

БОТАНИКА

Научная статья

УДК 551.4 (476.13)

EDN EHSRDW

doi: 10.17072/1994-9952-2024-4-357-366



Динамика эффективности фиксации CO₂ штаммом *Bracteacoccus minor* при различной доступности азота

Анжелика Владимировна Кочубей¹, Ирина Андреевна Мальцева²,
Евгений Иванович Мальцев³, Александр Владимирович Яковийчук⁴✉

^{1,2,4} Мелитопольский государственный университет, Мелитополь, Россия

¹ KochubeyA92@yandex.ru

² maltseva-irina22@yandex.ru

³ Институт физиологии растений имени К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия, maltsev.ye@yandex.ru

⁴✉ alex.yakov1991@yandex.ru

Аннотация. Чрезмерное выделение и накопление углекислого газа в атмосфере является серьезной проблемой, имеющей ряд негативных экологических последствий, включая глобальное потепление. Для борьбы с этими последствиями используются различные подходы, при этом основное внимание уделяется сокращению выбросов углекислого газа и достижению нулевого углеродного баланса. В дополнение к сокращению добычи и использованию ископаемых видов топлива в качестве потенциального решения рассматривается биосеквестрация. Микроводоросли особенно перспективны в этом отношении, поскольку они могут служить поглотителями углекислого газа при использовании в биотехнологических процессах. Некоторые штаммы микроводорослей, например, из рода *Bracteacoccus* Терег, были изучены на предмет их способности синтезировать ценные продукты, хотя способность поглощать углекислый газ данными объектами не изучалась, в частности при изменении концентрации доступного азота в питательной среде. В ходе исследования было установлено, что высокие уровни биодоступного азота увеличивают среднюю скорость поглощения углекислого газа, в то время как максимальное поглощение происходит, когда культура выходит из lag-фазы. Скорость фиксации углекислого газа и его количество, поглощенное *Bracteacoccus minor* (MZ-Ch31), напрямую зависят от продуктивности биомассы и концентрации хлорофилла.

Ключевые слова: биосеквестрация, биомасса, продуктивность, хлорофилл, среда культивирования, BBM, 3N BBM, F, F2

Для цитирования: Динамика эффективности фиксации CO₂ штаммом *Bracteacoccus minor* при различной доступности азота / А. В. Кочубей, И. А. Мальцева, Е. И. Мальцев, А. В. Яковийчук // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2024. Вып. 4. С. 357–366. <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-4-357-366>.

Благодарности: публикация основана на исследованиях, выполненных в рамках темы «Секвестрационный потенциал микроводорослей и цианобактерий антропогенно-трансформированных экосистем Запорожской области в условиях возрастающей аридизации климата» (FRRS-2024-0003; № 124040100028-6).

BOTANY

Original article

Dynamics of CO₂ fixation efficiency by *Bracteacoccus minor* strain with different nitrogen availability

Angelika V. Kochubey¹, Irina A. Maltseva², Yevgenii I. Maltsev³,
Aleksandr V. Yakoviichuk⁴✉

^{1,2,4} Melitopol State University, Melitopol, Russia

¹ KochubeyA92@yandex.ru

² maltseva-irina22@yandex.ru

³ K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow, Russia, maltsev.ye@yandex.ru

⁴✉ alex.yakov1991@yandex.ru

Abstract. The excessive release and accumulation of carbon dioxide in the atmosphere is a major global issue with several negative environmental consequences, including global warming. Various approaches are used to eliminate these negative effects, with the main focus being on reducing carbon dioxide emissions and achieving a zero-carbon balance. In addition to decline fossil fuel mining and use, biosequestration is being considered as a potential solution. Microalgae are particularly promising in this regard, as they can serve as sinks for carbon dioxide when used in biotechnological processes. Some strains of microalgae from the genus *Bracteacoccus* Thereg, have been studied for their ability to synthesize valuable products. However, the ability to absorb carbon dioxide by these objects has not been studied, in particular, when the concentration of available nitrogen in the nutrient medium changes. The study found that high levels of bioavailable nitrogen increase the average rate of absorption of carbon dioxide, while maximum absorption occurs when the culture leaves the lag-phase. The rate of carbon dioxide fixation and its amount absorbed by *Bracteacoccus minor* (MZ-Ch31) directly depend on biomass productivity and chlorophyll concentration.

Keywords: bio-sequestration, biomass, productivity, chlorophyll, cultivation medium, BBM, 3N BBM, F, F2

For citation: Kochubey A. V., Maltseva I. A., Maltsev Ye. I., Yakoviichuk A. V. [Dynamics of CO₂ fixation efficiency by *Bracteacoccus minor* strain with different nitrogen availability]. *Bulletin of Perm University. Biology*. Iss. 4 (2024): pp. 357-366. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.17072/1994-9952-2024-4-357-366>.

Acknowledgments: the publication is based on research carried out within the framework of the topic "Sequestration potential of microalgae and cyanobacteria of anthropogenic-transformed ecosystems of the Zaporozhye region in conditions of increasing climate aridization" (FRRS-2024-0003; № 124040100028-6).

Введение

Увеличение объемов использования ископаемой энергии на основе углерода, уничтожение лесов и другие изменения в землепользовании привели к еще большему количеству отходов в виде парниковых газов, а также к снижению способности планеты поглощать их [White, 2012]. Проблема эмиссии углекислого газа в атмосферу приобретает все более глобальные масштабы [Li et al., 2023], что связано в первую очередь с индустриализацией, увеличением численности населения и использованием ископаемой энергии [White, 2012]. Накопление парниковых газов имеет ряд негативных экологических последствий, одно из которых – глобальное потепление [Venkata Mohan et al., 2016; Zhu et al., 2016; Sangeetha et al., 2022], а также ряд сопутствующих проблем, что в комплексе стало серьезной угрозой для экологической устойчивости и безопасности человечества в целом [Ma et al., 2022]. В связи с этим все более актуальной становится стратегия нулевого углеродного баланса [Ma et al., 2022]. По вопросам изменения климата и снижения выбросов парниковых газов разработан ряд регламентирующих документов международного статуса, в которых Российская Федерация является стороной взаимодействия [Cherepovitsyna, Dorozhkina, Kostyleva, 2023].

Большие перспективы по снижению эмиссии углекислого газа может иметь биосеквестрация. Она предполагает возможность снижения эмиссии углекислого газа путем восстановления различного рода экосистем или введения в эксплуатацию не возделываемых территорий, акваторий и др. Однако данные мероприятия обычно продолжительны во времени, а для лесных экосистем требуют десятилетий. Ввиду данных ограничений микроводоросли выглядят как довольно перспективный объект биосеквестрации, а их использование в данном контексте становится все шире [Cheah et al., 2015; Zhu et al., 2016; Ma et al., 2022; Zhao et al., 2022; Li et al., 2023]. Известен положительный опыт применения некоторых штаммов микроводорослей для снижения выбросов CO₂ с дымовыми газами. Поглощение CO₂ клетками водорослей усиливается при синтезе вторичных метаболитов [Venkata Mohan et al., 2016]. Спектр синтезируемых микроводорослями метаболитов очень широк [Barkia, Saari, Manning, 2019; Dolganyuk et al., 2020; Coulombier, Jauffrais, Lebouvier, 2021; Ramos-Romero et al., 2021]. Объемы биомассы микроводорослей, выращиваемой для целей биотехнологических производств, постоянно растут.

Широко распространенной практикой активизации биосинтеза ценных метаболитов является культивирование в стрессовых условиях, в том числе выращивание в средах с ограниченной доступностью азота [Rios et al., 2015; Mudimu et al., 2017; Zhang et al., 2018; Janssen, Wijffels, Barbosa, 2019; Chen et al., 2022; Şirin, Serdar, 2024]. И хотя накопление вторичных метаболитов сопряжено с усилением поглощения CO₂, сами процессы биосеквестрации при ограничении азота исследованы мало [Faroq, 2022]. Однако они представляют значительный интерес с точки зрения достижения нулевого углеродного баланса.

В качестве биотехнологических объектов интенсивно исследуются представители рода *Bracteacoccus* Thereg, что связано с их способностью синтезировать при определенных условиях культивирования каротиноиды, липиды и ценные жирные кислоты [Ratha et al., 2013; Minyuk, Chelebieva, Chubchikova, 2014; Mamaeva et al., 2018; Maltsev et al., 2020; Chekanov et al., 2022; Lukavský et al., 2022; Malik et al., 2022]. В этом аспекте один из представителей – *Bracteacoccus minor* (Chodat) Petrova исследован довольно слабо, хотя является космополитным видом и довольно широко распространен. Эффективность поглощения CO₂ данным видом пока не изучалась, хотя его широкое распространение в сочетании с биотехнологическим потенциалом может стать основой разработки проектов, объединяющих в себе решение проблем секвестрации углекислого газа и получения ценных метаболитов в промышленных масштабах.

Цель – изучить динамику биофиксации CO₂ штаммом *Bracteacoccus minor* (MZ-Ch31) в условиях различной доступности азотного питания.

Материалы и методы исследований

Выделенный из почвы штамм *Bracteacoccus minor* MZ-Ch31 (насаждение *Robinia pseudoacacia* L., парк им. Горького, г. Мелитополь, Россия), выращивали на стандартной среде BBM (Bischoff and Bold, 1963). Штамм в культуре поддерживается при $15\pm 2^\circ\text{C}$ в пробирках, освещенных белыми диодами с интенсивностью света 120 Лк и режимом освещения 16:8 ч (свет/темнота) на среде BBM. Для эксперимента клетки инокулировали в 150 мл свежей среды BBM. При наступлении экспоненциальной фазы роста (через 5 дней) эту культуру использовали для постановки эксперимента. В качестве реакторов использовались плоскодонные колбы объемом 250 мл с герметичными крышками и системой обеспечения постоянства состава газовой смеси в колбе. Культуры аэрировали воздухом с помощью аквариумного компрессора Hailea ACO-308 (Hailea, China). Воздух подавали через стеклянную трубку с внутренним диаметром 4 мм со скоростью 0.1 л мин^{-1} . Для предотвращения бактериального загрязнения культуры использовали бактериальный вентиляционный фильтр (GSV, Italy) диаметром 40 мм, который устанавливали в разрыв между компрессором и стеклянной трубкой. Это позволило поддерживать культуру в альгологически чистом состоянии. Выращивание штамма проводили в стандартных условиях: интенсивность света – 5000 Лк; режим освещения – 16:8 ч (свет/темнота); температура окружающей среды – $20\pm 1^\circ\text{C}$. Начальная концентрация – 2.89×10^5 клеток мл^{-1} .

Для постановки эксперимента использовали стандартную и модифицированную по содержанию азота среду BBM. Исследовали 4 варианта питательной среды, обозначенные как группа-1, группа-2, группа-3, группа-4. Группы отличались между собой содержанием в питательной среде общего азота (N) в форме нитратов (NO_3^-). Концентрации подбирались в соответствии с содержанием N в широко применяемых средах культивирования (3N BBM, BBM, F, F2). Соответственно концентрация азота в группах составляла: группа-1 – 0.124 г л^{-1} ; группа-2 – 0.04 г л^{-1} ; группа-3 – 0.025 г л^{-1} ; группа-4 – 0.012 г л^{-1} . Группа-2 выступала в качестве контрольной, т.к. имела стандартное для среды BBM содержание азота.

Плотность биомассы (B) определяли гравиметрически, путем выдерживания 1 мл биомассы в сушильном шкафу на протяжении 6 часов при 120°C и последующим взвешиванием сухого остатка.

Рост микроводорослей оценивали путем измерения сухого веса (CB). Измеренный сухой вес выражали в г л^{-1} . Объемная продуктивность биомассы (P) рассчитывалась по формуле в соответствии с источником [Morais, Costa, 2007]:

$$P (\text{г СВ л}^{-1} \text{ день}^{-1}) = \frac{X_2 - X_1}{t_2 - t_1},$$

где X_1 – сухой вес (г СВ л^{-1}) во время t_1 (день), и X_2 – сухой вес (г СВ л^{-1}) во время t_2 (день).

Биофиксацию CO_2 (F) рассчитывали на продуктивность биомассы (P) по уравнению [Morais, Costa, 2007] с уточнениями:

$$F = P \frac{C_c}{100} \frac{M(\text{CO}_2)}{M(C)},$$

где P – продуктивность биомассы ($\text{г СВ л}^{-1} \text{ день}^{-1}$), C_c – содержание C в биомассе (%), M (CO_2), (MC) – молярная масса CO_2 и C соответственно.

Содержание углерода в биомассе *Bracteacoccus minor* принимали равным 48.5%, что соответствует среднему значению для различных зеленых микроводорослей [Harwati, Willke, Vorlop, 2018].

Содержания хлорофиллов -a, -b (Chl a, b) определяли по методу [Yang et al., 1998]. Экстракцию пигментов из микроводорослей проводили 80.0% ацетоном. Для этого 10 мг отделенных от среды центрифугированием (10 мин. при 3000 об/мин^{-1} , 530 г) клеток подвергали 3-кратному замораживанию-размораживанию с целью разрушения клеточных оболочек. После чего добавляли 4 мл ацетона с целью создания соотношения биоматериал-экстрагент 1:40 (масса: объем) и дополнительно гомогенизировали биомассу путем растирания с кварцевым песком. Полученную смесь герметично закрывали и оставляли на 24 часа при температуре 25°C в темном месте для полной экстракции пигментов. Далее ацетоновый экстракт отделяли от осадка центрифугированием при $10000 \text{ об/мин}^{-1}$ (6000 г) и температуре 4°C на протяжении 10 мин. Анализировали интенсивность поглощения экстракта пигментов на спектрофотометре Ulab 102 (China) при длинах волн: 663.6; 646.6 нм, что соответствует максимуму поглощения для Chl a и Chl b. Расчеты проводили по следующей формуле:

$$\text{Chl } a + b = 17.76A_{646.6} + 7.34A_{663.6} (\mu\text{г мл}^{-1}).$$

Содержание суммы хлорофиллов выражали в мг г^{-1} СВ путем преобразования расчетных единиц $\mu\text{г мл}^{-1}$ с учетом коэффициента разведения и навески сухой биомассы.

Все измерения проводились минимум в трех повторностях, на графиках и в таблицах приведены средние величины и ошибки средней которые высчитывали по ANOVA с применением встроенных функций программы Microsoft Excel (v. 1903). Достоверными считали различия при $p \leq 0.05$. Корреляционный анализ проводили с применением встроенной функции попарных корреляций Пирсона в программном обеспечении IBM SPSS Statistics v. 27. Достоверными считали корреляции при уровне значимости $p \leq 0.10$.

Результаты

В ходе эксперимента плотность биомассы *Bracteacoccus minor* (MZ-Ch31) в контрольной группе (группа-2) на 15 сутки культивирования достигла 0.77 г СВ л^{-1} , максимальный прирост биомассы наблюдался между 4–5 и 5–8 сутками (0.11 и 0.14 г СВ л^{-1}) (рис. 1б). Более низкое содержание доступного азота в питательной среде (3 и 4 группа) сопровождалось уменьшением накопления биомассы штаммом и удлинением lag-фазы (рис. 1в, 1г). Наиболее сильно снижалась концентрация биомассы при минимальной концентрации азота в среде культивирования (группа-4) и составляла $-0.57 \text{ г СВ л}^{-1}$, при этом lag-фаза была максимальной и длилась 8 суток (рис. 1г).

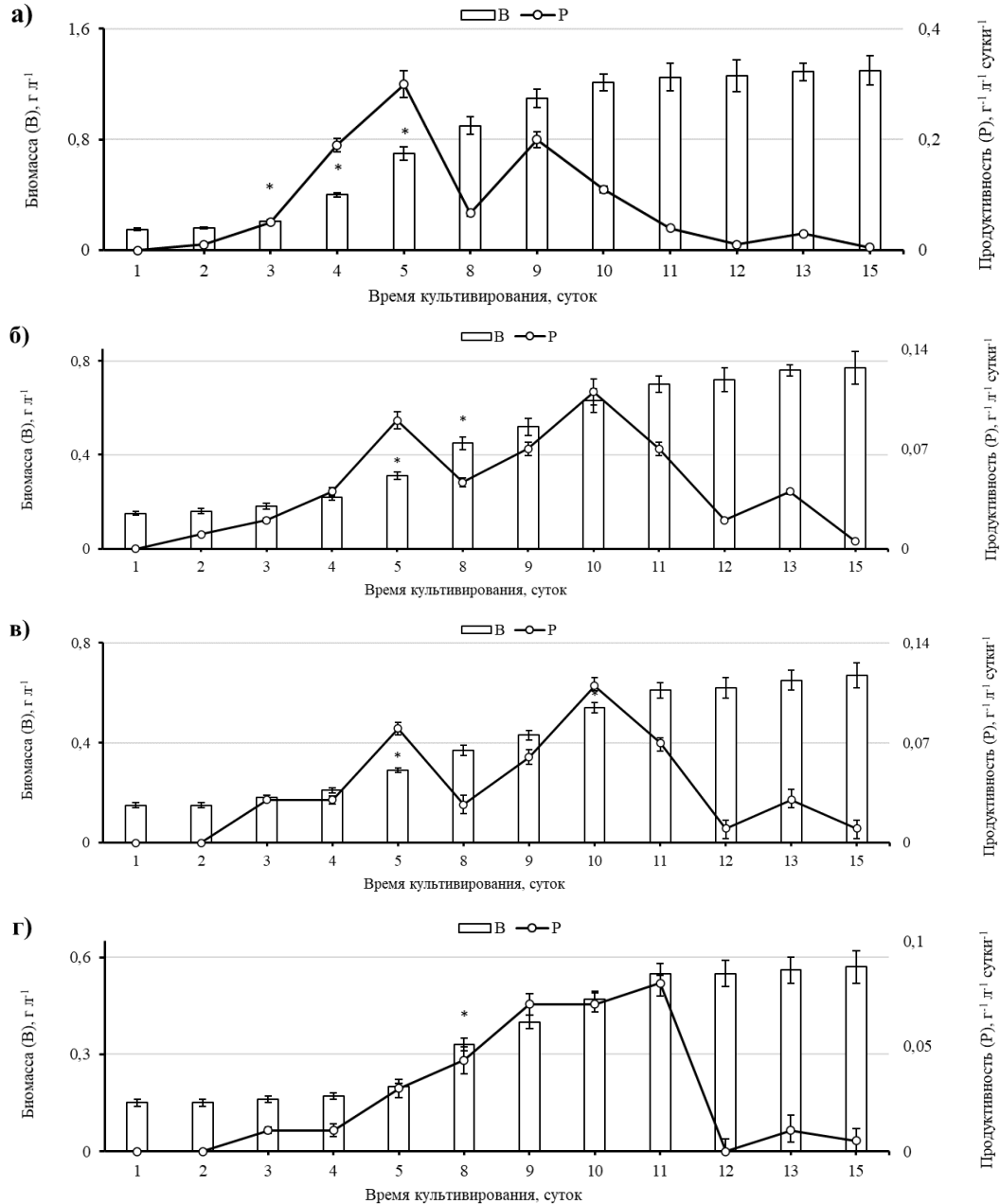


Рис. 1. Скорость роста (B), продуктивность (P) и биофиксация CO_2 (F) *Bracteacoccus minor* (MZ-Ch31) при культивировании в различных вариантах эксперимента:

а) – 0.124 ; б) – 0.04 ; в) – 0.025 ; г) – 0.012 г л^{-1} . * – разница достоверна относительно предыдущего значения на уровне $p \leq 0.05$

[Growth rate (B), productivity (P) and bio-fixation of CO_2 (F) *Bracteacoccus minor* (MZ-Ch31) during cultivation in various experimental variants:

а) – 0.124 ; б) – 0.04 ; в) – 0.025 ; г) – 0.012 g L^{-1} . Note: * – the difference is significant relative to the previous value at the $p \leq 0.05$ level]

В группе-4 между 11–12 сутками культивирования прирост биомассы не был отмечен, а максимальный достоверный прирост (0.13 г СВ л^{-1} ; $p \leq 0.05$) установлен между 5 и 8 сутками. Стоит отметить, что по мере снижения концентрации азота достоверные приросты биомассы смещаются на более поздние сроки.

Ограничение доступности азота в среде лимитирует рост и деление клеток, приводит к удлинению lag-фазы, сокращению логарифмической фазы и выходу на стационарную стадию роста культуры раньше относительно контроля. При повышении концентрации азота до 0.124 г л^{-1} (группа-1), что в 3.1 раза больше относительно стандартной ВВМ, отмечено наибольшее накопление биомассы среди всех исследованных экспериментальных групп. Максимальный прирост биомассы был между 4–5 сутками и составлял 0.30 г СВ л^{-1} ($p \leq 0.05$). Также в группе-1 установлена максимальная в эксперименте плотность биомассы 1.30 г СВ л^{-1} и самая короткая lag-фаза – 3 суток. Следует отметить, что плотность биомассы имела прямую зависимость от содержания азота в среде культивирования, что подтверждено коэффициентом корреляции ($r=1.0$; $p \leq 0.05$).

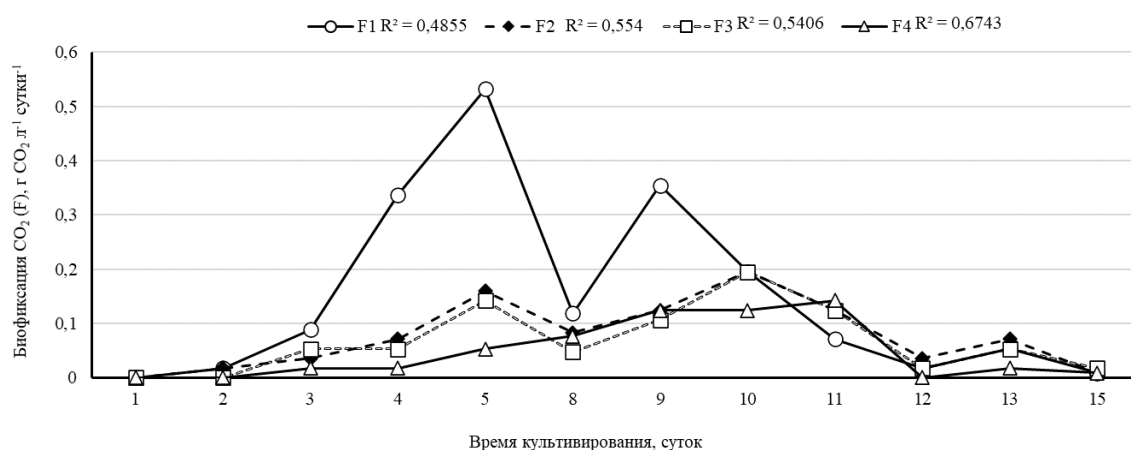


Рис. 2. Биофиксация CO₂ (F) *Bracteacoccus minor* (MZ-Ch31) при культивировании в различных вариантах эксперимента:

концентрация азота в среде: F1 – 0.124; F2 – 0.04; F3 – 0.025; F4 – 0.012 г л⁻¹. R² – величина достоверности аппроксимации (полиномиальная линия тренда)

[Bio-fixation of CO₂ (F) *Bracteacoccus minor* (MZ-Ch31) during cultivation in various experimental variants:

Nitrogen concentration in medium: F1 – 0.124; F2 – 0.04; F3 – 0.025; F4 – 0.012 g L⁻¹. Note: R² – approximation accuracy (polynomial trend line)]

Максимальная среди исследованных групп продуктивность биомассы установлена для группы-1 с наибольшим содержанием азота в питательной среде. Она достигала максимального значения ($0.3 \text{ г СВ л}^{-1} \text{ сутки}^{-1}$) на 5 день культивирования с дальнейшим снижением до минимума в конце эксперимента. В стандартной среде ВВМ (группа-2) максимум продуктивности составлял $0.11 \text{ г СВ л}^{-1} \text{ сутки}^{-1}$, так же, как и в группе-3. В эксперименте с минимальным количеством азота в среде (группа-4) максимум продуктивности приходился на 10 сутки – $0.08 \text{ г СВ л}^{-1} \text{ сутки}^{-1}$.

Стоит отметить, что при культивировании штамма в экспериментальных группах 1 – 3 наблюдался рост продуктивности с двумя пиками, в группе-1 – на 5 и 9 сутки, в группе-2 – на 5 и 10 сутки. Далее происходило резкое снижение продуктивности, связанное, очевидно, с нарастающим истощением питательных компонентов в среде и замедлением роста и деления клеток. В группе-4 пик продуктивности приходится на 11 сутки с дальнейшим резким снижением.

Ежедневные показатели биофиксации CO₂ в контрольной группе (группа-2) снижались по мере старения культуры (рис. 2). Максимальная эффективность поглощения CO₂ штаммом в стандартной среде ВВМ (группа-2) наблюдалась на 10 сутки и составляла $0.2 \text{ г CO}_2 \text{ л}^{-1} \text{ сутки}^{-1}$, а минимальная – на 2 и 15 сутки культивирования, что связано с низким приростом биомассы. В группе-1 максимум фиксации CO₂ составлял $0.53 \text{ г CO}_2 \text{ л}^{-1}$ на 5 сутки роста. Это самый высокий показатель в эксперименте (рис. 1а). В группе-4 максимальное поглощение было значительно ниже – всего $0.14 \text{ г CO}_2 \text{ л}^{-1} \text{ сутки}^{-1}$ и отмечено на 11 сутки культивирования.

Средняя скорость биофиксации углекислого газа за весь период культивирования снижалась с уменьшением концентрации азота в питательной среде ($r=1.0$; $p \leq 0.05$) (табл. 1). В группе-4 она была наименьшей. Также минимальным в этой группе было и общее количество утилизованного за 14 суток эксперимента CO₂. Относительно контрольной группы данные показатели были меньше в 1.6 раз. Повышение концентрации азота в питательной среде приводит к повышению как средней скорости биофиксации CO₂, так и общего количества поглощенного углекислого газа почти в 2 раза относительно стандартной среды ВВМ.

Таблица 1

Биомасса и биофиксация CO₂ *Bracteacoccus minor* MZ-Ch31 в различных вариантах эксперимента (M±SD; n = 3)

[Biomass and bio-fixation of CO₂ *Bracteacoccus minor* MZ-Ch31 in various experimental variants (M±SD; n = 3)]

Варианты эксперимента	Биомасса на 14 суток, г СВ л ⁻¹	Содержание хлорофиллов (a, b) на 14 суток, мг г ⁻¹ СВ	Средняя скорость биофиксации CO ₂ за 14 суток, г CO ₂ л ⁻¹ день ⁻¹	Утилизированный CO ₂ за 14 суток, г л ⁻¹	Содержание азота в среде, мг л ⁻¹
Группа-1	1.3±0.03 [#]	2.34±0.24 ^{*#}	0.16	1.8±0.17 [#]	0.124
Группа-2 (ВВМ)	0.77±0.17 [*]	1.72±0.18 [*]	0.08	0.93±0.06 [*]	0.040
Группа-3	0.67±0.07	1.13±0.12 ^{*#}	0.07	0.81±0.06	0.025
Группа-4	0.57±0.03 [#]	0.58±0.07 ^{*#}	0.05	0.58±0.05 ^{*#}	0.012

Примечание. * – разница достоверна относительно предыдущей группы на уровне p≤0.05; # – разница достоверна относительно группы-2 (ВВМ) на уровне p≤0.05.

Содержание хлорофиллов (a, b) определяли в конце эксперимента на 14 суток. Стоит отметить, что снижение концентрации азота в среде привело к уменьшению содержания хлорофиллов (r=1.000; p≤0.01). Результаты корреляционного анализа показали (табл. 2), что содержание хлорофиллов может быть одним из показателей секвестрационных характеристик штамма, так как для *Bracteacoccus minor* MZ-Ch31 установлена прямая (достоверная) корреляционная зависимость между концентрацией хлорофилла, параметрами биофиксации и утилизированного CO₂. Это обусловлено тем, что фотосинтез сопровождается поглощением углекислого газа и является основным метаболическим шлюзом, обеспечивающим накопление прекурсоров для биосинтеза первичных и вторичных метаболитов, необходимых для роста и деления клеток.

Обсуждение

Скорость поглощения CO₂ для *Bracteacoccus minor* (MZ-Ch31) хорошо коррелирует с ростом биомассы, поскольку более высокое поглощение CO₂ в фотоавтотрофных условиях приводит к высокой продуктивности биомассы. Такая же зависимость установлена для *Chlorella* sp. и, как предполагают авторы, заметное увеличение продуктивности биомассы может быть объяснено усиленной фотосинтетической активностью и функцией ключевых фотоавтотрофных ферментов [Butti, Venkata Mohan, 2018]. Скорость биофиксации углекислого газа у *Bracteacoccus minor* MZ-Ch31 имела прямую зависимость от концентрации хлорофиллов в клетке (r = 0.918; p≤0.10). Азотное голодание в качестве инструмента повышения биофиксации CO₂ неэффективно, поскольку приводит к снижению общего количества биомассы, а также количества хлорофиллов.

Таблица 2

Результаты корреляционного анализа

[The results of the correlation analysis]

Показатели		B	Chl	F	CU	N
B	Корреляция Пирсона	1	0.918 [*]	0.999 ^{***}	0.999 ^{***}	1.000 ^{***}
	знач. (двухсторонняя)		0.082	0.001	0.001	<0.001
Chl	Корреляция Пирсона	0.918 [*]	1	0.918 [*]	0.923 [*]	0.908 [*]
	знач. (двухсторонняя)	0.082		0.082	0.077	0.092
F	Корреляция Пирсона	0.999 ^{***}	0.918 [*]	1	1.000 ^{***}	0.998 ^{**}
	знач. (двухсторонняя)	0.001	0.082		<0.001	0.002
CU	Корреляция Пирсона	0.999 ^{***}	0.923 [*]	1.000 ^{***}	1	0.997 ^{**}
	знач. (двухсторонняя)	0.001	0.077	0		0.003
N	Корреляция Пирсона	1.000 ^{***}	0.908 [*]	0.998 ^{**}	0.997 ^{**}	1
	знач. (двухсторонняя)	<0.001	0.092	0.002	0.003	

Примечания: B – биомасса *Bracteacoccus minor* MZ-Ch31 на 14 суток, г СВ л-1; Chl – содержание хлорофиллов (a, b) на 14 суток, мг г-1 СВ; F – средняя скорость биофиксации CO₂ за 14 суток, г CO₂ л-1 день-1; CU – утилизированный CO₂ за 14 суток, г л-1; N – содержание азота в питательной среде, мг л-1; n = 4. * – корреляция достоверна на уровне p≤0.10; ** – корреляция достоверна на уровне p≤0.05; *** – корреляция достоверна на уровне p≤0.01.

Максимальная описанная на данный момент способность поглощать углекислый газ установлена для *Chlorella vulgaris* – от 3.45 г CO₂ л⁻¹ день⁻¹ до 6.24 г CO₂ л⁻¹ день⁻¹, *Aphanothece microscopica* Nageli – 5.44

г CO₂ л⁻¹ день⁻¹ [Fan et al., 2008; Ho et al., 2011]. Также высокие значения отмечены для *Nannochloropsis gaditana* – 1.7 г CO₂ л⁻¹ день⁻¹ [Adamczyk, Lasek, Skawińska, 2016], *Synechocystis aquatilis* SI-2 – 1.5 г CO₂ л⁻¹ день⁻¹ [Murakami, Ikenouchi, 1997]. В среднем биофиксация CO₂ для представителей микроводорослей различных филогенетических и экологических групп варьирует от 0.02 до 6.24 г CO₂ л⁻¹ день⁻¹ [Ho et al., 2011]. Большая вариативность данных может быть следствием как индивидуальных особенностей видов водорослей, так и условий культивирования, включая исходную концентрацию биомассы водорослей. Для *Bracteacoccus minor* (MZ-Ch31) в условиях нашего эксперимента наибольшее поглощение углекислого газа было 0.53 г CO₂ л⁻¹ день⁻¹, среднее – 0.16 г CO₂ л⁻¹ день⁻¹. Дальнейшие исследования позволяют получить более полные характеристики биофиксации CO₂ штаммом.

Заключение

Скорость биофиксации и общее количество поглощенного CO₂ *Bracteacoccus minor* (MZ-Ch31) зависит от концентрации азота в питательной среде. Повышение доступности азота увеличивает среднюю скорость поглощения углекислого газа с 0.05 г CO₂ л⁻¹ сутки⁻¹ до 0.16 г CO₂ л⁻¹ сутки⁻¹. Максимум поглощения углекислого газа соответствовал 0.53 г CO₂ л⁻¹ сутки⁻¹ и был достигнут в момент выхода культуры с lag-фазы. Скорость биофиксации и количество поглощенного углекислого газа *Bracteacoccus minor* (MZ-Ch31) прямо зависит от концентрации биомассы ($r = 0.999$ и $r = 0.999$; $p < 0.01$) и хлорофиллов ($r = 0.918$ и 0.923 ; $p < 0.10$).

Список источников

1. Adamczyk M., Lasek J., Skawińska A. CO₂ biofixation and growth kinetics of *Chlorella vulgaris* and *Nannochloropsis gaditana* // Applied Biochemistry and Biotechnology. 2016. Vol. 179, № 7. P. 1248–1261.
2. Barkia I., Saari N., Manning S.R. Microalgae for high-value products towards human health and nutrition // Marine drugs. 2019. Vol. 17, № 5. Art. 304.
3. Butti S.K., Venkata Mohan S. Photosynthetic and lipogenic response under elevated CO₂ and H₂ conditions – high carbon uptake and fatty acids unsaturation // Frontiers in Energy Research. 2018. Vol. 6. Art. 27.
4. Cheah W.Y. et al. Biosequestration of atmospheric CO₂ and flue gas-containing CO₂ by microalgae // Bioresource technology. 2015. Vol. 184. P. 190–201.
5. Chen X. et al. Nitrogen starvation enhances the production of saturated and unsaturated fatty acids in *Aurantiochytrium* sp. PKU#SW8 by regulating key biosynthetic genes // Marine drugs. 2022. Vol. 20, № 10. Art. 621.
6. Chekanov K. et al. Differential responses to UV-A stress recorded in carotenogenic microalgae *Haematococcus rubicundus*, *Bracteacoccus aggregatus*, and *Deasonia* sp. // Plants. 2022. Vol. 11, № 11. Art. 1431.
7. Cherepovitsyna A.A., Dorozhkina I.P., Kostyleva V.N. Sequestration and use of carbon dioxide: the essence of technology and approaches to the classification of the projects // Russian Journal of Industrial Economics. 2023. Vol. 15, № 4. P. 473–487.
8. Coulombier N., Jauffrais T., Lebouvier N. Antioxidant compounds from microalgae: a review // Marine drugs. 2021. Vol. 19, № 10. Art. 549.
9. Dolganyuk V. et al. Microalgae: A promising source of valuable bioproducts // Biomolecules. 2020. Vol. 10, № 8. Art. 1153.
10. Fan L.-H. et al. Evaluation of a membrane-sparged helical tubular photobioreactor for carbon dioxide biofixation by *Chlorella vulgaris* // Journal of Membrane Science. 2008. Vol. 325, № 1. P. 336–345.
11. Farooq W. Maximizing energy content and CO₂ bio-fixation efficiency of an indigenous isolated microalga *Parachlorella kessleri* HY-6 through nutrient optimization and water recycling during cultivation // Front. Bioeng. Biotechnol. 2022. Vol. 10, № 9. Art. 804608.
12. Harwati T.U., Willke T., Vorlop K.D. Characterization of the lipid accumulation in a tropical freshwater microalgae *Chlorococcum* sp. // Bioresource Technology. 2018. Vol. 121. P. 54–60.
13. Ho S.-H. et al. Perspectives on microalgal CO₂-emission mitigation systems – A review // Biotechnology Advances. 2011. Vol. 29, № 2. P. 189–198.
14. Janssen J.H., Wijffels R.H., Barbosa M.J. Lipid production in *Nannochloropsis gaditana* during nitrogen starvation // Biology. 2019. Vol. 8, № 1. Art. 5.
15. Li S. et al. Production of sustainable biofuels from microalgae with CO₂ bio-sequestration and life cycle assessment // Environmental research. 2023. Vol. 227. Art. 115730.
16. Lukavský J. et al. The alga *Bracteacoccus bullatus* (Chlorophyceae) isolated from snow, as a source of oil comprising essential unsaturated fatty acids and carotenoids // Journal of Applied Phycology. 2022. In Review. preprint. DOI: 10.21203/rs.3.rs-2125780/v1.
17. Ma Z. et al. Microalgae-based biotechnological sequestration of carbon dioxide for net zero emissions // Trends in biotechnology. 2022. Vol. 40, № 12. P. 1439–1453.

18. Malik S. et al. Characterization of a newly isolated self-flocculating microalga *Bracteacoccus pseudominor* BERC09 and its evaluation as a candidate for a multiproduct algal biorefinery // *Chemosphere*. 2022. Vol. 304. Art. 135346.
19. Maltsev Y.I. et al. Biotechnological potential of a new strain of *Bracteacoccus bullatus* (Sphaeropleales, Chlorophyta) as a promising producer of omega-6 polyunsaturated fatty acids // *Russian Journal of Plant Physiology*. 2020. Vol. 67. P. 185–193.
20. Mamaeva A. et al. Simultaneous increase in cellular content and volumetric concentration of lipids in *Bracteacoccus bullatus* cultivated at reduced nitrogen and phosphorus concentrations // *Journal of Applied Phycology*. 2018. Vol. 30. P. 2237–2246.
21. Minyuk G.S., Chelebieva E.S., Chubchikova I.N. Secondary carotenogenesis of the green microalga *Bracteacoccus minor* (Chodat) Petrova (Chlorophyta) in a two-stage culture // *International Journal on Algae*. 2014. Vol. 16, № 4. P. 354–368.
22. Morais M.G., Costa J.A.V. Carbon dioxide mitigation with *Chlorella kessleri*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina* sp. cultivated in flasks and vertical tubular photobioreactors // *Biotechnol. Lett.* 2007. Vol. 29. P. 1349–1352.
23. Mudimu O. et al. Screening of microalgae and cyanobacteria strains for α -tocopherol content at different growth phases and the influence of nitrate reduction on α -tocopherol production // *Journal of Applied Phycology*. 2017. Vol. 29. P. 2867–2875.
24. Murakami M., Ikenouchi M. The biological CO₂ fixation and utilization project by rite (2) – screening and breeding of microalgae with high capability in fixing CO₂ – // *Energy Conversion and Management*. 1997. Vol. 38. P. 493–497.
25. Ramos-Romero S. et al. Edible microalgae and their bioactive compounds in the prevention and treatment of metabolic alterations // *Nutrients*. 2021. Vol. 13, № 2. Art. 563.
26. Ratha S.K. et al. Exploring nutritional modes of cultivation for enhancing lipid accumulation in microalgae: Exploring nutritional modes of cultivation // *Journal of Basic Microbiology*. 2013. Vol. 53, № 5. P. 440–450.
27. Rios L.F. et al. Nitrogen starvation for lipid accumulation in the microalga species *Desmodesmus* sp. // *Applied biochemistry and biotechnology*. 2015. Vol. 175, № 1. P. 469–476.
28. Sangeetha M. et al. Biosequestration of carbon dioxide using carbonic anhydrase from novel *Streptomyces kunmingensis* // *Archives of microbiology*. 2022. Vol. 204, № 5. Art. 270.
29. Şirin P.A., Serdar S. Effects of nitrogen starvation on growth and biochemical composition of some microalgae species // *Folia microbiologica*. 2024. Vol. 69, № 4. P. 889–902.
30. Venkata Mohan S. et al. A circular bioeconomy with biobased products from CO₂ sequestration // *Trends in biotechnology*. 2016. Vol. 34, № 6. P. 506–519.
31. White W.A. *Biosequestration and ecological diversity*. Boca Raton: CRC Press, 2012. 250 p.
32. Yang C.-M. et al. Methods for the determination of the chlorophylls and their derivatives // *Taiwania*. 1998. Vol. 43, № 2. P. 116–122.
33. Zhang W.W. et al. Enhancing astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis* by coupled light intensity and nitrogen starvation in column photobioreactors // *Journal of microbiology and biotechnology*. 2018. Vol. 28, № 12. P. 2019–2028.
34. Zhao Y. et al. Screening and application of *Chlorella* strains on biosequestration of the power plant exhaust gas evolutions of biomass growth and accumulation of toxic agents // *Environmental science and pollution research international*. 2022. Vol. 29, № 5. P. 6744–6754.
35. Zhu X. et al. An informatics-based analysis of developments to date and prospects for the application of microalgae in the biological sequestration of industrial flue gas // *Applied microbiology and biotechnology*. 2016. Vol. 100, № 5. P. 2073–2082.

References

1. Adamczyk M., Lasek J., Skawińska A. CO₂ biofixation and growth kinetics of *Chlorella vulgaris* and *Nannochloropsis gaditana*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. V. 179, No. 7 (2016): pp. 1248-1261.
2. Barkia I., Saari N., Manning S.R. Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. *Marine drugs*. V. 17, No. 5 (2019). Art. 304.
3. Butti S.K., Venkata Mohan S. Photosynthetic and lipogenic response under elevated CO₂ and H₂ conditions – high carbon uptake and fatty acids unsaturation. *Frontiers in Energy Research*. V. 6 (2018). Art. 27.
4. Cheah W.Y., Show P.L., Chang J.S., Ling T.C., Juan J.C. Biosequestration of atmospheric CO₂ and flue gas-containing CO₂ by microalgae. *Bioresource technology*. V. 184 (2015): pp. 190-201.
5. Chen X., He Y., Liu L., Zhu X., Sen B., Wang G. Nitrogen starvation enhances the production of saturated and unsaturated fatty acids in *Aurantiochytrium* sp. PKU#SW8 by regulating key biosynthetic genes. *Marine drugs*. V. 20, No. 10 (2022): Art. 621.

6. Chekanov K., Shibzukhova K., Lobakova E., Solovchenko A. Differential responses to UV-A stress recorded in carotenogenic microalgae *Haematococcus rubicundus*, *Bracteacoccus aggregatus*, and *Deasonia* sp. *Plants*. V. 11, No. 11 (2022). Art. 1431.
7. Cherepovitsyna A.A., Dorozhkina I.P., Kostyleva V.N. Sequestration and use of carbon dioxide: the essence of technology and approaches to the classification of the projects. *Russian Journal of Industrial Economics*. V. 15, No. 4 (2023): pp. 473-487.
8. Coulombier N., Jauffrais T., Lebouvier N. Antioxidant compounds from microalgae: a review. *Marine drugs*. V. 19, No. 10 (2021). Art. 549.
9. Dolganyuk V., Belova D., Babich O., Prosekov A., Ivanova S., Katserov D., Patyukov N., Sukhikh S. Microalgae: A promising source of valuable bioproducts. *Biomolecules*. V. 10, No. 8 (2020). Art. 1153.
10. Fan L.-H., Zhang Y.-T., Zhang L., Chen H.-L. Evaluation of a membrane-sparged helical tubular photobioreactor for carbon dioxide biofixation by *Chlorella vulgaris*. *Journal of Membrane Science*. V. 325, No. 1 (2008): pp. 336-345.
11. Farooq W. Maximizing energy content and CO₂ bio-fixation efficiency of an indigenous isolated microalga *Parachlorella kessleri* HY-6 through nutrient optimization and water recycling during cultivation. *Front. Bioeng. Biotechnol.* V. 10, No. 9 (2022). Art. 804608.
12. Harwati T.U., Willke T., Vorlop K.D. Characterization of the lipid accumulation in a tropical freshwater microalgae *Chlorococcum* sp. *Bioresource Technology*. V. 121 (2018): pp. 54-60.
13. Ho S.-H., Chen C.-Y., Lee D.-J., Chang J.-S. Perspectives on microalgal CO₂-emission mitigation systems – A review. *Biotechnology Advances*. V. 29, No. 2 (2011): pp. 189-198.
14. Janssen J.H., Wijffels R.H., Barbosa M.J. Lipid production in *Nannochloropsis gaditana* during nitrogen starvation. *Biology*. Vol. 8, No. 1 (2019). Art. 5.
15. Li S., Chang H., Zhang S., Ho S.H. Production of sustainable biofuels from microalgae with CO₂ bio-sequestration and life cycle assessment. *Environmental research*. V. 227 (2023). Art. 115730.
16. Lukavský J., Kopecký J., Kubáč D., Kviderová J., Procházková L., Řezanka T. The alga *Bracteacoccus bullatus* (Chlorophyceae) isolated from snow, as a source of oil comprising essential unsaturated fatty acids and carotenoids. *Journal of Applied Phycology*. (2022). In Review. preprint. DOI: 10.21203/rs.3.rs-2125780/v1.
17. Ma Z., Cheah W.Y., Ng I.S., Chang J.S., Zhao M., Show P.L. Microalgae-based biotechnological sequestration of carbon dioxide for net zero emissions. *Trends in biotechnology*. V. 40, No.12 (2022): pp. 1439-1453.
18. Malik S., Ashraf M.U.F., Shahid A., Javed M.R., Khan A.Z., Usman M., Manivannan A., Mehmood M.A., Ashraf G.A. Characterization of a newly isolated self-flocculating microalga *Bracteacoccus pseudominor* BERCO9 and its evaluation as a candidate for a multiproduct algal biorefinery. *Chemosphere*. V. 304 (2022). Art. 135346.
19. Maltsev Y.I., Maltseva I.A., Maltseva S.Yu., Kulikovskiy M.S. Biotechnological potential of a new strain of *Bracteacoccus bullatus* (Sphaeropleales, Chlorophyta) as a promising producer of omega-6 polyunsaturated fatty acids. *Russian Journal of Plant Physiology*. V. 67 (2020): pp. 185-193.
20. Mamaeva A., Namsaraev Z., Maltsev Y., Gusev E., Kulikovskiy M., Petrushkina M., Filimonova A., Sorokin B., Zotko N., Vinokurov V., Kopitsyn D., Petrova D., Novikov A., Kuzmin D. Simultaneous increase in cellular content and volumetric concentration of lipids in *Bracteacoccus bullatus* cultivated at reduced nitrogen and phosphorus concentrations. *Journal of Applied Phycology*. V. 30 (2018): pp. 2237-2246.
21. Minyuk G.S., Chelebueva E.S., Chubchikova I.N. Secondary carotenogenesis of the green microalga *Bracteacoccus minor* (Chodat) Petrova (Chlorophyta) in a two-stage culture. *International Journal on Algae*. V. 16, No. 4 (2014): pp. 354-368.
22. Morais M.G., Costa J.A.V. Carbon dioxide mitigation with *Chlorella kessleri*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina* sp. cultivated in flasks and vertical tubular photobioreactors. *Biotechnol. Lett.* V. 29 (2007): pp. 1349-1352.
23. Mudimu O., Koopmann I.K., Rybalka N., Friedl T., Schulz R., Bilger W. Screening of microalgae and cyanobacteria strains for α -tocopherol content at different growth phases and the influence of nitrate reduction on α -tocopherol production. *Journal of Applied Phycology*. V. 29 (2017): pp. 2867-2875.
24. Murakami M., Ikenouchi M. The biological CO₂ fixation and utilization project by rite (2) – screening and breeding of microalgae with high capability in fixing CO₂ –. *Energy Conversion and Management*. V. 38 (1997): pp. 493-497.
25. Ramos-Romero S., Torrella J.R., Pagès T., Viscor G., Torres J.L. Edible microalgae and their bioactive compounds in the prevention and treatment of metabolic alterations. *Nutrients*. V. 13, No. 2 (2021). Art. 563.
26. Ratha S.K., Babu S., Renuka N., Prasanna R., Prasad R.B.N., Saxena A.K. Exploring nutritional modes of cultivation for enhancing lipid accumulation in microalgae: Exploring nutritional modes of cultivation. *Journal of Basic Microbiology*. Vol. 53, No. 5 (2013): pp. 440-450.
27. Rios L.F., Klein B.C., Luz L.F., Jr Maciel Filho R., Wolf Maciel M.R. Nitrogen starvation for lipid accumulation in the microalga species *Desmodesmus* sp. *Applied biochemistry and biotechnology*. V. 175, No.1 (2015): pp. 469-476.

28. Sangeetha M., Sivarajan A., Radhakrishnan M., Siddharthan N., Balagurunathan R. Biosequestration of carbon dioxide using carbonic anhydrase from novel *Streptomyces kunmingensis*. *Archives of microbiology*. V. 204, No. 5 (2022). Art. 270.
29. Şirin P.A., Serdar S. Effects of nitrogen starvation on growth and biochemical composition of some microalgae species. *Folia microbiologica*. V. 69, No. 4 (2024): pp. 889-902.
30. Venkata Mohan S., Modestra J.A., Amulya K., Butti S.K., Velvizhi G. A circular bioeconomy with biobased products from CO₂ sequestration. *Trends in biotechnology*. V. 34, No. 6 (2016): pp. 506-519.
31. White W.A. Biosequestration and ecological diversity. Boca Raton, CRC Press, 2012. 250 p.
32. Yang C.-M., Chang K.-W., Yin M.-H., Huang H.-M. Methods for the determination of the chlorophylls and their derivatives. *Taiwania*. V. 43, No. 2 (1998): pp. 116-122.
33. Zhang W.W., Zhou X.F., Zhang Y.L., Cheng P.F., Ma R., Cheng W.L., Chu H.Q. Enhancing astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis* by coupled light intensity and nitrogen starvation in column photobioreactors. *Journal of microbiology and biotechnology*. V. 28, No. 12 (2018): pp. 2019-2028.
34. Zhao Y., Li J., Ma X., Fang X., Zhu B., Pan K. Screening and application of *Chlorella* strains on biosequestration of the power plant exhaust gas evolutions of biomass growth and accumulation of toxic agents. *Environmental science and pollution research international*. V. 29, No. 5 (2022): pp. 6744-6754.
35. Zhu X., Rong J., Chen H., He C., Hu W., Wang Q. An informatics-based analysis of developments to date and prospects for the application of microalgae in the biological sequestration of industrial flue gas. *Applied microbiology and biotechnology*. V. 100, No. 5 (2016): pp. 2073-2082.

Статья поступила в редакцию 12.09.2024; одобрена после рецензирования 09.10.2024; принята к публикации 26.11.2024.

The article was submitted 12.09.2024; approved after reviewing 09.10.2024; accepted for publication 26.11.2024.

Информация об авторах

А. В. Кочубей – аспирант, ассистент кафедры биологии и биологического образования;

И. А. Мальцева – доктор биологических наук, профессор, декан факультета естественных наук;

Е. И. Мальцев – доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник отдела молекулярной систематики водных растений;

А. В. Яковийчук – кандидат биологических наук, доцент кафедры химии и химического образования.

Information about the authors

A. V. Kochubey – postgraduate student, Assistant of Biology and Biological Education Department;

I. A. Maltseva – doctor of biology, professor, dean of natural science faculty;

Ye. I. Maltsev – doctor of biology, associate professor, senior researcher of molecular systematics of aquatic plants department;

A. V. Yakoviichuk – candidate of biology, associate professor of chemistry and chemical education department.

Вклад авторов:

Кочубей А. В. – проведение экспериментальных исследований по определению скорости роста штамма, статистическая обработка материала, оформление списка литературы.

Мальцева И. А. – научное руководство; развитие методологии; итоговые выводы.

Мальцев Е. И. – концепция исследования, доработка текста.

Яковийчук А.В. – проведение экспериментальных исследований по концентрации хлорофиллов, написание текста статьи.

Contribution of the authors:

A. V. Kochubey – conducting experimental studies to determine the growth rate of the strain, statistical processing of the material, registration of the list of references.

I. A. Maltseva – research supervision; development of methodology; final conclusions.

Ye. I. Maltsev – research concept, text revision.

A. V. Yakoviichuk – conducting experimental studies on the concentration of chlorophylls, writing the text of the article.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.