b*) and total lipid content in the biomass of *Scenedesmus*

obliquus sp. B7 strain grown on Prata medium with the addition of sodium chloride concentrations in the intervals of 2.5 g/l and 15 g/l were evaluated.

According to these results, compared with the observation, it was found that 10 g/l NaCl was optimal for the growth dynamics of *Scenedesmus obliquus* sp. B7 strain and accumulation of some pigment compositions. Nevertheless, the optimum value for the highest total lipid content was 15 g/l NaCl.

It was determined that the chlorophyll *a* and *b* indicators increased by 2.2 and 3 times, respectively, when the growth density was increased by 80% in 10 g/l NaCl compared to the control. In comparison with experimental observation and other variants, it was ascertained that the content of total lipids in biomass was 2.52 times higher when 15 g/l NaCl was added to the nutrient medium. It can be concluded from these indicators that the microalgae *Scenedesmus obliquus* sp. B7 strain shows a high level of growth and cell adaptability at a NaCl concentration of 10 g/l in the nutrient medium.

Keywords: *Scenedesmus obliquus*, culture medium, salinity, pigments, lipids.

Microalgal biomass has become one of the priority targets for several industry sectors, especially as a source of biologically active substances (BASs) such as photosynthetic pigments, lipids and others.

Interest in freshwater microalgae, the genus *Scenedesmus*, has recently increased. This is because many species of *Scenedesmus* microalgae have the ability to change growth indicators in response to the composition of the nutrient medium, including the qualitative and quantitative composition of intracellular organic compounds, depending on overall biomass growth [1-3]. Therefore, due to their ability to synthesize highly valuable metabolites that are essential for human life, representatives of some *Scenedesmus* related microalgae are considered to be substantial biotechnological targets. [4-6].

Periods of intense growth of the microalgae are associated with an increase in the concentration of pigment in their cells [7]. This allows the concentration of chlorophylls, lipids and other substances to be used to assess the performance of microalgae [8, 9].

Unicellular microalgae are able to synthesize large amounts of pigments (carotenoids, chlorophyll, etc.) due to their ability to grow under a wide range of stress conditions and high adaptive activity, and one of the factors that has an impact on lipid metabolism is the salinity of the medium, which is significant [10-12]. The presence of an adequate amount of sodium chloride in the culture medium has been shown to normalize the microalgae membrane, increase enzyme activity, and alter vital functions such as cell division, carbon assimilation, protein and nucleic acid metabolism, and respiration intensity. [13].

Through several physiological and molecular processes, microalgae cells can tolerate certain changes in salt concentration. This dynamic change in the metabolic system affects the composition of biomass. Numerous studies have demonstrated that the low salinity used during the growth phase of freshwater microalgae is conducive to the maximum accumulation of biomass. Numerous investigations have shown that microalgae can resist high salt concentrations. [14].

Considering the above information, the purpose of our experimental research is to determine the impact of salinity in different concentrations in the nutrient medium on the growth indicators of the microalgae *Scenedesmus obliquus* sp. B7 strain and the accumulation of lipids that provide energy to chlorophyll sources and cellular processes involved in the complex photosynthetic process in biomass.

Research materials and methods

Scenedesmus obliquus sp. B7 strain from Al-Farabi Kazakh National University phototrophic microorganism collection was used as research object. A modified Prata liquid culture medium was used to grow this microalgae strain. In the experiment, the *Scenedesmus obliquus* sp. B7 strain was grown under 3500 lux light, at a temperature of 25°C, with the addition of four concentrations of NaCl (2.5, 5.0, 10, 15 g/l) in addition to the standard Prata culture medium.

The cell density of the strain culture was monitored on a daily basis by recording the optical density (D) at 760 nm with the KFK-3 "ZOMZ" photometer. All analyses were performed with three replicates and the mean value was obtained.

To determine the algal biomass increase, microbial samples were filtered through 0.85 - 0.95 micron pore size membrane filters and dried at 60 °C to constant weight.

An 80% acetone extract was used to determine the quantitative content of pigments (chlorophyll *a* and *b*) [15]. The Specord UV-VIS spectrophotometer (at wavelengths of 420, 470 nm) was used to measure the optical density of the concentrations of carotenoids contained.

Lipids were determined by the gravimetric method after extraction from the biomass with a chloroform-isopropanol mixture (volume 1:1) [16].

During the experiment, various salt concentrations were obtained to modify the Prata nutrient medium suitable for the growth of the microalgae *S. obliquus* sp. B7 strain.

Experimental research options:

Control (standard of Prata culture medium)

First option: 2.5 g/l NaCl;

Second option: 5.0 g/l NaCl;

Third option: 10 g/l NaCl;

Fourth option: 15 g/l NaCl.

Results and Discussion

As part of the research, the cell growth density of the *S. obliquus* sp. B7 strain was monitored in the laboratory for 10 days (Figure 1). The results show that on day 2 of the experiment, the growth of the *S. obliquus* sp. B7 strain accelerated by 0.16, while at the different NaCl salt concentrations used in the experiment (2.5 g/l - 0.2, 5 g/l - 0.25 and 10g/l - 0.35), the growth dynamics of the *S. obliquus* sp. B7 strain slowly accelerated by approximately 0.3 at 15 g/l. On the 6th day, under control, the cell density indicator increased to 0.31, and at different concentrations of NaCl, the cell growth density was as follows: 2.5 g/l-0.48; 5.0 g/l-0.59; 10 g/l - 0.67; 15 g/l - 0.46. In our experiment, it was observed that at a concentration of 2.5 g/l of NaCl, the growth of the cell reached 0.7, and at a concentration of 5.0 g/l of NaCl, the optical density of the cells of the strain *S. obliquus* sp. B7 was about 0.8. This was the case when the growth of the control cell reached 0.5 during the following 10 days. Meanwhile, at a salt concentration of 10 g/l, cell growth increased by 0.9, and at a concentration of 15 g/l, NaCl stopped growth at about 0.59.

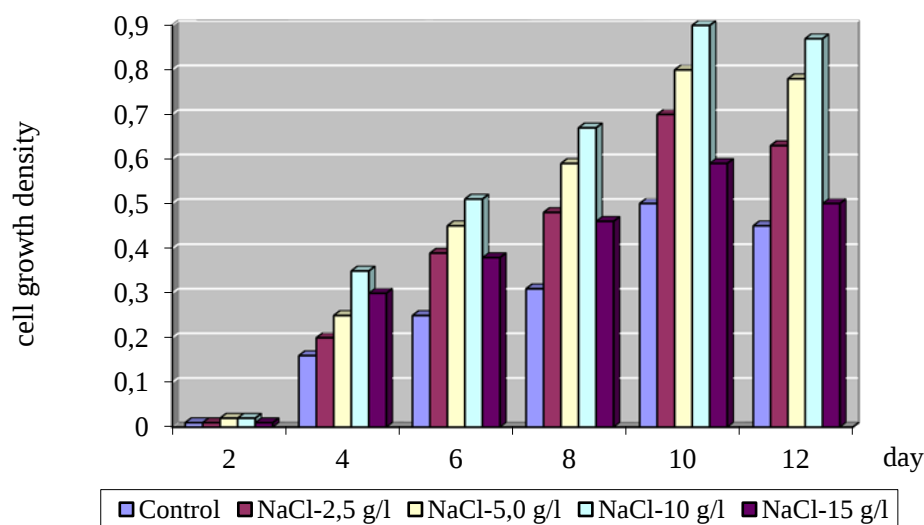


Figure 1 - Growth monitoring of *Scenedesmus obliquus* sp. B7 cultured in Modified Prata's Medium (control) and in MPM medium supplemented with 2.5, 5.0, 10 and 15 g/L of NaCl, by the measure of the optical density (OD) at 760 nm

The growth density of the strain *S. obliquus* sp. B7 increased by 40% in the salt concentration of 2.5 g/l, by 60% in the salt concentration of 5 g/l and by 80% in the salt concentration of 10 g/l on day 10 of the study. However, at this point, the growth density of the enhanced microalgae at a salt concentration of 15 g/l decreased by 18% compared to the control and other options in the experiment. The results showed that NaCl concentrations of 2.5 and 10 g/L had an optimal effect on the growth density of *S. obliquus* sp. B7 and increased the growth indicators compared to the control. On the contrary, we found that NaCl concentration of 15 g/l negatively affected growth indicators of *S. obliquus* sp. B7 strain, that is, excessive salt content accelerated cell growth and inhibition. This could be due to electrolyte leakage, which activates cellular enzymes called proteases and endonucleases [17].

The reason for the increase in growth rates at the initial salt levels was that the microalgae growth rates were somewhat lower due to the lack of salt in the standard Prata culture medium. Therefore, the addition of different salt concentrations to the culture medium may have resulted in a high degree of salt exposure.

The dynamics of the growth of the suspension was monitored throughout the experiment and the amount of biomass accumulated by the strain *S. obliquus* sp. B7 at different NaCl concentrations was also recorded, as shown in Figure 2.

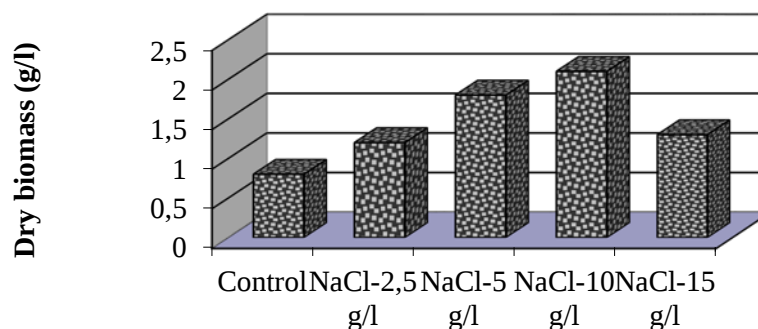


Figure 2 - Indicators of accumulation of dry biomass of strain *S. obliquus* sp. B7 grown at different salt concentrations

As can be seen from Figure 2, biomass increased by 1.2 g/l and 1.8 g/l in the first and second versions, respectively, compared to 0.8 g/l in the control version on the last day of the experiment. It was established that the highest biomass accumulation was 2.1 g/l in the third version, indicating a high level of productivity, and in the fourth version, the amount of biomass decreased to 1.3 g/l. As we have seen, it was found that the dry biomass of the strain *S. obliquus* sp. B7 showed a higher rate when 10 g/l NaCl was added additionally to the culture medium.

Thus, compared to the control (0.8 g/l), it was established that the accumulation of biomass in the first version increased by 1.5 times, in the second version-by 2.3 times, in the third version-by 2.6 times, and in the fourth version-by 1.6 times.

Biomass indicators were higher than the control at the initial salt concentrations. An increase in the adaptation mechanism of the microalgae to the initial salt concentrations is thought to be the reason for this. We noticed that the results of the fourth option decreased slightly, i.e. the microalgae biomass decreased because of the high salinity, which is the reason why microalgae consume energy to maintain water pressure, and it is assumed that this will result in reduced productivity or reduced growth. Consequently, this study also found that the best biomass accumulation rate, as well as growth density, was in the NaCl 10 g/l option.

In our subsequent studies, indicators of biologically active substances (chlorophyll *a* and *b*) in the composition of dry biomass of the strain *S. obliquus* sp. B7 were determined (Table 1).

Table 1 – Chlorophyll *a* and *b* indicators in the biomass of *S. obliquus* sp. B7 grown at different salt concentrations

Options taken in the study	mg/g	
	chlorophyll <i>a</i>	chlorophyll <i>b</i>
Control	1,17 ± 0,04	0,64 ± 0,02
NaCl 2,5 g/l	1,59 ± 0,06	0,93 ± 0,03
NaCl 5 g/l	1,98 ± 0,08	1,32 ± 0,04
NaCl 10 g/l	2,62 ± 0,11	1,95 ± 0,07
NaCl 15 g/l	1,36 ± 0,05	1,76 ± 0,06

In a study with a salt concentration of 2.5 g/l of *S. obliquus* sp. B7 strain, the total amount of chlorophyll *a* was 1.59 mg/g and chlorophyll *b* was 0.93 mg/g compared to the control (chlorophyll *a* - 1.17 mg/g and chlorophyll *b* - 0.64 mg/g, respectively) (Table 1). At the same time, it was found that the indicators of chlorophyll *a* and *b* in the NaCl 5.0 g/l version were around 1.98 and 1.32 mg/g, while the indicators of chlorophyll *a* and *b* in the NaCl 10 g/l version showed the highest results, indicating 2.62 mg/g and 1.95 mg/g, while the values of chlorophyll *a* and *b* in the NaCl 15 g/l version reached 1.36 mg/g and 1.76 mg/g.

In summary, the chlorophyll indicators were 1.3 and 1.5- times higher in the first version, 1.7 and 2.1- times higher in the second version, 2.2 and 3- times higher in the third version and 1.2 and 2.7- times higher in the fourth version compared to the observed values (chlorophyll *a* - 1.17 mg/g, chlorophyll *b* - 0.64 mg/g).

In our study, we found that all the concentrations of salt obtained increased the amount of chlorophylls *a* and *b* compared with the control. This is thought to be due to the salt's ability to provide the sodium ions needed to facilitate photosynthesis. Furthermore, as described in some scientific studies, the increase in chlorophyll *a* and *b* pigments in the biomass of the microalgae strain *S. obliquus* sp. B7 is associated with an increased adaptability of the microalgae cultures to the sodium chloride salt in the nutrient medium and their acute metabolic necessity in their cells [18].

In subsequent studies, we observed the effect of different concentrations of NaCl on the total lipids contained in the cell of the microalgae *S. obliquus* sp. B7 strain (Figure 4).

The lipid content in the biomass at various salt concentrations and under control was as follows: 12.82% in control, 14.56% and 20.43% increase in sodium chloride at 2.5 and 5.0 g/l and 24.25% and 32.26% increase in lipid content at 10 and 15 g/l salt concentration.

A significant correlation was attended between the concentration of NaCl and the content of lipids. Thus, a high lipid content was observed at high NaCl concentrations, which may be due to the amount of salt and nitrogen deficiency in the nutrient medium. It has also been noted that high salinity increases lipid yield and that the strain *Scenedesmus* sp. increases lipid accumulation under high salinity conditions in the work of Punch et al. In addition, under damaged or restricted growth conditions (stress conditions), neutral microalgal lipids accumulate in the biomass in the form of lipid droplets and are important supporting components of the cytoplasm and cell [19].

The study showed that the lipid content of the first variant (2.5 g/l NaCl) increased by 1.1 times compared to the control (12.82 g/l NaCl), the second variant (5.0 g/l NaCl) by 1.6 times, the third variant (10 g/l NaCl) by 1.9 times and the fourth variant (15 g/l NaCl) by 2.52 times.

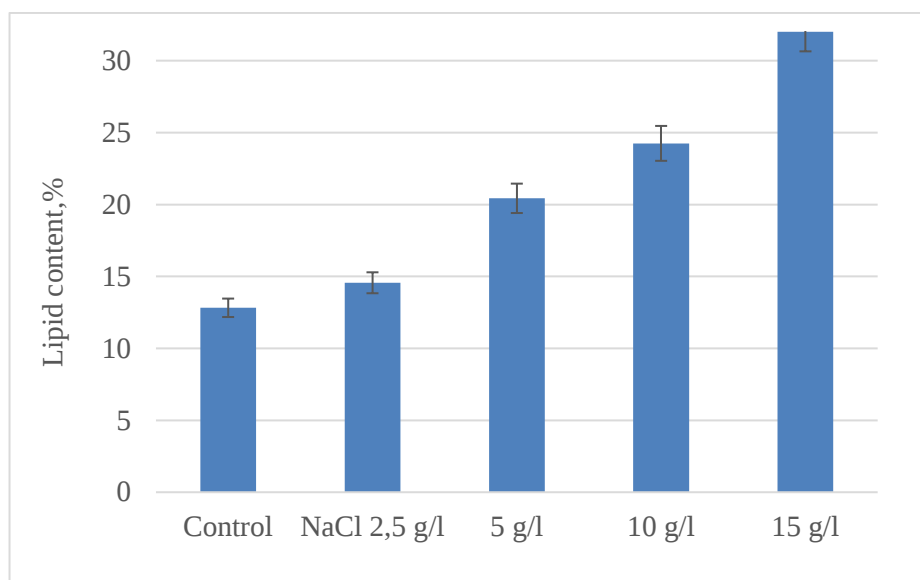


Figure 3 - Amount of lipid accumulation in the microalgae *S. obliquus* sp. B7 strain, %

High levels of total lipids were found in the biomass grown in the medium with the highest sodium chloride content (15 g/l). This indicates that lipid performance is directly proportional to the biomass of microalgae and lipid content. However, lipid content is independent of biomass composition, i.e. increases in biomass have little or no effect on lipid content [19].

Based on these experimental studies and considering the high lipid accumulation at high NaCl concentrations, it can be concluded that the *S. obliquus* sp. B7 strain has the ability to produce lipids. This could be an adaptive mechanism enabling microalgal cells to respond to higher osmolarity and maintain cell membrane fluidity and integrity at high NaCl concentrations. Therefore, the experimental study highlights the importance of the element NaCl, added to the nutrient medium, which is essential for the maintenance of microalgal viability, productivity, metabolic processes and reproduction.

Conclusion

Thus, the cell growth density of the experimental microalgae *S. obliquus* sp. B7 strain was measured in the grown medium (for 10 days) with the addition of various concentrations of sodium chlorine salt, and the results showed that: when compared to the control, the growth density of microalgae increased by 40% at a concentration of sodium chlorine 2.5 g/l; and at a concentration of sodium chlorine 5 g/l this indicator increased by 60%; at a concentration of 10 g/l, it was found that the following sodium chlorine increased by 80%, at a concentration of 15 g/l it was established that the growth density of sprouted microalgae decreased by 18%.

During the experiment it was found that the chlorophyll indicators in the first version increased by 1.3 and 1.5 times, in the second by 1.7 and 2.1 times, in the third by 2.2 and 3 times and in the fourth by 1.2 and 2.7 times compared to the observations (chlorophyll a - 1.17 mg/g, b - 0.64 mg/g).

The total lipid content of the microalgal biomass in the experiment was determined. It was found that the content of lipids in the biomass at NaCl concentrations of 2.5 and 5.0 g/l (lipids - 14.56 and 20.43%) increased by 1.1 and 1.6 times, respectively, compared to the observations (lipids - 12.82%), and this indicator increased by 1.9 and 2.52 times at NaCl concentrations of 10 and 15 g/l (lipids - 24.25 and 32.26%).

Funding

This research was funded by the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan (Grant No. AP09260077, AP14972916).

References:

- 1 Fodorpataki L., Bartha C. Salt stress tolerance of a freshwater green alga under different photon flux densities. *Stud. U.B.B. Biol.*, 2004, 49: 85–93.
- 2 Karyakin D.O. Optimizatsiya pitatel'noj sredy dlya kul'tury *Scenedesmus* sp. [Optimization of the nutrient medium for the culture of *Scenedesmus* sp.]. D.O. Karyakin, N.V. Mal'tsevsckaya, M.V. Novicheva [i dr.]. *Mezhdunarodnyj nauchno-issledovatel'skij zhurnal*, 2017, 8(62) (doi: 10.23670/IRJ.2017.62.081).
- 3 Makarova E.I., Oturina I.P., Sidiyakin A.I. Prikladnye aspekty primeneniya mikrovdoroslej – obitatelej vodnykh ehkositem [Applied aspects of the use of microalgae – inhabitants of aquatic ecosystems]. *Ekosistemy, ikh optimizatsiya i okhrana*, 2009, 20: 120–133.
- 4 Romanenko E.A., Kosakovskaya I.V., Romanenko P.A. Phytohormones of Microalgae: Biological role and involvement in the regulation of physiological processes. Pt I. Auxins, Absciscic Acid, Ethylene. *IJA*, 2015, 17(3): 275–289.
- 5 Dmitrovich N.P. Vliyanie fiziologicheskogo sostoyaniya mikrovdoroslej na sootnoshenie v ikh kletkakh razlichnykh pigmentov [The effect of the physiological state of microalgae on the ratio of various pigments in their cells]. N.P. Dmitrovich, T.V. Kozlova. *Vestn. Poles. gos. un-ta. Ser. prir. nauk*, 2015, 1: 40–43.
- 6 Anand V., Kashyap M., Samadhiya K., Ghosh A., Kiran B. Salinity driven stress to enhance lipid production in *Scenedesmus vacuolatus* : a biodiesel trigger. *Biomass Bioenergy*, 2019, 127: 105252 (doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.05.021).
- 7 Gaubert J., Payri C. E., Vieira C., Solanki H., Thomas O. P. High metabolic variation for seaweeds in response to environmental changes: a case study of the brown algae *Lobophora* in coral reefs, 2019, 993(9): 1–12 (doi.org/10.1038/s41598-018-38177-z).
- 8 Lartigue J., Neill A., Hayden B.L., Pulfer J., Cebrian J. The impact of salinity fluctuations on net oxygen production and inorganic nitrogen uptake by *Ulva lactuca* (*Chlorophyceae*). *Aquat. Bot.*, 2003, 75: 339–350.
- 9 Romanenko E.A., Romanenko P.A., Babenko L.M., Kosakovskaya I.V. Salt stress effects on growth and photosynthetic pigments' content in algoculture of *Acutodesmus dimorphus* (*Chlorophyta*). *Int. J. Algae*, 2017, 19: 271–282.
- 10 S. Lomadze, R. Kabirov, E. Purina, L. Safiullina, A. Ivanova. Vozdejstvie solej natriya na mikroskopicheskuyu zelenuyu vdorosl' *Scotiellopsis rubescens* [The effect of sodium salts on the microscopic green alga *Scotiellopsis rubescens*]. *ZHurnal «Sovremennaya nauka: aktual'nye problemy teorii i praktiki»*. *Seriya: Estestvennye i tekhnicheskie nauki*, 2018, 7: 14–17.
- 11 Gupta B., Huang B. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *Int J Genomics*, 2014 (doi: 10.1155/2014/701596).
- 12 Lawton R.J., De Nys R., Magnusson M.E., Paul N.A. The effect of salinity on the biomass productivity, protein and lipid composition of a freshwater macroalga. *Algal Research*, 2015: 213–220 (doi.org/10.1016/j.algal.2015.09.001).
- 13 Bleakley S., Hayes M. Algal proteins: extraction, application, and challenges concerning production. *Foods*, 2017, 6(5): 33 (doi.org/10.3390/foods6050033).
- 14 D.N. Pavlovna, K.A. Sergeevna, S.N. Anatol'evna Vliyanie pitatel'noj sredy i intensivnosti barbotazha na dinamiku fiziologicheskikh parametrov rosta khlorelly [Influence of nutrient medium and bubbling intensity on the dynamics of physiological parameters of chlorella growth]. *Vestnik Poleskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya prirodovedcheskikh nauk*, 2016, 2: 13–18.
- 15 ZHila N.O., Kalachyova G.S., Volova T.G. Vliyanie solenosti sredy na rost i biokhimicheskij sostav zelenoj mikrovdorosli *Botryococcus braunii* KütZ IPPAS H-252 [Influence of salinity of the medium on the growth and biochemical composition of the green microalgae *Botryococcus braunii* KütZ IPPAS H-252]. *ZHurnal SFU. Biologiya*, 2011, 4(3): 229–242.
- 16 Na Liu, Yiwen Mou, Kunyang Su, Xue Li, Tianxiang Lu, Wenbao Yan, Mingming Song, Ze Yu. The effect of salinity stress on the growth and lipid accumulation of *Scenedesmus quadricauda* FACHB-1297 under xylose mixotrophic cultivation. *Process Safety and Environmental Protection*, 2022, 165: 887–894, ISSN 0957-5820 (doi.org/10.1016/j.psep.2022.07.051).
- 17 Elloumi W., Jebali A., Maalej A., Chamkha M., Sayadi S. Effect of mild salinity stress on the growth, fatty acid and carotenoid compositions, and biological activities of the thermal freshwater microalgae *Scenedesmus* sp. *Biomolecules*, 2020, 10: 1515 (doi.org/10.3390/biom10111515).

18 Pancha I., Chokshi K., Mishra S. Enhanced biofuel production potential with nutritional stress amelioration through optimization of carbon source and light intensity in *Scenedesmus* sp. CCNM 1077. *Bioresour Technol.*, 2015, 179: 565–572 (doi:10.1016/j.biortech. 2014.12.079).

19 Tang D., Han W., Li P., Miao X., Zhong J. CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. *Bioresour. Technol.*, 2015, 102 (3): 3071–3076.