

## ВЛИЯНИЕ $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$ НА СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК КУЛЬТУРЫ *CHLORELLA VULGARIS* ПРИ РАЗЛИЧНОМ СОДЕРЖАНИИ В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ ИСТОЧНИКА АЗОТА – $\text{KNO}_3$

Ильючик И.А., Захаревич Л.О., Никандров В.Н.

Полесский государственный университет

ул. Днепровской флотилии, 23, г. Пинск, 225710, Республика Беларусь; e-mail: irina.iliuchik@mail.ru

Поступила в редакцию 20.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbpс.2022.0526

**Аннотация.** Изучено влияние  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  в концентрации  $10^{-2}$ – $10^{-8}$  М на урожай биомассы, концентрацию внутриклеточного белка, хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов в культуре *Chlorella vulgaris* штамма С 111 IBCE С-19. В отдельных сериях экспериментов концентрация источника азота –  $\text{KNO}_3$  была увеличена на 10 и 20%. Хром (III) оказал неоднозначное влияние на функционально-метаболическое состояние культуры хлореллы в зависимости от его концентрации и концентрации источника азота –  $\text{KNO}_3$ . В целом, при концентрации  $\text{KNO}_3$  5,0 г/л в диапазоне концентраций  $10^{-2}$ – $10^{-6}$  М сульфат хрома угнетал развитие культуры водоросли, а в максимальной его концентрации вызвал быструю гибель. В начальный период культивирования резко возрастал уровень хлорофиллов *a* и *b*, что, по-видимому, носило компенсаторно-приспособительный характер. Со стороны биомассы, уровня внутриклеточного белка, хлорофиллов не выявлено динамики колебательного характера, присущей контрольному варианту питательной среды. Увеличение концентрации  $\text{KNO}_3$  до 5,5 г/л при концентрации  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$   $10^{-4}$ – $10^{-8}$  М сопровождалось не только приростом биомассы, но и заметным (17–74%) увеличением уровня внутриклеточного белка, снижением «напряженности» фотосинтетического аппарата (судя по уровню пигментов) и восстановлением колебательной динамики фотосинтетических пигментов. Дальнейшее увеличение концентрации нитрата калия не дало положительного результата и вело к усугублению функционально-метаболического состояния культуры хлореллы. Возможно, катион  $\text{Cr}^{3+}$ , в определенных условиях способствует мобилизации азотистого питания клеток водоросли, усилению биосинтеза белка. Полученные материалы создают основу для дальнейших исследований о путях влияния  $\text{Cr}^{3+}$  на обмен белков, а также для оптимизации состава питательных сред в целях обогащения клеток хлореллы белком.

**Ключевые слова:** культура хлореллы, сульфат хрома (III), нитрат калия, биомасса, внутриклеточный белок, хлорофиллы, каротиноиды.

В настоящее время в мировом масштабе достаточно остро стоит проблема поиска альтернативных источников белка [1,2]. К ним относят и одноклеточные водоросли, в том числе хлореллу (*Chlorella*). Более чем в 60 странах мира, в том числе США, Мексике, Таиланде, Индии, Китае, Японии, Канаде, Австралии биомассу водорослей производят в промышленных масштабах свыше тысячи тонн в год [3].

Для роста *Chlorella vulgaris* необходимы углерод, азот, фосфор, сера и металлы. Концентрация азота в питательной среде играет важную роль в регулировании роста и метаболизма водорослей. В клетках хлореллы содержание азота достигает 7–10%. Предполагают, что это связано с особенностями ее фотосинтеза. На долю общего хлорофилла приходится 1–2% от сухой биомассы хлореллы [4]. *Chlorella* способна улавливать более 70% солнечного света, причем только до 10% солнечной энергии использует для наработки биомассы [5], эффективность ее фотосинтеза очень высокая [6].

Белок хлореллы по качеству не уступает известным растительным белкам, так как содержит все аминокислоты [7]. По качеству продуцируемых белка и витаминов *Ch. vulgaris* превосходит все известные кормовые и пищевые продукты. Пищевая ценность белка микроводоросли в 2 раза превышает ценность соевого белка: 1 кг хлореллы эквивалентен 4–5 кг сои. В зависимости от условий культивирования в клетках хлореллы меняется соотношение белка, углеводов, липидов и минеральных веществ [8]. Это создает условия для разработки подходов к направленному изменению ее метаболизма.

Кроме того, одноклеточные водоросли участвуют в биологической очистке вод естественных водоемов. Все это вызывает необходимость исследования влияния на культуру хлореллы ряда микроэлементов, которые при превышении определенной концентрации оказывают и токсическое действие. Таковым, в частности, является хром (III).

Суточная потребность в хrome организма взрослого человека составляет 50–200 мкг [9]. Он способен повышать активность инсулина и усвоения глюкозы [10].

Прямых доказательств необходимости хрома для растений нет, тем не менее, он постоянно присутствует в их тканях в небольшом количестве. Известно, что этот элемент неспецифически активизирует отдельные ферменты, в низких концентрациях повышают содержание хлорофилла в листьях и общую продуктивность фотосинтеза, а в высоких – существенно ингибирует все ростовые процессы растений, способствует возникновению хлорозов и некрозов [11].

**Цель работы.** Раскрыть влияние  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  на физиолого-биохимическое состояние клеток культуры *Chlorella vulgaris*, а также его эффект при различной концентрации нитрата калия в питательной среде.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования выполнены на альгологически чистой культуре *Ch. vulgaris* биологического штамма С 111 ИВСЕ С-19 из коллекции ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси».

Хлореллу выращивали на питательной среде Тамия (концентрация  $\text{KNO}_3$  – 5 г/л) [12], не содержащей ЭДТА, при рН среды 7,0. В экспериментальные варианты питательных сред добавляли сульфат хрома (III) в диапазоне концентраций  $10^{-2}$ – $10^{-8}$  М. В двух других экспериментальных вариантах концентрация  $\text{KNO}_3$  составляла 5,5 и 6,0 г/л.

*Ch. vulgaris* культивировали в прозрачных стеклянных емкостях объемом 250 мл при температуре  $25 \pm 1$  °С при регулярном перемешивании, освещенности на поверхности сосуда – 5000 лК и продолжительности световых и темновых фаз – 12/12 часов в течение 21 суток. Посевная доза культуры составляла  $3,46 \pm 0,06$  млн/мл клеток, предварительно отмытых дистиллированной водой от предыдущей питательной среды.

Каждые вторые сутки культивирования отбирали аликвоты культуры по  $10 \pm 0,19$  млн клеток, определяли концентрацию внутриклеточного белка и фотосинтетических пигментов (хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов) как подробно описано [12]. Количество клеток хлореллы учитывали с помощью камеры Горяева. Оптическую плотность растворов определяли спектрофотометрически. Концентрацию хлорофиллов *a*, *b* и каротиноидов рассчитывали по формулам Н.К. Lichtenthaler после экстракции пигментов 100%-ным ацетоном [13]. Все операции при гомогенизировании и спектрофотометрировании выполняли в затемненном помещении.

Исследования проведены девятикратно. Полученные результаты обработаны статистически с использованием программы Statistica 6.0. Достоверность различий между вариантами определяли с учетом коэффициента Стьюдента (*t*) для уровня значимости  $P \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В первой части исследований в среду Тамия добавляли сульфат хрома (III) в диапазоне концентраций  $10^{-2}$ – $10^{-6}$  М.

Динамика исследуемых показателей контроля имела достаточно нелинейный характер, отражающий функционально-метаболические перестройки клеток водоросли в культуре, как мы уже отмечали в предыдущих статьях [14,15]. В максимальной концентрации сульфат хрома вызвал через 3 суток гибель культуры (табл. 1, рис. 1*a*).

В целом, в использованных концентрациях  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  угнетал рост культуры водоросли. Заметно снижался и уровень внутриклеточного белка, а в отдельные периоды – хлорофиллов *a* и *b*: на 23–69; 21–54 и 25–80% соответственно (табл. 2–4, рис. 1*b*–*z*). Вместе с тем, при уменьшении концентрации эффектора до  $10^{-5}$  М через 11–17 сутки урожай биомассы возрастал на 12–19%, а при концентрации  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$   $10^{-6}$  М через 5 суток концентрация внутриклеточного белка в сравнении с контролем возросла на 69%. В начальный же период роста культуры (1–5 суток) резко – в 1,4–6,9 раз увеличился уровень хлорофиллов *a* и *b* (табл. 2–4). В 1-е сутки роста, это отмечено даже при максимальной концентрации  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$ : в 2,0 и 3,4 раз. Со стороны данных показателей в этой части эксперимента выраженный колебательный характер динамики отсутствовал.

В отдельных случаях уровень хлорофиллов возрастал и в конечный период (через 19–21 сутки) культивирования хлореллы – в 1,2–2,7 раз. Возможно, эти сдвиги отражают компенсаторно-адаптивные реакции клеток хлореллы. Сдвиги уровня каротиноидов в клетках водоросли носили сложный колебательный характер от снижения на 25–85% до роста в 1,2–2,1 раза (табл. 5). Здесь стоит упомянуть, что, в частности β-каротины являются специфичными и эффективными перехватчиками синглетного кислорода. При воздействии хрома нельзя исключить развитие окислительного стресса. Однако в литературе мы не обнаружили какие-либо данные об инициации хромом (III) окислительного стресса в клетках различных растений.

**Таблица 1.** Динамика биомассы хлореллы (млн клеток/мл) при добавлении сульфата хрома (III) в питательную среду ( $n = 9$ )

Сутки	Контроль, без $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$	Концентрация $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$ , М				
		$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$
1	$4,21 \pm 0,06$	$3,66 \pm 0,09^*$	$3,08 \pm 0,06^*$	$3,04 \pm 0,06^*$	$4,13 \pm 0,07$	$3,38 \pm 0,06^*$
3	$4,78 \pm 0,03$	гибель	$4,13 \pm 0,07^*$	$3,38 \pm 0,04^*$	$4,73 \pm 0,03$	$4,41 \pm 0,02$
5	$6,54 \pm 0,04$	–	$4,72 \pm 0,11^*$	$3,61 \pm 0,02^*$	$4,98 \pm 0,04^*$	$5,22 \pm 0,07^*$
7	$7,81 \pm 0,05$	–	$5,39 \pm 0,02^*$	$4,30 \pm 0,03^*$	$5,00 \pm 0,06^*$	$10,77 \pm 0,18^*$
9	$8,25 \pm 0,08$	–	$6,03 \pm 0,04^*$	$5,09 \pm 0,08^*$	$7,40 \pm 0,06$	$9,01 \pm 0,06$
11	$9,20 \pm 0,08$	–	$5,43 \pm 0,07^*$	$6,47 \pm 0,08^*$	$10,34 \pm 0,07^*$	$8,12 \pm 0,07$
13	$11,00 \pm 0,07$	–	$5,62 \pm 0,05^*$	$8,59 \pm 0,06^*$	$13,10 \pm 0,06^*$	$9,76 \pm 0,09$
15	$10,81 \pm 0,02$	–	$6,53 \pm 0,07^*$	$8,95 \pm 0,03^*$	$12,47 \pm 0,05^*$	$9,94 \pm 0,06$
17	$10,00 \pm 0,07$	–	$7,86 \pm 0,04^*$	$10,24 \pm 0,05$	$11,91 \pm 0,05$	$10,02 \pm 0,09$
19	$16,14 \pm 0,09$	–	$9,53 \pm 0,07^*$	$11,67 \pm 0,04^*$	$12,56 \pm 0,03^*$	$10,54 \pm 0,06^*$
21	$18,05 \pm 0,03$	–	$8,59 \pm 0,02^*$	$7,87 \pm 0,04^*$	$8,82 \pm 0,05^*$	$9,52 \pm 0,02^*$

Примечание: \* – здесь и далее статистически достоверные ( $P \leq 0,05$ ) изменения по отношению к контролю

**Таблица 2.** Сдвиги уровня внутриклеточного белка (мкг/мл млн клеток) хлореллы при добавлении в питательную среду сульфата хрома (III) (n = 9)

Сутки	Контроль, без Cr <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	Концентрация Cr <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> , М				
		10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
1	19,15 ± 0,05	14,55 ± 0,02*	16,14 ± 0,04*	14,75 ± 0,09*	17,23 ± 0,06	18,33 ± 0,10
3	21,31 ± 0,07	гибель	18,43 ± 0,07*	19,48 ± 0,04	23,50 ± 0,04	21,54 ± 0,04
5	32,54 ± 0,04	–	20,72 ± 0,09*	25,12 ± 0,03*	30,18 ± 0,04	55,12 ± 0,05*
7	57,61 ± 0,05	–	25,60 ± 0,09*	28,30 ± 0,02*	42,45 ± 0,05*	62,27 ± 0,05
9	59,85 ± 0,09	–	28,23 ± 0,05*	35,05 ± 0,09*	39,66 ± 0,07*	58,08 ± 0,06
11	63,20 ± 0,03	–	31,51 ± 0,10*	47,17 ± 0,03*	50,30 ± 0,12*	47,75 ± 0,12*
13	79,44 ± 0,10	–	24,86 ± 0,04*	54,29 ± 0,05*	68,82 ± 0,03*	59,76 ± 0,09*
15	68,21 ± 0,04	–	30,30 ± 0,07*	59,55 ± 0,05*	60,17 ± 0,05	58,94 ± 0,07*
17	70,38 ± 0,08	–	42,07 ± 0,06*	60,20 ± 0,10*	59,71 ± 0,06*	57,02 ± 0,08*
19	80,66 ± 0,09	–	50,77 ± 0,12*	64,67 ± 0,07*	66,13 ± 0,08*	58,54 ± 0,03*
21	89,23 ± 0,11	–	40,09 ± 0,08*	52,80 ± 0,08*	53,91 ± 0,07*	54,06 ± 0,02*

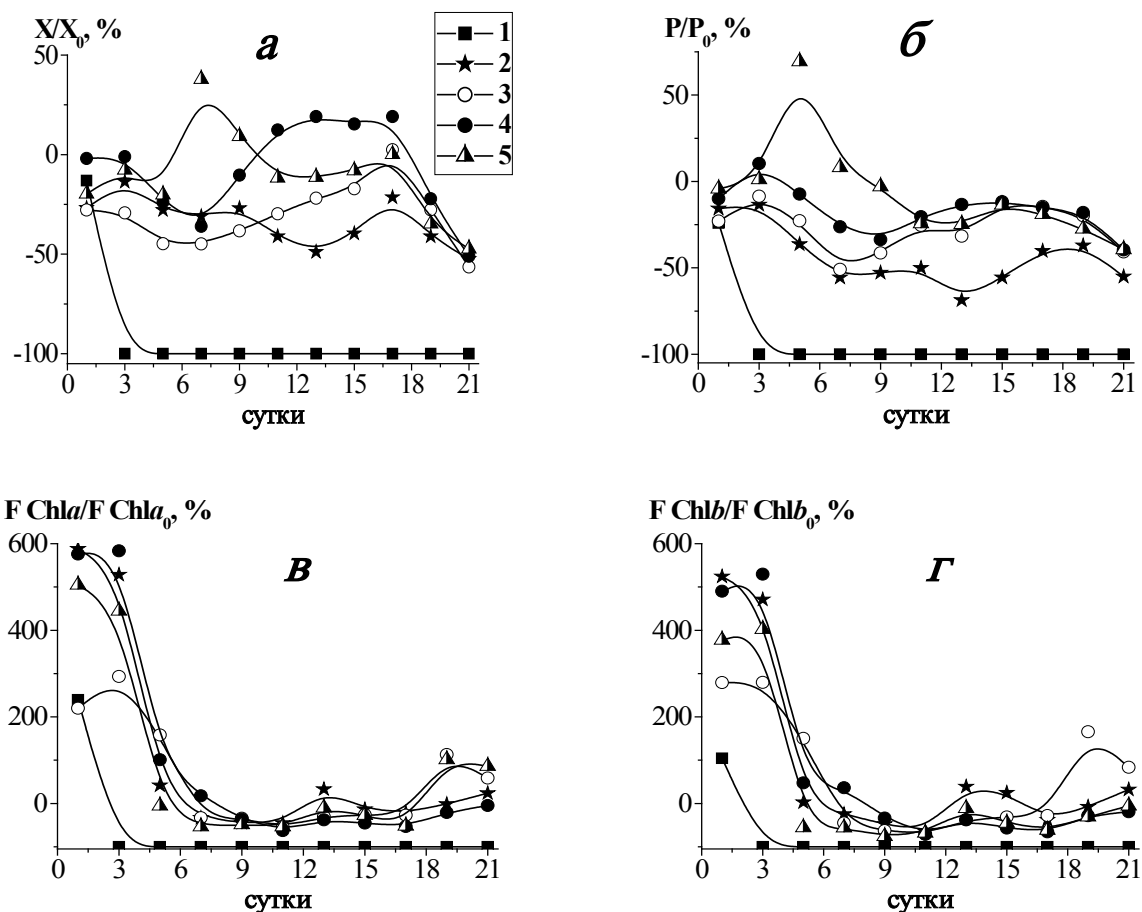
**Таблица 3.** Изменения содержания хлорофилла *a* (мкг/мл млн клеток) в клетках хлореллы при добавлении в питательную среду сульфата хрома (III) (n = 9)

Сутки	Контроль, без Cr <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	Концентрация Cr <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> , М				
		10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
1	2,34 ± 0,09	7,94 ± 0,08*	16,10 ± 0,06*	7,49 ± 0,07*	15,82 ± 0,10*	14,15 ± 0,07*
3	2,60 ± 0,06	гибель	16,33 ± 0,11*	10,22 ± 0,15*	17,77 ± 0,07*	14,16 ± 0,10*
5	7,49 ± 0,08	–	10,62 ± 0,05*	19,34 ± 0,11*	15,05 ± 0,19*	7,06 ± 0,10
7	16,81 ± 0,17	–	11,22 ± 0,05*	11,27 ± 0,11*	19,80 ± 0,12*	7,77 ± 0,05*
9	14,76 ± 0,11	–	8,18 ± 0,09*	9,73 ± 0,06*	9,40 ± 0,06*	7,56 ± 0,12*
11	13,46 ± 0,09	–	7,37 ± 0,07*	6,07 ± 0,09*	5,00 ± 0,05*	6,23 ± 0,08*
13	7,25 ± 0,06	–	9,66 ± 0,08*	5,06 ± 0,10*	4,50 ± 0,09*	6,53 ± 0,08
15	8,25 ± 0,12	–	7,15 ± 0,08*	6,07 ± 0,08*	4,50 ± 0,12*	6,03 ± 0,07*
17	8,78 ± 0,09	–	6,90 ± 0,13*	6,41 ± 0,80*	4,10 ± 0,05*	4,21 ± 0,13*
19	7,03 ± 0,08	–	6,94 ± 0,14	14,98 ± 0,09*	5,57 ± 0,08*	14,15 ± 0,07*
21	7,61 ± 0,06	–	9,42 ± 0,09*	12,08 ± 0,14*	7,26 ± 0,11	14,16 ± 0,10*

**Таблица 4.** Изменения содержания хлорофилла *b* (мкг/мл млн клеток) в клетках хлореллы при добавлении в питательную среду сульфата хрома (III) (n = 9)

Сутки	Контроль, без Cr <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	Концентрация Cr <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> , М				
		10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
1	4,33 ± 0,10	8,84 ± 0,12*	27,02 ± 0,11*	16,42 ± 0,06*	25,56 ± 0,16*	20,67 ± 0,12*
3	4,78 ± 0,09	гибель	27,30 ± 0,06*	18,15 ± 0,08*	30,10 ± 0,09*	24,02 ± 0,16*
5	12,98 ± 0,09	–	13,35 ± 0,09	32,47 ± 0,08*	19,17 ± 0,05*	5,76 ± 0,09*
7	23,72 ± 0,06	–	17,91 ± 0,07*	13,03 ± 0,15*	32,33 ± 0,06*	10,38 ± 0,07*
9	20,78 ± 0,05	–	10,85 ± 0,08*	7,76 ± 0,13*	13,78 ± 0,08*	5,01 ± 0,11*
11	18,66 ± 0,09	–	6,57 ± 0,04*	5,39 ± 0,04*	5,42 ± 0,12*	5,96 ± 0,10*
13	7,49 ± 0,14	–	10,39 ± 0,05*	4,66 ± 0,12*	4,68 ± 0,10*	6,63 ± 0,06
15	8,46 ± 0,11	–	10,54 ± 0,13*	5,80 ± 0,07*	3,65 ± 0,08*	4,61 ± 0,05*
17	9,51 ± 0,07	–	5,90 ± 0,09*	6,84 ± 0,08*	3,26 ± 0,07*	3,67 ± 0,13*
19	8,57 ± 0,07	–	7,94 ± 0,13	22,75 ± 0,07*	6,15 ± 0,11*	5,94 ± 0,12*
21	9,45 ± 0,18	–	12,48 ± 0,10*	17,33 ± 0,06*	7,63 ± 0,05*	8,92 ± 0,08

Более того, на макрофагоподобных клетках линии U937 было показано, что воздействие Cr<sup>+3</sup> не изменяло экспрессию Mn-супероксиддисмутазы, Cu, Zn-супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы и гемин-оксидазы [16]. Это свидетельствует, во всяком случае, об отсутствии реакции клеток на возможный окислительный стресс. О развитии последнего при действии Cr<sup>+3</sup> на золотых рыбок и снижении активности каталазы и глутатион-S-трансферазы в жабрах, почках и печени на 20–29% сообщали [17]. Активность глутатионредуктазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы при этом не изменялась. Однако, разумеется, нельзя проводить какую-либо аналогию этих объектов с одноклеточной зеленой фотосинтезирующей водорослью.



**Рисунок 1.** Изменения (% к контролю, принятому за 100%) уровня биомассы (а), внутриклеточного белка (б), хлорофиллов а (Chl а) (в) и б (Chl б) (г) в клетках культуры *Chlorella vulgaris* при добавлении в питательную среду  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  в концентрации  $10^{-2}$  (1),  $10^{-3}$  (2),  $10^{-4}$  (3),  $10^{-5}$  (4),  $10^{-6}$  (5) М

Учитывая полученные факты, во второй части экспериментов кроме оригинальной среды Тамийя использовали ее варианты с содержанием нитрата калия 5,5 и 6,0 г/л, в которые вносили сульфат хрома (III) в концентрациях  $10^{-4}$ – $10^{-8}$  М.

Увеличение в питательной среде уровня  $\text{KNO}_3$  на 10 или 20% в сравнении с оригинальной средой, даже после добавление  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  в концентрации  $10^{-4}$ – $10^{-6}$  М, сопровождалось менее «фатальными» сдвигами в динамике роста биомассы хлореллы (табл. 6, рис. 2а и 3а).

Более того, в отдельные периоды роста культуры при концентрации  $\text{KNO}_3$  5,5 г/л и соли хрома  $10^{-8}$  М урожаем биомассы увеличился на 15–23%. Наряду с этим, выявлен рост уровня внутриклеточного белка культуры хлореллы при добавлении  $10^{-4}$ – $10^{-6}$  М  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  в 1–3 сутки культивирования на 20–48%. В последующем, до 19 суток увеличение его уровня на 17–74% отмечено при концентрации  $\text{Cr}^{3+}$   $10^{-7}$ – $10^{-8}$  М (табл. 7, рис. 2б). И даже в

**Таблица 5.** Изменения содержания каротиноидов (мкг/мл млн клеток) в клетках хлореллы при добавлении в питательную среду сульфата хрома (III) (n = 9)

Сутки	Контроль, без $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$	Концентрация $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$ , М				
		$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$
1	$0,70 \pm 0,09$	$1,50 \pm 0,07^*$	$0,30 \pm 0,07^*$	$0,35 \pm 0,10^*$	$0,37 \pm 0,08^*$	$0,84 \pm 0,10^*$
3	$0,85 \pm 0,09$	гибель	$0,17 \pm 0,07^*$	$0,30 \pm 0,12^*$	$0,12 \pm 0,04^*$	$1,06 \pm 0,09^*$
5	$0,98 \pm 0,05$	—	$1,90 \pm 0,09^*$	$0,45 \pm 0,07^*$	$2,04 \pm 0,09^*$	$1,86 \pm 0,12^*$
7	$1,84 \pm 0,05$	—	$0,28 \pm 0,12^*$	$2,01 \pm 0,09$	$0,60 \pm 0,12^*$	$1,08 \pm 0,06^*$
9	$1,84 \pm 0,07$	—	$1,30 \pm 0,13^*$	$2,87 \pm 0,06^*$	$1,77 \pm 0,13$	$2,44 \pm 0,05^*$
11	$1,42 \pm 0,08$	—	$1,98 \pm 0,08^*$	$1,65 \pm 0,12^*$	$0,99 \pm 0,07^*$	$1,38 \pm 0,17$
13	$1,49 \pm 0,12$	—	$2,28 \pm 0,06^*$	$1,37 \pm 0,09$	$1,03 \pm 0,06^*$	$1,43 \pm 0,09$
15	$1,99 \pm 0,10$	—	$1,23 \pm 9,06^*$	$1,44 \pm 0,08^*$	$1,21 \pm 0,10^*$	$1,55 \pm 0,09^*$
17	$1,91 \pm 0,07$	—	$2,01 \pm 0,15$	$1,39 \pm 0,10^*$	$1,25 \pm 0,17^*$	$1,19 \pm 0,07^*$
19	$1,13 \pm 0,06$	—	$1,49 \pm 0,09^*$	$1,25 \pm 0,11$	$1,21 \pm 0,08$	$1,37 \pm 0,11^*$
21	$1,35 \pm 0,08$	—	$1,67 \pm 0,10^*$	$1,68 \pm 0,15^*$	$1,79 \pm 0,09^*$	$1,95 \pm 0,05^*$

конце эксперимента на питательных средах этого варианта уровень белка принципиально не отличался от контрольного варианта.

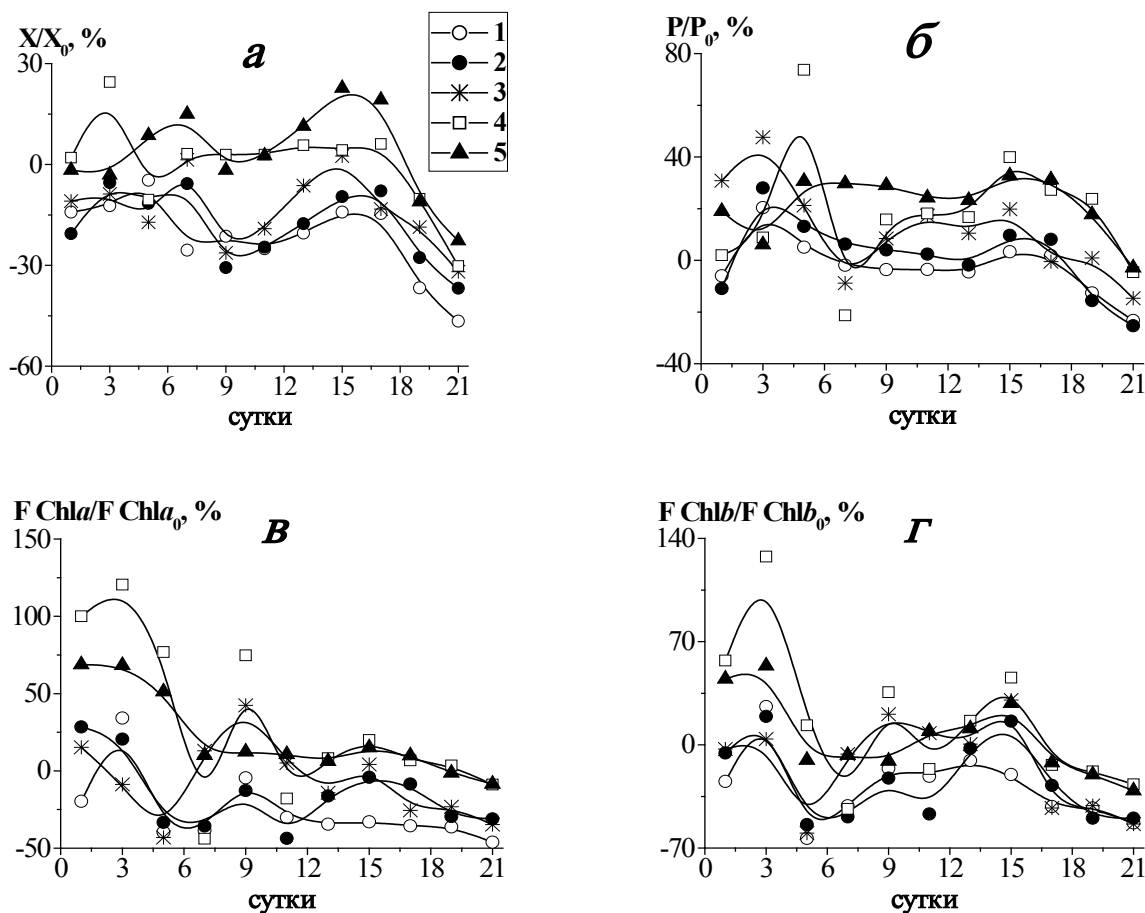
Динамика содержания фотосинтетических пигментов носила колебательный характер. Однако сдвиги его были менее резкими, чем в упомянутые выше для концентрации эффектора  $10^{-2}$ – $10^{-6}$  М и уровня нитрата калия 5,0 г/л (рис. 8, 9, рис. 2а, 2г). Для обоих пигментов при двух минимальных концентрациях  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  отмечен рост уровня в период 1–3 сутки в 1,5–2,3 раза. Содержание каротиноидов, в целом снижалось, и лишь через 9 суток культивирования при всех концентрациях соли хрома возрастало на 33–67% (табл. 10).

При увеличении концентрации в питательной среде нитрата калия до 6,0 г/л картина несколько менялась. В этой серии экспериментов не выявлено практически ни одного случая прироста биомассы в сравнении с контролем (табл. 6, рис. 3а).

При этом на протяжении 17 суток уровень внутриклеточного белка при всех концентрациях  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  либо не отличался от контроля, либо превосходил его на 18–86% (табл. 7, рис. 3б).

Динамика изменений хлорофиллов *a* и *b* имела более выраженный колебательный характер, чем в предыдущей серии экспериментов, и более резкое увеличение их содержания в 1–9 сутки: в 1,2–2,6 раза по сравнению с контролем (табл. 8, 9, рис. 3в, 3г).

Содержание каротиноидов в клетках хлореллы на питательных средах этой серии снижалось на 12–53% при всех концентрациях соли хрома, и лишь при ее концентрации  $10^{-6}$ – $10^{-7}$  М в 1–3 сутки роста культуры водоросли увеличилось на 14–22% (табл. 10).



**Рисунок 2.** Изменения (% к контролю, принятому за 100%) уровня биомассы (а), внутриклеточного белка (б), хлорофиллов *a* (Chl *a*) (в) и *b* (Chl *b*) (г) в клетках культуры *Chlorella vulgaris* при добавлении в питательную среду  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$ , М: 1 –  $10^{-4}$ ; 2 –  $10^{-5}$ ; 3 –  $10^{-6}$ ; 4 –  $10^{-7}$ ; 5 –  $10^{-8}$  в присутствии  $\text{KNO}_3$  концентрацией 5,5 г/л

**Таблица 6.** Влияние  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  на динамику биомассы *Chlorella vulgaris* (млн клеток/мл) при различном содержании в питательной среде нитрата калия ( $n = 9$ )

Сутки	Контроль, 5,0 г/л $\text{KNO}_3$	Концентрация $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$ , М									
		концентрация $\text{KNO}_3 - 5,5$ г/л					концентрация $\text{KNO}_3 - 6,0$ г/л				
		$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$
1	4,02±0,07	3,45 ±0,08*	3,19 ±0,03*	3,58 ±0,03	4,10 ±0,09	3,95 ±0,13	3,20 ±0,03*	3,53 ±0,12*	3,17 ±0,12*	4,08 ±0,02	3,31 ±0,07*
3	3,51±0,07	3,08 ±0,12*	3,32 ±0,06	3,20 ±0,08	4,37 ±0,04*	3,40 ±0,06	2,74 ±0,02*	3,02 ±0,07*	3,41 ±0,10	3,90 ±0,04	3,73 ±0,06
5	4,30±0,11	4,10 ±0,07	3,80 ±0,08	3,56 ±0,11*	3,85 ±0,03	4,67 ±0,05	3,15 ±0,05*	3,31 ±0,08*	3,21 ±0,10*	4,41 ±0,10	4,53 ±0,08
7	5,05±0,05	3,76 ±0,09*	4,76 ±0,05	5,12 ±0,05	5,21 ±0,08	5,81 ±0,08*	4,06 ±0,10*	4,11 ±0,03*	4,52 ±0,04	5,10 ±0,12	5,92 ±0,10*
9	6,51±0,04	5,12 ±0,04*	4,51 ±0,04*	4,80 ±0,12*	6,70 ±0,09	6,4 ±0,09	4,62 ±0,04*	5,03 ±0,09*	5,05 ±0,07*	4,83 ±0,04*	5,08 ±0,08*
11	7,82±0,06	5,86 ±0,04*	5,9 ±0,10*	6,33 ±0,09*	8,05 ±0,11	8,02 ±0,04	5,31 ±0,04*	5,27 ±0,10*	6,27 ±0,08*	5,46 ±0,05*	6,50 ±0,03*
13	8,19±0,03	6,52 ±0,05*	6,75 ±0,12*	7,67 ±0,06	8,66 ±0,10	9,12 ±0,05	6,09 ±0,11*	6,44 ±0,03*	7,14 ±0,10*	6,69 ±0,06*	7,01 ±0,09*
15	7,90±0,08	6,78 ±0,06*	7,14 ±0,09	8,10 ±0,09	8,24 ±0,05	9,69 ±0,12*	6,64 ±0,09*	7,25 ±0,05	7,03 ±0,08	6,54 ±0,09*	7,88 ±0,07
17	8,56±0,04	7,31 ±0,03*	7,88 ±0,06	7,42 ±0,11*	9,08 ±0,08	10,20 ±0,15*	6,30 ±0,07*	6,61 ±0,07*	7,95 ±0,03	7,82 ±0,04	6,95 ±0,06*
19	9,72±0,03	6,15 ±0,07*	7,03 ±0,12*	7,91 ±0,06*	8,73 ±0,09	8,64 ±0,08	5,78 ±0,05*	5,97 ±0,09*	7,34 ±0,07*	8,02 ±0,05*	6,70 ±0,08*
21	10,45±0,10	5,58 ±0,05*	6,60 ±0,08*	7,12 ±0,07*	7,29 ±0,07*	8,08 ±0,06*	5,13 ±0,10*	5,20 ±0,03*	6,21 ±0,11*	7,51 ±0,08*	6,23 ±0,12*

**Таблица 7.** Влияние  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  на изменения уровня внутриклеточного белка (мкг/мл млн клеток) *Chlorella vulgaris* при различном содержании в питательной среде нитрата калия ( $n = 9$ )

Сутки	Контроль, 5,0 г/л $\text{KNO}_3$	Концентрация $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$ , М									
		концентрация $\text{KNO}_3 - 5,5$ г/л					концентрация $\text{KNO}_3 - 6,0$ г/л				
		$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$
1	14,04±0,06	13,20 ±0,10	12,51 ±0,04	18,36 ±0,04*	14,32 ±0,08	16,71 ±0,10*	13,58 ±0,09	13,75 ±0,08	17,11 ±0,09*	14,52 ±0,03	13,44 ±0,12
3	12,21±0,04	14,70 ±0,09*	15,63 ±0,07*	18,02 ±0,08*	13,29 ±0,03	12,95 ±0,04	14,43 ±0,06*	13,06 ±0,03	18,92 ±0,04*	17,07 ±0,04*	14,62 ±0,04*
5	20,76±0,09	21,81 ±0,05	23,47 ±0,08*	25,17 ±0,09*	36,05 ±0,05*	27,12 ±0,07*	28,06 ±0,11*	26,25 ±0,07*	38,50 ±0,06*	29,19 ±0,09*	43,17 ±0,06*
7	31,08±0,03	30,48 ±0,07	33,04 ±0,04	28,33 ±0,05	24,47 ±0,09*	40,30 ±0,03*	40,59 ±0,03*	55,76 ±0,11*	31,11 ±0,03	40,59 ±0,07*	33,09 ±0,05
9	44,25±0,05	42,67 ±0,04	46,02 ±0,06	48,01 ±0,07	51,23 ±0,06*	57,10 ±0,05*	59,13 ±0,07*	37,03 ±0,04*	58,04 ±0,08*	53,12 ±0,08*	56,77 ±0,03*
11	50,90±0,07	49,11 ±0,05	52,11 ±0,03	59,72 ±0,03*	60,10 ±0,09*	63,22 ±0,09*	53,01 ±0,06	61,14 ±0,06*	67,10 ±0,07*	68,33 ±0,05*	70,06 ±0,04*
13	56,78±0,03	54,25 ±0,04	55,78 ±0,05	62,74 ±0,10	66,24 ±0,05*	69,93 ±0,05*	57,44 ±0,04	60,73 ±0,03	60,45 ±0,05	59,94 ±0,03	63,10 ±0,09
15	54,11±0,05	55,90 ±0,07	59,36 ±0,11	64,84 ±0,07*	75,71 ±0,03*	71,80 ±0,04*	60,22 ±0,09	63,11 ±0,07*	54,90 ±0,04	60,05 ±0,08	68,02 ±0,05*
17	60,23±0,13	61,30 ±0,04	65,08 ±0,03	59,90 ±0,09	76,60 ±0,08*	79,01 ±0,07*	60,07 ±0,03	58,30 ±0,04	66,27 ±0,07	64,40 ±0,09	60,43 ±0,12
19	59,80±0,05	52,24 ±0,09*	50,50 ±0,05*	60,35 ±0,11	74,04 ±0,14*	70,40 ±0,13*	50,89 ±0,13*	49,96 ±0,06*	58,12 ±0,09	69,08 ±0,03*	58,37 ±0,08
21	64,91±0,11	49,77 ±0,04*	48,52 ±0,08*	55,40 ±0,09*	61,95 ±0,06	63,03 ±0,05	48,49 ±0,09*	50,04 ±0,12*	52,02 ±0,07*	59,91 ±0,11	55,18 ±0,06*

Следовательно, состав питательной среды оказывает существенное влияние на проявления эффектов хрома. По-видимому, этим объясняются разноречивые данные литературы, упомянутые [18]. Кроме того, разнообразие объектов исследования и их специфика в немалой степени сказываются на отклике клеток на воздействие  $\text{Cr}^{+3}$ . Например, при исследовании соединения хрома (III) в концентрации  $10^{-3}$ – $10^{-8}$  М на функциональное состояние клеток одноклеточной пресноводной зеленой водоросли *Micrasterias denticulata* было отмечено торможение развития клеток, но не их размножения. Не выявлено сколь-нибудь существенных изменений ни фотосинтеза (общего количества хлорофиллов), ни дыхания клеток водоросли [19].

**Таблица 8.** Влияние  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  на содержание хлорофилла *a* (мкг/мл млн клеток) *Chlorella vulgaris* при различном содержании в питательной среде нитрата калия (n = 9)

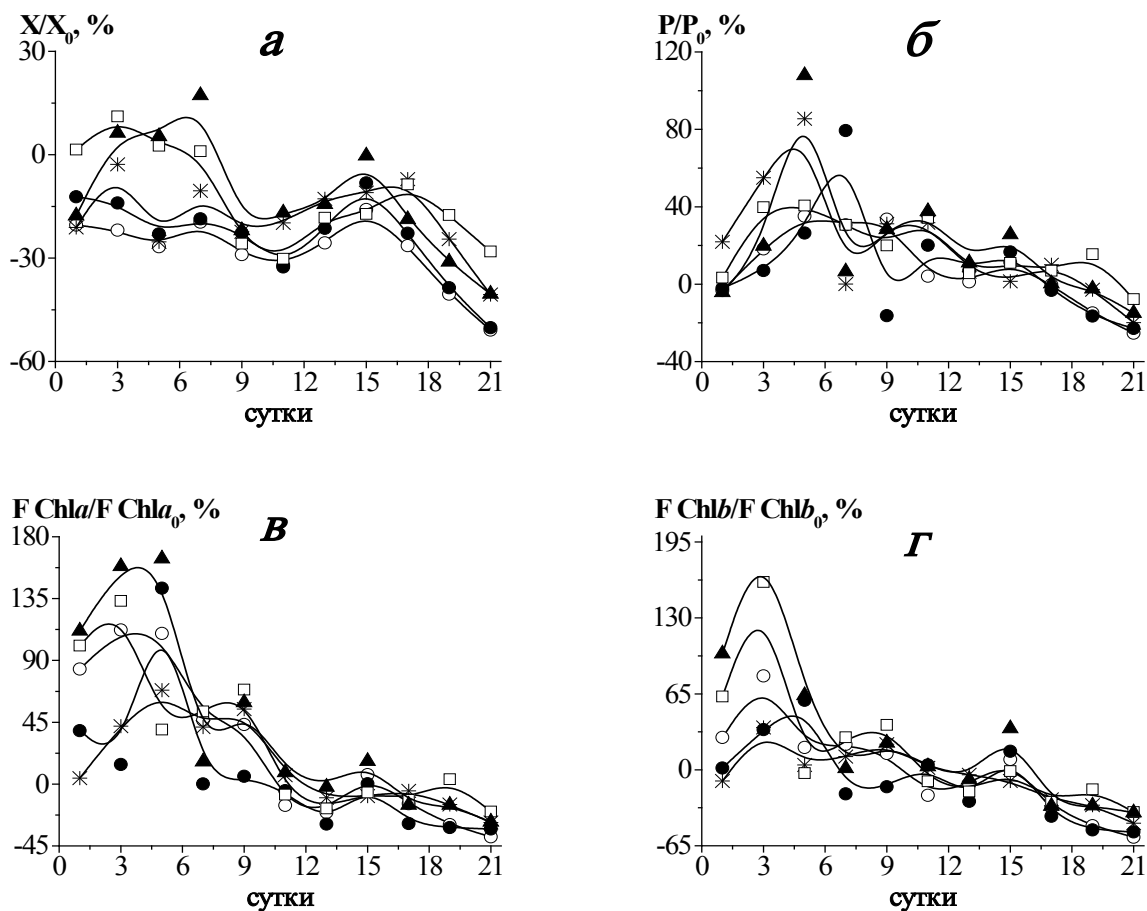
Сутки	Контроль, 5,0 г/л $\text{KNO}_3$	Концентрация $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$ , М									
		концентрация $\text{KNO}_3$ – 5,5 г/л					концентрация $\text{KNO}_3$ – 6,0 г/л				
		$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$
1	5,03 ± 0,07	4,04 ±0,03*	6,46 ±0,04*	5,80 ±0,07*	10,06 ±0,05*	8,49 ±0,08*	9,24 ±0,03*	6,98 ±0,07*	5,25 ±0,08	10,10 ±0,04*	10,64 ±0,10*
3	4,48 ± 0,03	6,01 ±0,07*	5,40 ±0,03*	4,09 ±0,03	9,88 ±0,07*	7,54 ±0,04*	9,50 ±0,05*	5,12 ±0,04*	6,37 ±0,05*	10,45 ±0,03*	11,58 ±0,05*
5	9,10 ± 0,06	5,50 ±0,06*	6,07 ±0,05*	5,18 ±0,05*	16,10 ±0,03*	13,76 ±0,06*	19,07 ±0,07*	22,08 ±0,06*	15,32 ±0,04*	12,70 ±0,07*	24,02 ±0,07*
7	16,46 ± 0,04	10,12 ±0,09*	10,59 ±0,03*	18,60 ±0,04*	9,23 ±0,09*	18,12 ±0,03	24,11 ±0,04*	16,47 ±0,10	23,29 ±0,09*	25,16 ±0,06*	19,13 ±0,03*
9	16,06 ± 0,09	15,34 ±0,04*	14,02 ±0,09*	22,87 ±0,11*	28,05 ±0,04*	18,04 ±0,07*	23,03 ±0,10*	16,96 ±0,05	24,83 ±0,04*	27,10 ±0,04*	25,60 ±0,06*
11	24,48 ± 0,10	17,10 ±0,13*	13,78 ±0,12*	25,72 ±0,06	20,09 ±0,06*	27,11 ±0,04	20,68 ±0,06	23,31 ±0,05	26,06 ±0,06	22,59 ±0,03	26,57 ±0,04
13	26,82 ± 0,05	17,58 ±0,03*	22,44 ±0,07*	23,04 ±0,05*	29,03 ±0,09	28,49 ±0,05	21,27 ±0,10	19,02 ±0,04*	24,15 ±0,03	22,04 ±0,09*	26,22 ±0,03
15	25,09 ± 0,03	16,80 ±0,09*	24,06 ±0,10	26,15 ±0,09	30,11 ±0,07*	28,86 ±0,12*	26,79 ±0,09	25,14 ±0,08	22,89 ±0,05	23,56 ±0,04	29,27 ±0,08*
17	29,53 ± 0,09	19,04 ±0,05*	27,01 ±0,09	21,97 ±0,05*	31,55 ±0,12	32,44 ±0,10	25,31 ±0,13	21,05 ±0,03*	28,09 ±0,09	26,11 ±0,08	25,03 ±0,05*
19	28,44 ± 0,05	18,13 ±0,07*	20,03 ±0,08*	21,84 ±0,07*	29,43 ±0,09	28,06 ±0,03	20,05 ±0,01	19,46 ±0,09*	24,22 ±0,06*	29,46 ±0,11	24,08 ±0,07*
21	30,18 ± 0,06	16,27 ±0,06*	20,80 ±0,12*	19,70 ±0,12*	27,52 ±0,08	27,61 ±0,05	18,60 ±0,04*	20,32 ±0,12*	21,75 ±0,11*	24,13 ±0,09*	21,85 ±0,13*

**Таблица 9.** Влияние  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  на содержание хлорофилла *b* (мкг/мл млн клеток) в клетках *Chlorella vulgaris* при различном содержании в питательной среде нитрата калия (n = 9)

Сутки	Контроль, 5,0 г/л $\text{KNO}_3$	Концентрация $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$ , М									
		концентрация $\text{KNO}_3$ – 5,5 г/л					концентрация $\text{KNO}_3$ – 6,0 г/л				
		$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$
1	3,11 ± 0,03	2,34 ±0,04*	2,94 ±0,09	3,02 ±0,08	4,89 ±0,03*	4,50 ±0,07*	3,97 ±0,03*	3,16 ±0,07	2,81 ±0,08	5,06 ±0,11*	6,20 ±0,03*
3	2,24 ± 0,06	2,82 ±0,09*	2,67 ±0,03*	2,33 ±0,06	5,10 ±0,05*	3,44 ±0,10*	4,04 ±0,10*	3,01 ±0,03*	3,05 ±0,03*	5,84 ±0,04*	6,86 ±0,06*
5	6,80 ± 0,07	2,49 ±0,07*	3,12 ±0,04*	2,73 ±0,11*	7,70 ±0,08*	6,09 ±0,03	8,10 ±0,05*	10,84 ±0,06*	7,08 ±0,07	6,60 ±0,06	11,13 ±0,05*
7	9,47 ± 0,03	5,56 ±0,11*	4,84 ±0,06*	8,87 ±0,03	5,35 ±0,07*	8,81 ±0,07	11,53 ±0,07*	7,52 ±0,09*	10,55 ±0,09	12,10 ±0,03*	9,58 ±0,09
9	9,13 ± 0,08	7,66 ±0,05*	7,07 ±0,08*	11,03 ±0,05*	12,39 ±0,06*	8,13 ±0,06	10,41 ±0,04*	7,80 ±0,05*	11,13 ±0,04*	12,64 ±0,07*	11,23 ±0,04*
11	11,59 ± 0,04	9,11 ±0,03*	6,15 ±0,05*	12,51 ±0,07	9,69 ±0,09*	12,65 ±0,02	9,06 ±0,06*	12,06 ±0,04	11,79 ±0,12	10,44 ±0,09	11,90 ±0,08
13	11,09 ± 0,09	9,92 ±0,08*	10,84 ±0,07	11,14 ±0,04	12,90 ±0,04*	12,31 ±0,08	9,70 ±0,08*	8,10 ±0,09*	10,62 ±0,05	9,03 ±0,05*	10,17 ±0,03
15	10,28 ± 0,07	8,21 ±0,13*	11,93 ±0,06*	13,41 ±0,09*	14,97 ±0,08*	13,17 ±0,07*	11,18 ±0,05	11,91 ±0,03*	9,30 ±0,04	10,16 ±0,13	13,92 ±0,09*
17	18,01 ± 0,10	10,46 ±0,07*	13,05 ±0,13*	10,31 ±0,03*	15,54 ±0,03*	15,83 ±0,03*	12,20 ±0,10*	10,85 ±0,07*	13,45 ±0,09*	13,05 ±0,07*	12,42 ±0,04*
19	17,44 ± 0,08	9,96 ±0,03*	8,76 ±0,06*	10,26 ±0,12*	14,30 ±0,10*	13,90 ±0,05*	9,09 ±0,04*	8,47 ±0,09*	12,18 ±0,04*	14,53 ±0,03*	12,06 ±0,11*
21	18,50 ± 0,05	8,70 ±0,09*	9,28 ±0,08*	8,57 ±0,08*	13,55 ±0,09*	12,74 ±0,12*	7,84 ±0,09*	8,66 ±0,11*	10,04 ±0,06*	11,80 ±0,10*	11,71 ±0,07*

**Таблица 10.** Влияние  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  на содержание каротиноидов (мкг/мл млн клеток) в клетках *Chlorella vulgaris* при различном содержании в питательной среде нитрата калия ( $n = 9$ )

Сутки	Контроль, 5,0 г/л $\text{KNO}_3$	Концентрация $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$ , М									
		концентрация $\text{KNO}_3 - 5,5$ г/л					концентрация $\text{KNO}_3 - 6,0$ г/л				
		$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$
1	0,91±0,09	1,01 ±0,03	0,86 ±0,07	1,40 ±0,09*	0,96 ±0,07	1,14 ±0,10*	0,67 ±0,03*	0,80 ±0,07*	1,09 ±0,03*	1,11 ±0,07*	0,84 ±0,07
3	0,94±0,07	0,85 ±0,07	1,40 ±0,03*	1,01 ±0,05	0,90 ±0,04	1,28 ±0,03*	0,85 ±0,06	0,72 ±0,03*	1,14 ±0,11*	1,07 ±0,03*	0,85 ±0,04
5	1,30±0,03	0,94 ±0,09*	1,09 ±0,04*	1,20 ±0,07	1,18 ±0,06	0,98 ±0,05*	0,81 ±0,04*	0,89 ±0,04*	1,05 ±0,04*	0,98 ±0,05*	1,11 ±0,06*
7	1,43±0,12	1,16 ±0,04*	1,77 ±0,09*	1,31 ±0,03	1,22 ±0,03*	0,96 ±0,07*	1,03 ±0,09*	0,72 ±0,05*	0,92 ±0,07*	1,13 ±0,09*	0,96 ±0,08*
9	1,25±0,05	2,09 ±0,08*	1,80 ±0,05*	2,07 ±0,05*	1,98 ±0,08*	1,66 ±0,02*	1,19 ±0,05	1,13 ±0,09	0,90 ±0,05*	1,24 ±0,04	1,30 ±0,05
11	2,16±0,08	2,02 ±0,06	2,12 ±0,08	2,93 ±0,04*	1,75 ±0,09*	2,03 ±0,08	1,23 ±0,08*	1,58 ±0,06*	1,05 ±0,09*	1,90 ±0,10*	1,48 ±0,03*
13	2,07±0,04	1,82 ±0,05*	1,29 ±0,03*	2,35 ±0,06*	2,19 ±0,05	2,20 ±0,04	1,37 ±0,04*	1,87 ±0,10	1,49 ±0,06*	1,98 ±0,08	2,05 ±0,09
15	2,03±0,13	1,25 ±0,07*	1,36 ±0,07*	2,17 ±0,07	2,24 ±0,08	2,03 ±0,09	1,44 ±0,09*	1,90 ±0,05	1,32 ±0,07*	2,04 ±0,07	1,87 ±0,05
17	2,14±0,09	1,08 ±0,13*	1,47 ±0,11*	2,80 ±0,09*	2,51 ±0,09*	2,35 ±0,05	1,38 ±0,04*	1,95 ±0,07	1,51 ±0,09*	2,16 ±0,03	2,40 ±0,11*
19	2,27±0,04	1,11 ±0,09*	1,21 ±0,05*	2,68 ±0,03*	2,30 ±0,05	2,27 ±0,10	1,06 ±0,13*	1,74 ±0,13*	1,25 ±0,03*	1,36 ±0,09*	2,10 ±0,07
21	2,33±0,10	1,02 ±0,08*	1,09 ±0,10*	2,35 ±0,05	2,09 ±0,14	1,97 ±0,04*	1,11 ±0,07*	1,49 ±0,04*	1,08 ±0,10*	1,14 ±0,13*	1,63 ±0,10*



**Рисунок 3.** Изменения (% к контролю, принятому за 100%) уровня биомассы (а), внутриклеточного белка (б), хлорофиллов а (Chl a) (в) и б (Chl b) (г) в клетках культуры *Chlorella vulgaris* при добавлении в питательную среду  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$ , М: 1 –  $10^{-4}$ ; 2 –  $10^{-5}$ ; 3 –  $10^{-6}$ ; 4 –  $10^{-7}$ ; 5 –  $10^{-8}$  в присутствии  $\text{KNO}_3$  концентрацией 6,0 г/л. Обозначения те же, что в рисунке 2



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, хром (III) оказывает неоднозначное влияние на функционально-метаболическое состояние культуры хлореллы в зависимости от его концентрации и концентрации источника азота –  $\text{KNO}_3$ . В целом, при концентрации  $\text{KNO}_3$  5,0 г/л в диапазоне концентраций  $10^{-2}$ – $10^{-6}$  М сульфат хрома угнетал развитие культуры водоросли, а в максимальной концентрации вызвал быструю гибель. В начальный период культивирования резко возрастал уровень хлорофиллов *a* и *b*, что, по-видимому, носило компенсаторно-приспособительный характер. Со стороны биомассы, уровня внутриклеточного белка, хлорофиллов не выявлено динамики колебательного характера, присущей контрольному варианту питательной среды. Увеличением концентрации  $\text{KNO}_3$  до 5,5 г/л при концентрации  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$   $10^{-4}$ – $10^{-8}$  М не только сопровождалось приростом биомассы, но и заметным (17–74%) увеличением уровня внутриклеточного белка, снижением «напряженности» фотосинтетического аппарата (судя по уровню пигментов) и восстановлением колебательной динамики фотосинтетических пигментов. Дальнейшее увеличение концентрации  $\text{KNO}_3$  не дало положительного результата и вело к усугублению функционально-метаболического состояния культуры хлореллы.

Складывается впечатление, что катион  $\text{Cr}^{3+}$ , в определенных условиях способствует мобилизации азотистого питания клеток водоросли, усилению биосинтеза белка. Это согласуется с ранее известными данными литературы о стимуляции хромом транспорта ряда аминокислот и усвоению небелкового азота при рубцовом пищеварении [20]. Полученные материалы создают основу для дальнейших исследований о путях влияния  $\text{Cr}^{3+}$  на обмен белков, а также для оптимизации состава питательных сред в целях обогащения клеток хлореллы белком.

**Список литературы / References:**

1. Suman G., Nupur M., Anuradha S., Pradeep B. Single cell protein production: A review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2015, vol. 4, no. 9, pp. 251-262.
2. Загоровская В. Новый белок. Готов ли российский рынок к альтернативным кормовым белкам? *Агротехника и технологии*, 2020, № 1, с. 50-54. [Zagorovskaya V. New protein. Is the Russian market ready for alternative feed proteins? *Agrotekhnika i tekhnologii*, 2020, no. 1, pp. 50-54. (In Russ.)]
3. Fradique M., Batista A.P., Nunes M.C. Incorporation of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass in pasta products. Part 1: preparation and evaluation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2010, no. 90, pp. 1656-1664, doi: 10.1002/jsfa.3999.
4. Safi C., Zebib B., Merah O., Pontalier P.-Y., Vaca-Garcia C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2014, vol. 35, pp. 265-278, doi: 10.1016/j.rser.2014.04.007.
5. Khan M.I., Shin J.H., Kim J.D. The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microbial Cell Factories*, 2018, vol. 17, pp. 1-21, doi: 10.1186/s12934-018-0879-x.
6. Melis A. Solar energy conversion efficiencies in photosynthesis: minimizing the chlorophyll antennae to maximize efficiency. *Plant science*, 2009, vol. 177, iss. 4, pp. 272-280, doi: 10.1016/j.plantsci.2009.06.005.
7. Ursu A.V., Marcati A., Sayd T., Sante-Lhoutellier V., Djelveh G., Michaud P. Extraction, fractionation and functional properties of proteins from the microalgae *Chlorella vulgaris*. *Bioresour Technology*, 2014, vol. 157, pp. 134-139, doi: 10.1016/j.biortech.2014.01.071.
8. Panahi Y., Khosroushahi A.Y., Sahebkar A., Heidari H.R. Impact of cultivation condition and media content on *Chlorella vulgaris* composition. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2019, vol. 9, iss. 2, pp. 182-194, doi: 10.15171/apb.2019.022.
9. Реутина С.В. Роль хрома в организме человека. Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности, 2009, № 4, с. 50-55. [Reutina S.V. The role of chromium in the person's organism. Vestnik Rossijskogo universiteta druzhby narodov. Seriya: Ekologiya i bezopasnost' zhiznedeyatel'nosti, 2009, no. 4, pp. 50-55. (In Russ.)]
10. Vincent J.B. Effects of chromium supplementation on body composition, human and animal health, and insulin and glucose metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2019, vol. 22, no. 6, pp. 483-489, doi: 10.1097/MCO.0000000000000604.
11. Бессонова В.П., Иванченко О.Е. Накопление хрома в растениях и его токсичность. *Вопрос биоиндикации и экологии*, 2011, вып. 16, № 2, с. 35-52. [Bessonova V.P., Ivanchenko O.YE. Chromium accumulation in plants and its toxicity. *Vopros bioindikatsii i ekologii*, 2011, vol. 16, no. 2, pp. 35-52. (In Russ.)]
12. Ильючик И.А., Никандров В.Н. Методические рекомендации по изучению биохимических свойств одноклеточных зеленых водорослей (на примере *Chlorella vulgaris*). Пинск: ПолесГУ, 2020, 29 с. [Il'uchik I.A., Nikandrov V.N. Methodological recommendations for the study of biochemical properties of unicellular green algae (for example, *Chlorella vulgaris*). Pinsk: PolesGU, 2020, 29 p. (In Russ.)]
13. Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В. Большой практикум по фотосинтезу. М.: Изд. центр «Академия», 2003, 256 с. [Gavrilenko V.F., Zhigalova T.V. Large workshop on photosynthesis. M.: Izdatel'skij centr «Akademiy», 2003, 256 p. (In Russ.)]
14. Ильючик И.А., Никандров В.Н. Рост культуры хлореллы (*Chlorella vulgaris*) и накопление белка при добавлении  $\text{MnCl}_2$  в питательную среду. *Вестник Палесскага дзяржаўнага ўніверсітэта. Серыя прыродазнаўчых*

наук, 2018, № 1, с. 53-64. [Il'iuchik I.A., Nikandrov V.N. Chlorella vulgaris culture growth and protein accumulation at  $MnCl_2$  addition in nutrient medium. *Viesnik Palieskaha dzyarzhavnaga universiteta. Seryya pryrodaznauchykh navuk*, 2018, no. 1, pp. 53-64. (In Russ.)]

15. Ильичик И.А., Никандров В.Н. Динамика фотосинтетических пигментов в культуре водоросли *Chlorella vulgaris* штамма С 111 IBCE С-19 при росте на питательной среде с добавлением хлорида марганца. *Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук*, 2020, т. 65, № 3, с. 299-309. [Il'iuchik I.A., Nikandrov V.N. Dynamics of a photosynthetic pigments level of the *Chlorella vulgaris* strain С 111 IBCE С-19 during the growth at the nutrient medium with manganese chloride addition. *Vesci Nacyyanal'naj akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnyh navuk*, 2020, vol. 65, no. 3, pp. 299-309. (In Russ.)]

16. Tkaczyk C., Huk O.L., Mwale F., Antoniou J., Zukor D.J., Petit A., Tabrizian M. Effect of chromium and cobalt ions on the expression of antioxidant enzymes in human U937 macrophage-like cells. *Journal of Biomedical Materials Research, Part A*, 2010, pp. 419-425, doi: 10.1002/jbm.a.32688.

17. Kubrak O.I., Lushcak O.V., Lushcak J.V., Torous I.M., Storey J.M., Storey K.B., Lushchak V.I. Chromium effects on free radical processes in goldfish tissues: Comparison of Cr(III) and Cr(VI) exposures on oxidative stress markers, glutathione status and antioxidant enzymes. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 2010, vol. 152, iss. 3, pp. 360-370, doi: 10.1016/j.cbpc.2010.06.003.

18. Упитис В.В. *Макро- и микроэлементы в оптимизации минерального питания микроводорослей*. Рига: Зинатне, 1983, 240 с. [Upitis V.V. *Macro and microelements in the optimization of mineral nutrition of microalgae*. Riga, Zinatne Publ., 1983, 240 p. (In Russ.)]

19. Volland S., Lutz C., Michalke B., Lutz-Meindl U. Intracellular chromium localization and cell physiological response in the unicellular alga *Micrasterias*. *Aquatic Toxicology*, 2012, vol. 109, pp. 59-69, doi: 10.1016/j.aquatox.2011.11.013.

20. Mertz W. Chromium occurrence and function in biological system. *Physiological Reviews*, 1969, vol. 49, no. 2, pp. 163-239, doi: 10.1152/physrev.1969.49.2.163.

#### EFFECT OF $Cr_2(SO_4)_3$ ON A STATUS OF *CHLORELLA VULGARIS* CULTURE CELLS UNDER THE DIFFERENT CONTENT OF NITROGEN SOURCE – $KNO_3$ IN THE NUTRIENT MEDIUM

Ilyuchik I.A., Zakharevich L.O., Nikandrov V.N.

Polessky State University

*Dnieper flotilla str., 23, Pinsk, 225710, Republic of Belarus; e-mail: irina.iliuchik@mail.ru*

Received 20.07.2022. DOI: 10.29039/rusjbp.2022.0526

**Abstract.** The  $Cr_2(SO_4)_3$  effect at  $10^{-2}$ – $10^{-8}$  M concentration on the biomass yield, the concentration of intracellular protein, chlorophylls **a** and **b**, and carotenoids on the culture of *Chlorella vulgaris* strain C 111 IBCE C-19 was studied. In separate experiment series, the nitrogen source,  $KNO_3$  concentration was increased by 10 and 20%. Chromium (III) had an ambiguous effect on the functional and metabolic state of the chlorella culture, depending on its concentration and the nitrogen source –  $KNO_3$  concentration. In general, at 5.0 g/l  $KNO_3$  concentration, chromium sulfate in the  $10^{-2}$ – $10^{-6}$  M concentration inhibited the algae culture development, and at the maximum concentration caused rapid death. In the initial period of cultivation, the level of chlorophylls **a** and **b** sharply increased, which, apparently, was of a compensatory-adaptive nature. From the side of biomass, the level of intracellular protein, chlorophylls, no dynamics of an oscillatory nature, inherent in the control variant of the nutrient medium, was revealed. An increase in the concentration of  $KNO_3$  to 5.5 g/l at  $Cr_2(SO_4)_3$   $10^{-4}$ – $10^{-8}$  M concentration was not only accompanied by an increase in biomass, but also by a noticeable (17–74%) increase in the intracellular protein level, a decrease in the “tension” of the photosynthetic apparatus (judgment by the level of pigments) and restoration of the oscillatory dynamics of photosynthetic pigments. A further increase in the potassium nitrate concentration did not give a positive result and led to the aggravation of the chlorella culture functional and metabolic state.

**Key words:** culture of chlorella, chromium (III) sulfate, potassium nitrate, biomass, intracellular protein, chlorophylls, carotenoids.