ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ ՊՈԱԿ

ՔԱԼԱՆԹԱՐՅԱՆ ՆԱՐԻՆԵ ՔԱԼԱՆԹԱՐԻ

ՄԻԿՐՈՋՐԻՄՈՒՌՆԵՐԻ ԵՎ ՑԻԱՆՈԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ԿԵՆՍԱԲԱԶՄԱԶԱՆՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆՆ ՈՒ *PARACHLORELLA KESSLERI* ՄԻԿՐՈՋՐԻՄՈՒՌԻ ԿԵՆՍԱՏԵԽՆՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՆԵՐՈՒԺԻ ԳՆԱՀԱՏՈՒՄԸ

Գ.00.07 - «Միկրոբիոլոգիա. կենսատեխնոլոգիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ – 2020

НПЦ «АРМБИОТЕХНОЛОГИЯ» НАН РА ГНКО

КАЛАНТАРЯН НАРИНЕ КАЛАНТАРОВНА

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ, ОЦЕНКА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА МИКРОВОДОРОСЛИ *PARACHLORELLA KESSLERI*

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.07 – «Микробиология. биотехнология»

Ереван - 2020

Ատենախոսության թեման հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» գիտաարտադրական կենտրոնում:

Գիտական ղեկավար՝ ան.գ.թ. Վիգեն Բորիսի Գոգինյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ ՀՀ ԳԱԱ թղթակից անդամ, կ.գ.դ., պրոֆեսոր, Արմեն Համբարձումի Թռչունյան
կ.գ.թ. Արթուր Ալբերտի Համբարձումյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ ՀՀ ԳԱԱ Կենդանաբանության և հիդրոէկոլոգիայի գիտական կենտրոն

Ատենախոսության պաշտպանությունը կայանալու է 2020թ. դեկտեմբերի 4-ին ժամը 15^{00}-ին ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ում գործող ՀՀ ԲՈԿ-ի Կենսատեխնոլոգիայի 018 մասնագիտական խորհրդի նիստում:
Հասցե՝ 0056, ՀՀ, ք. Երևան, Գյուրջյան 14, հեռ./ֆաքս՝ (+374 10) 65 41 80:
Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի գրադարանում:
Սեղմագիրն առաքված է 2020թ. հոկտեմբերի 26-ին:

Մասնագիտական խորհրդի
գիտական քարտուղար, կ.գ.թ. Գ.Ե. Ավետիսովա

Тема диссертации утверждена в Научно-производственном Центре «Армбиотехнология» НАН РА.

Научный руководитель: к.в.н. Виген Борисович Гогинян

Официальные оппоненты: член-корреспондент НАН РА, д.б.н., профессор, Армен Амбарцумович Трчунян
к.б.н. Артур Альбертович Амбарцумян

Ведущая организация: Научный Центр Зоологии и Гидроэкологии НАН РА

Защита диссертации состоится 4 декабря 2020 г. в 15^{00} часов на заседании специализированного совета 018 Биотехнология ВАК РА, действующего при НПЦ «Армбиотехнология» НАН РА.
Адрес: 0056, РА, г. Ереван, ул. Гюрджяна 14, тел./факс: (+374 10) 65 41 80.
С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НПЦ «Армбиотехнология» НАН РА.
Автореферат диссертации разослан 26 октября 2020 г.

Ученый секретарь
специализированного совета, к.б.н. Г.Е. Аветисова

ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ

<u>Ատենախոսության թեմայի արդիականությունը</u>: Միկրոջրիմուռները հանդիսանում են արագ աճող ֆոտոսինթեզող միաբջիջ և/կամ գաղութային օրգանիզմների հավաքական խումբ [Bold, 1973], որոնք տարածված են բնակության բոլոր հնարավոր վայրերում, ներառյալ էքստրեմալ պայմաններով բնութագրվող տեղանքներում: Նրանք հանդիպում են երկրագնդի բոլոր աշխարհամասերում և ջրային ավազաններում, աճում են ցամաքում, քաղցրահամ և աղի ջրում [Голлербах, 1977; Lewis, 2004]:

Որպես ածխածնի աղբյուր միկրոջրիմուռներն օգտագործում են ածխաթթու գազ, ինչպես նաև լուծելի կարբոնատային աղեր: Միկրոջրիմուռները հագեցնում են մթնոլորտը թթվածնով, նրանք են իրականացնում երկրագնդի ֆոտոսինթեզի շուրջ 50%-ը [Huntley, 2007]:

Միկրոջրիմուռների հանդեպ մեծ հետաքրքրությունը պայմանավորված է կենսազանգվածի կուտակման առավել բարձր արագությամբ (20-30 անգամ)՝ համեմատած ավանդական գյուղատնտեսական մշակաբույսերի հետ: Հաշվարկները ցույց են տվել, որ միկրոջրիմուռի 1 կգ կենսազանգվածի արտադրման համար պահանջվում է 10-30 անգամ ավելի փոքր մակերես, ընդ որում, կարելի է օգտագործել գյուղատնտեսական մշակման համար ոչ պիտանի կամ վերամշակում պահանջող հողեր [Моисеев, 2009]:

Միկրոջրիմուռների կենսաբազմազանությունը հսկայական է. գոյություն ունեն ավելի քան 30 հազար բազմատեսակ ջրիմուռներ, որոնք կարող են ապրել ինչպես առանձին, այնպես էլ ստեղծել շղթաներ կամ խմբեր [Guiry, 2013]: Միկրոջրիմուռներն օժտված են ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական հատկությունների լայն սպեկտրով, հանդիսանում են սննդանյութերի արժեքավոր աղբյուր: Միկրոջրիմուռների մեծ մասն արտադրում են կարոտինոիդներ, հակաօքսիդանտներ, ճարպաթթուներ, ֆերմենտներ, կենսապոլիմերներ (ալգինատներ), ամինաթթուներ և պեպտիդներ, տոքսիններ և այլ արժեքավոր նյութեր [Backer, 2007; Pulz, 2004; Harun, 2010; Guedes, 2011]:

Վերջին տարիներին այս ոլորտում գիտական հետազոտությունների մեծ մասն ուղղված է միկրոջրիմուռների՝ որպես արժեքավոր նյութերի արտադրիչների պոտենցիալի բացահայտմանը: Նրանք կարող են հումք հանդիսանալ լայն սպեկտրի միացությունների ստացման համար. կոսմետիկ միջոցներից և սննդանյութերից մինչև պլաստիկի և կենսավառելիքի տարբեր տեսակներ [Olaizola, 2003; Chisti, 2007]:

Միկրոջրիմուռներն ընդունակ են սինթեզել նաև մի շարք օրգանական նյութեր և կենսամոլեկուլներ, հանդիսանում են հակաօքսիդանտների աղբյուր [Grima, 2003]: Գիտնականները կանխատեսում են սննդի մեջ ջրիմուռների կիրառման կտրուկ ավելացում մոտ ապագայում [Muller-Feuga, 2000]:

Այսպիսի կանխատեսումները հիմնվում են նրանց հարուստ քիմիական կազմի և բարձր սննդային արժեքի վրա: Ջրիմուռները ոչ միայն հիանալի սննդամթերք են, այլ նաև կենսավառելիքի և էներգիայի աղբյուր [Reith, 2004; Chinasamy, 2010; Chen, 2013]:

Անշուշտ, միկրոջրիմուռների արժեքը կայանում է նրանց կիրառման և արտադրության էկոլոգիական անվտանգության մեջ: Միկրոջրիմուռների օգտագործումն արդյունավետ է նաև թափոնների վերամշակման ոլորտում: Միկրոջրիմուռներն օգնում են պայքարել գլոբալ տաքացման դեմ, քանի որ ֆիքսում են ածխաթթու գազը, իսկ փոխարենն անջատում են թթվածին: Դրա հետ մեկտեղ, միկրոջրիմուռների արտադրության մասշտաբավորումը դեռևս մնում է լուրջ խնդիր: Ներկայումս միկրոջրիմուռների հենքի վրա լիարժեք արդյունաբերական արտադրություն կազմակերպված է միայն β-կարոտինի և աստաքսանտինի համար [Dufosse, 2005; Del Campo, 2007]:

Աշխարհում մեծ հետաքրքրություն է նկատվում միկրոջրիմուռների կենսատեխնոլոգիայի հանդեպ: Բազմաթիվ երկրներում հաջողությամբ աշխատում են միկրոջրիմուռների կենսազանգվածի և նրանցից կենսաբանական նյութերի արտադրման կազմակերպություններ:

Հայաստանը դեռևս զգալիորեն ետ է մնում համաշխարհային մակարդակից: Այնուամենայնիվ, արդեն կուտակված է հայազգի գիտնականների զգալի բազմամյա փորձ, ձևավորված են լավ ուսումնասիրված միկրոջրիմուռների հավաքածուներ, որոնք հանդիսանում են լայն սպեկտրի արժեքավոր նյութերի արտադրիչներ: Արդեն իսկ առկա են որոշակի ձեռքբերումներ՝ միկրոջրմուռների կուլտիվացման համար ֆոտոկենսառեակտորների նախագծման ոլորտում (ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի Այլընտրանքային էներգայի աղբյուրների լաբորատորիա): Այսպիսով, ստեղծված են բոլոր նախադրյալները՝ հանրապետությունում արդյունաբերական ալգոկենսատեխնոլոգիայի ոլորտում նախագծերի հաջող իրականացման համար: Արդի խնդիրների և հետազոտությունների հեռանկարային ուղղությունների վերլուծության արդյունքները հիմք են հանդիսացել սույն ատենախոսական աշխատանքի նպատակների և խնդիրների ձևավորման համար:

<u>Աշխատանքի նպատակը և խնդիրները:</u> Ատենախոսական աշխատանքի նպատակն է հանդիսացել Հայաստանի և Արցախի ջրային էկոհամակարգերում կանաչ միաբջիջ միկրոջրիմուռների և ցիանոբակտերիաների տարածվածության ու կենսաբազմազանության ուսումնասիրումը, միկրոջրիմուռների կուլտուրաների առավել հեռանկարային շտամների կենսատեխնոլոգիական ներուժի գնահատումը: Դրված նպատակի իրականացման համար առաջադրվել են հետևյալ խնդիրները.

• Ուսումնասիրել միկրոջրիմուռների և ցիանոբակտերիաների տարածվածությունը ջրային միջավայրերի բնական պայմաններում (հանքային աղբյուրներ, քաղցրահամ ջրեր, լճեր, գետեր)՝ ի հայտ բերելով դրանց դոմինանտ տեսակները:

• Ուսումնասիրել միկրոջրիմուռների և ցիանոբակտերիաների բնական ջրային աղբյուրների էլեմենտային կազմը: Ստացված տվյալների հիման վրա ընտրել սննդամիջավայրերի օպտիմալ բաղադրություններ՝ լաբորատոր և կիսաարտադրական պայմաններում շտամների հետագա կուլտիվացման համար:

• Մեկուսացնել միկրոջրիմուռների և ցիանոբակտերիաների առավել հեռանկարային շտամների մոնոկուլտուրաներ:

• Ուսումնասիրել նրանց աճի դինամիկան և ճարպաթթուներ կուտակելու ընդունակությունը՝ փորձարարական պայմաններում:

• Ընտրված միկրոջրիմուռի համար մոլեկուլային գենետիկական մեթոդներով և ռԴՆԹ գեների անալիզի կիրառմամբ բացահայտել միկրոջրիմուռի առավել հեռանկարային շտամի տեսակային պատկանելիությունը: Իրականացնել համեմատական և ֆիլոգենետիկ անալիզ՝ միկրոջրիմուռների հայտնի տեսակների հետ՝ մերձազգակցական կապերի բացահայտման նպատակով:

• Իրականացնել միկրոջրիմուռի կենսազանգվածի մշակման և հավաքման տարբեր եղանակների համեմատական վերլուծություն:

• Ուսումնասիրել ստացված կենսազանգվածի ֆիզիկաքիմիական և կենսաքիմիական ցուցանիշները (ճարպաթթվային, սպիտակուցային, ամինաթթվային և ածխաջրային կազմերը)՝ կենսատեխնոլոգիական ներուժի գնահատման նպատակով:

• Ուսումնասիրել միջավայրի և կուլտիվացման գործոնների ազդեցությունը միկրոջրիմուռի աճի դինամիկայի և ճարպաթթուների կազմի վրա:

<u>Աշխատանքի գիտական նորույթը</u>: Ատենախոսական աշխատանքն իրենից ներկայացնում է առաջին համալիր հետազոտությունը՝ ուղղված սույն գիտական հետազոտությունների իրականացման ընթացքում մեկուսացված *Parachlorella kessleri* [Fott, 1969; Krienitz, 2012] միաբջիջ կանաչ միկրոջրիմուռի կենսաբանական և արտադրողական հատկությունների ուսումնասիրմանը:

Առաջին անգամ իրականացվել են Հայաստանի տարբեր հանքային և քաղցրահամ ջրամբարներից վերցված ջրի 18 նմուշների ֆիզիկաքիմիական և մանրէաբանական անալիզներ: Ելնելով էկոլոգիական և աշխարհագրական ծագման առանձնահատկություններից՝ ալգոլոգիապես մաքուր

կուլտուրաների տեսքով մեկուսացվել են միաբջիջ կանաչ միկրոջրիմուռների 12 և ցիանոբակտերիաների 7 շտամներ:

Առաջին անգամ 18S ռԴՆԹ-ն կոդավորող մարկերային միջուկային գենում որոշվել է նուկլեոտիդների հաջորդականությունը, ինչը հիմք է հանդիսացել նախկինում որպես *Chlorella vulgaris* նույնականացված շտամի տաքսոնոմիական կարգավիճակի *Parachlorella kessleri*-ի փոփոխման համար (նուկլեոտիդային հաջորդականությունների 99% նույնականություն): Հետազոտված միկրոջրիմուռի համար իրականացվել է համեմատական և ֆիլոգենետիկ անալիզ, ի հայտ են բերվել ուսումնասիրման օբյեկտների մերձազգակցական կապերը միկրոջրիմուռների հայտնի տեսակների հետ:

Առաջին անգամ համեմատական տեսանկյունից ուսումնասիրվել է կենսազանգվածի առաջացման արագությունը, կատարվել է տարբեր եղանակներով կենսազանգվածի ստացման արդյունավետության գնահատում, պարզաբանվել են շտամի ֆիզիկաքիմիական և կենսաքիմիական ցուցանիշները: Ընտրված միկրոջրիմուռների և ցիանոբակտերիաների շտամների մոտ ի հայտ են բերվել կենսազանգվածների լիպիդային, ճարպաթթվային, սպիտակուցային, ամինաթթվային և ածխաջրային կազմերը՝ լաբորատոր և կիսաարտադրական պայմաններում:

<u>Աշխատանքի գործնական նշանակությունը</u>: Հետազոտությունների արդյունքում ստացված տվյալները թույլ են տալիս որոշել միկրոջրիմուռների հեռանկարային շտամների մասսայական կուլտիվացման և կենսազանգվածի հավաքման պայմանների որոնման ուղղությունները և եղանակները: Կանաչ միաբջիջ միկրոջրիմուռ *P. kessleri*-ի ալգոլոգիապես մաքուր կուլտուրան կարող է ծառայել որպես համապարփակ օբյեկտ՝ ինչպես հիմնարար գիտական հետազոտությունների իրականացման համար, այնպես էլ կիրառական, այդ թվում, ճարպերով, ճարպաթթուներով, սպիտակուցներով, ամինաթթուներով, ածխաջրերով, պիգմենտներով և այլ կենսատեխնոլոգիապես արժեքավոր միացություններով հարուստ կենսազանգվածի արտադրման համար: Տեղական շտամ-արտադրիչների ստացումը, նրանց հստակ նույնականացումն ունի մեծ գործնական նշանակություն՝ Հայաստանում միկրոջրիմուռների օգտագործմամբ կիրառական և նորարարական աշխատանքների իրականացման համար: Ստացված արդյունքների վերլուծությունն օգտակար կլինի միկրոջրիմուռների այլ տեսակների մոլեկուլային-գենետիկական առանձնահատկությունների ուսումնասիրման գործում, մորֆոլոգիական բնութագրիչների հիման վրա նույնականացման հետ կապված խնդիրների լուծման համար, ինչպես նաև ալգոֆլորայի այլ խմբերի ներկայացուցիչների հետազոտության

ռազմավարության և եղանակների ընտրության հարցում: Կանաչ միաբջիջ միկրոջրիմուռ *P. kessleri*-ի ալգոլոգիապես մաքուր կուլտուրան ավանդադրվել է ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի «Մանրէների ավանդադրման կենտրոն» հիմնարկի մանրէների հավաքածուում՝ MDC 6524 համարի ներքո, իսկ նուկլեոտիդային հաջորդականությունը մուտքագրվել է GenBank տվյալների բազայում՝ SUB7581476 18S MT649400 կոդով:

<u>Պաշտպանության ներկայացվող հիմնական դրույթները:</u> Անջատված և ուսումնասիրված կանաչ միաբջիջ միկրոջրիմուռ *P. kessleri*-ի նոր շտամը բնութագրվում է կենսազանգվածի կուտակման բարձր արագությամբ: Այն պարունակում է գործնականում մեծ արժեք ներկայացնող հագեցած, մոնոչհագեցած և պոլիչհագեցած ճարպաթթուներ (α-լինոլենաթթու, γ-լինոլենաթթու, էյկոզապենտաենաթթու), անփոխարինելի, պայմանական անփոխարինելի և փոխարինելի ամինաթթուներ (ասպարագինաթթու, սերին, ալանին, գլուտամինաթթու, գլիցին, արգինին, թիրոզին, հիստիդին, թրեոնին, ֆենիլալանին, իզոլեյցին, լեյցին, լիզին), ածխաջրեր (լիգնին, գլյուկան, քսիլան, արաբինան) և պիգմենտներ (քլորոֆիլ *a* և *b*, կարոտինոիդներ):

<u>Ատենախոսական աշխատանքի կապը գիտական թեմաների հետ</u>: Ատենախոսական աշխատանքն իրականացվել է ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ում «Հետազոտություններ կենսատեխնոլոգիայի և մանրէաբանության բնագավառներում» բազային ծրագրի՝ «Ֆոտոսինթեզող մանրէների կենսաբանական առանձնահատկությունների ուսումնասիրումը և դրանց հեռանկարային կիրառումը կենսատեխնոլոգիայում» աշխատանքների, ՀՀ ԿԳՄՍՆ ԳԿ-ի 13ՐԲ-043 «5-ամինոլևուլինային թթվի եթերների ազդեցությամբ չհագեցած ճարպաթթուներ արտադրող միկրոջրիմուռների և ցիանոբակտերիաների հետազոտումը էկոլոգիական և կենսաբանական տեսանկյունից», ինչպես նաև Horizon2020-MSCA-RISE-2015 «People for tHe eurOpean bio-ENergy mIX» - «Phoenix» (պայմանագիր №690925) գիտական և գիտատեխնիկական ծրագրերի շրջանակներում: Ատենախոսական աշխատանքի արդյունքները ներկայացվել են ծրագրերի ընթացիկ և տարեկան հաշվետվություններում:

<u>Աշխատանքի իրականացման վայրը</u>: Ատենախոսական աշխատանքն իրականացվել ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի Այլընտրանքային էներգիայի աղբյուրների լաբորատորիայում, ՀՀ ԳԱԱ Երկրաբանական գիտությունների ինստիտուտում և Պորտուգալիայի Էներգիայի և երկրաբանության ազգային լաբորատորիայում (ք. Լիսաբոն): Միկրոջրիմուռների տեսակային պատկանելիության որոշումը՝ 18S ռԴՆԹ-ի

գենի նուկլեոտիդային հաջորդականության մասնակի վերծանումը, իրականացվել է «Macrogen» ընկերության (Սեուլ, Հարավային Կորեա) կողմից:

<u>Ատենախոսի անձնական ներդրումը</u>: Հետազոտությունների ուղղվածության որոշումը, խնդրի ձևակերպումը, նպատակների և առաջադրանքների ընտրությունը, փորձարարական ու մեթոդաբանական մոտեցումների մշակումն ու ընտրությունը, ստացված արդյունքների վերլուծությունն ու ընդհանրացումն իրականացվել են ատենախոսության գիտական ղեկավար ան.գ.թ. Վ. Գոգինյանի գլխավորությամբ:

Ատենախոսական աշխատանքի ընթացքում, բացի գիտական ղեկավարից, լրացուցիչ խորհրդատվական օգնություն ցուցաբերել են ՀՀ ԳԱԱ Երկրաբանական գիտությունների ինստիտուտի ավագ գիտաշխատող, կ.գ.թ. Պետրոս Թոզալաքյանը, Պորտուգալիայի Լիսաբոն քաղաքի Էներգիայի և երկրաբանության ազգային լաբորատորիայի առաջատար գիտաշխատող ք.գ.դ. Լուիս Դուարտեն:

Գործընկերների մասնակցությունը հետազոտությունում արտահայտված է համատեղ հրապարակումներում: Հրապարակումներում համահեղինակների իրավունքները պաշտպանված են:

<u>Ատենախոսական աշխատանքի ապրոբացիան</u>: Հետազոտության արդյունքները բանավոր և ստենդային զեկույցների ձևով ներկայացվել են միջազգային և հանրապետական հետևյալ գիտաժողովներում.

1. FEMS International Conference «Microbes: Biology & Application» (Yerevan, October 9-11, 2019), բանավոր զեկույց,
2. 4th Iberoamerican Congress on Biorefineries (University of the Jaén, Spain, October 24-26, 2018), ստենդային զեկույց,
3. 3rd eseia Conference on «Smart Energy Systems in Cities and Regions» (Dublin, Ireland, April 10-12, 2018), ստենդային զեկույց,
4. 4rd International Scientific Conference of Young Researchers «Biotechnology: Science and Practice» (Yerevan, September 28-30, 2017), բանավոր զեկույց,
5. International Conference «Rural-Urban Symbiosis» (RAMIRAN-2015) (Hamburg, Germany, October 7-11), ստենդային զեկույց,
6. 3rd International Scientific Conference of Young Researchers «Dialogues on Sciences» (Yerevan, June 23-26, 2015), մասնակից,
7. International Scientific Workshop «Trends in Microbiology and Microbial Biotechnology» (Yerevan, October 5-8, 2014), բանավոր զեկույց:

Ատենախոսության նյութերը պարբերաբար զեկուցվել են նաև ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի գիտական խորհրդի նիստերում՝ ասպիրանտների և հայցորդների տարեկան հաշվետվությունների ժամանակ:

<u>Հրատարակված աշխատությունները</u>: Ատենախոսության հիմնական դրույթներն ու արդյունքներն ամփոփված են 12 գիտական աշխատություններում, այդ թվում 6 հոդվածում, որից 2-ն առանց համահեղինակների և գիտաժողովների 6 թեզիսներում:

<u>Աշխատանքի կառուցվածքը և ծավալը</u>: Ատենախոսական աշխատանքի նյութը շարադրված է տպագիր տեքստի 139 էջի վրա և ներառում է 37 նկար ու 19 աղյուսակ: Ատենախոսությունը կազմված է հետևյալ բաժիններից՝ «Ներածություն», «Գրական ակնարկ», «Հետազոտության օբյեկտը, նյութերը և մեթոդները», «Փորձարարական մաս: Ստացված արդյունքների քննարկում», «Եզրակացություններ», «Օգտագործված գրականության ցանկ», որն իր մեջ ներառում է 217 անվանում գիտական հոդում և մեկ հավելված:

ԳԼՈՒԽ 1.
ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ

«Գրական ակնարկ» գլխում մանրամասն շարադրված է խնդրի արդի դրվածքը: Ներկայացված են տվյալներ կանաչ միկրոջրիմուռների կենսաբազմազանության, բնության մեջ դրանց դերի և նյութափոխանակային առանձնահատկությունների մասին, ինչպես նաև բերված են տվյալներ՝ միկրոջրիմուռների դասակարգման ժամանակակից մոտեցումների մասին: Մանրամասն քննարկված են միկրոջրիմուռների կուլտիվացման և կենսատեխնոլոգիական կիրառության ժամանակակից մոտեցումները: Բերված են տվյալներ աշխարհում, և մասնավորապես Հայաստանում, ալգոլոգիայի՝ որպես գիտություն, զարգացման մասին:

ՓՈՐՁՆԱԿԱՆ ՄԱՍ
ԳԼՈՒԽ 2. ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅԱՆ ՕԲՅԵԿՏԸ, ՆՅՈՒԹԵՐԸ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ

Հետազոտության օբյեկտ են հանդիսացել Հայաստանի և Արցախի տարբեր ջրային էկոհամակարգերից մեկուսացված միաբջիջ կանաչ և կապտականաչ ջրիմուռների (ցիանոբակտերիաների) մոնոկուլտուրաները:

Միկրոջրիմուռների և ցիանոբակտերիաների կենսաբազմազանությունն ուսումնասիրելու համար վերցված ջրերի նմուշներում K^+ և Na^+ իոնները որոշվել են ատոմային-աբսորբցիոն եղանակով, AAS^{-1}, NH_4^+, $Fe_{\text{ընդհ}}$, Mn^{2+}, $Cr_{\text{ընդհ}}$, NO^{3-}, NO^{2-}, SiO_2 իոնները՝ գունաչափական եղանակով, իսկ Ca^{2+}, Mg^{2+},

Cl^-, HCO_3^- իոնները՝ տիտրաչափական եղանակով [Муликовская, 1970; Фомин, 1992]:

Կուլտիվացման համար օգտագործվել են հետևյալ սննդամիջավայրերը՝ Բոլդի հիմնական սննդամիջավայր [Bischoff, 1963], Պիննիչի և Վերզիլինի մոդիֆիկացմամբ Տամիայի սննդամիջավայր [Tamiya, 1956; Пиневич, 1960], Զառուկայի սննդամիջավայր [Владимирова, 1991], Արտարիի սննդամիջավայր [Гайсина, 2008]: Կուլտիվացումն իրականացվել է 26-28^{0}C ջերմաստիճանում՝ 2000 լյուքս շուրջօրյա լուսավորություն պայմաններում:

Կուլտուրաների մաքրությունը գնահատվել է մանրադիտակային եղանակով:

Միկրոջրիմուռների կուլտուրաների տաքսոնոմիական դիրքը որոշվել է հետազոտման մոլեկուլային-գենետիկական մեթոդների օգնությամբ: Միկրոջրիմուռների բջիջներից գենոմային ԴՆԹ-ների անջատումն իրականացվել է բենզիլ-քլորիդային մեթոդաբանության համաձայն [Zhu, 1993]: Միկրոջրիմուռների գեների ամպլիֆիկացիան իրականացվել է պոլիմերազային շղթայական ռեակցիայի միջոցով (ՊՇՌ)՝ 18S ռԴՆԹ-ի համար նախատեսված ունիվերսալ պրայմերների զույգի կիրառմամբ: ՊՇՌ-ի արդյունքում ստացված ամպլիկոնները տեսանելի են դարձվել TAE բուֆերում 1%-ոց ագարոզային գելի մեջ՝ հորիզոնական էլեկտրոֆորեզի եղանակով [Brody, 2004]: Ամպլիֆիկացված հաջորդականությունների սեքվենավորումն իրականացվել է «Մակրոգեն» ընկերությունում:

Միկրոջրիմուռների աճը գնահատվել է սպեկտրոֆոտոմետրիկ չափումների միջոցով՝ 540 նմ ալիքի երկարության տակ՝ կլանման սպեկտրի որոշմամբ: Աճի գործակիցը (μ, օր$^{-1}$) լոգարիթմական փուլում հաշվարկվել է համաձայն $\mu=\ln(N/N_0)/t$ բանաձևի [Шлегель, 1987]:

Կուլտուրալ հեղուկից միկրոջրիմուռի կենսազանգվածի անջատման համար կիրառվել են հետևյալ եղանակները՝ սեդիմենտացիա, ֆլոկուլացում որոշ անօրգանական միացություններով (CaO, $Al_2(SO_4)_3$, ալյումինե էլեկտրոդներով էլեկտրակոագուլյացիա և ցենտրիֆուգում: Կենսազանգվածները չորացվել են լիոֆիլ չորացման սարքով:

Չոր կենսազանգվածում խոնավության պարունակությունը որոշվել է համաձայն National Renewable Energy Laboratory (NREL, ԱՄՆ) լաբորատոր անալիտիկ ցուցումների [Stefanie, 2015]:

Միկրոջրիմուռի նմուշում քլորոֆիլ *a*-ի և *b*-ի պարունակությունը որոշվել է նմուշի ացետոնային էքստրակտի սպեկտրոֆոտոմետրիկ չափումների միջոցով [Costache, 2012]:

Չոր կենսազանգվածներից լիպիդների էքստրակտումը կատարվել է Բլայի և Դայերի մեթոդով [Bligh, 1959]: Ճարպաթթուների մեթիլ էսթերների կազմն ուսումնասիրվել է DB-5-MS մազանոթային աշտարակով հագեցած Shimadzu

GCh-2010 գազային քրոմատոգրաֆի միջոցով: Միկրոջրիմուռի չոր կենսազանգվածի ճարպաթթվային կազմը որոշվել է նաև Լեպեյջի և Ռոյի մեթոդով՝ մոդիֆիկացված գազ-քրոմատոգրաֆիական անալիզի համար [Lepage, 1984]:

Միաբջիջ կանաչ միկրոջրիմուռի կենսազանգվածում մոդիֆիկացված Կելդալի մեթոդով [American Publ., 1998] որոշվել է սպիտակուցների քանակությունը: Միկրոջրիմուռի չոր կենսազանգվածում ամինաթթուների ընդհանուր կազմը որոշելու համար կատարվել է կենսազանգվածի թթվային հիդրոլիզ՝ կոնցենտրիկ աղաթթվով, ազատ ամինաթթուների կազմը որոշելու համար կատարվել է էքստրակտում՝ 30%-ոց էթիլ սպիրտով: Ամինաթթուների առկայությունը ստուգվել է ինչպես նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիական մեթոդով, այնպես էլ RF20A “Shimadzu” լուսազգայուն դետեկտորով հագեցած “Shimadzu Nexera X2” ամինաթթվային անալիզատորի օգնությամբ:

Միկրոջրիմուռի չոր կենսազանգվածում կառուցվածքային բազմաշաքարների և լիգնինի որոշումն իրականացվել է NREL/TP-510-42618-ի համաձայն [Sluiter, 2012]:

Փորձերի արդյունքում ստացված բոլոր տվյալների վերլուծությունը կատարվել է MS Office ծրագրային փաթեթի Exel ծրագրով: Արդյունքները հավաստի են համարվել $p<0,05$ (95% հավաստիության մակարդակ) դեպքում:

ԳԼՈՒԽ 3. ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՄԱՍ: ՍՏԱՑՎԱԾ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԻ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄ

3.1. Հայաստանի որոշ հանքային ջրերի ֆիզիկաքիմիական անալիզ, միկրոջրիմուռների և ցիանոբակտերիաների կենսաբազմազանության ուսումնասիրում, առանձին կուլտուրաների մեկուսացում

Միկրոջրիմուռների և ցիանոբակտերիաների առավել հեռանկարային շտամ-արտադրիչների ստացման նպատակով ընտրված ջրի նմուշներում իրականացվել է ալգոլոգիական մոնիթորինգ:

Թարթառ գետից վերցված ջրի նմուշից մոնոկուլտուրայի տեսքով մեկուսացվել են *Chlorella* տեսակի 4 տարբեր միկրոջրիմուռներ և ցիանոբակտերիայի մեկ կուլտուրա՝ *Phormidium* sp.: Ողջի գետում մեկուսացման աշխատանքների արդյունքում հաջողվել է անջատել *Scenedesmus* տեսակի 3 տարբեր կուլտուրաներ, որոնք հանդիսացել են այս գետի ջրերում առկա միկրոջրիմուռների դոմինանտ տեսակները: Վարդենիս գետից վերցված ջրի նմուշում կենսաբազմազանության տեսանկյունից ավելի հետաքրքիր պատկեր է նկատվել, այսեղից մեկուսացվել են 3 տարբեր տեսակի միկրոջրիմուռներ՝ *Pandorina* sp., *Chlorococcum* sp. և *Chlorella*: Արգիճի գետից վերցրած ջրի նմուշից հաջողվել է մեկուսացնել 2 տարբեր

տեսակի միկրոջրիմուռներ՝ *Chlorella* և *Scenedesmus*: Ուսումնասիրված բոլոր հանքային ջրերում և Սևանա լճից վերցված նմուշներում դոմինանտ տեսակները հանդիսացել են ցիանոբակտերիաները: Արզնի և Ջերմուկի հանքային ջրերի նմուշներից անջատվել են ցիանոբակտերիաների 2-ական տարբեր կուլտուրաներ, համապատասխանաբար՝ *Microcystis* և *Phormidium* ու *Anabaena* և *Oscillatoria* տեսակներին պատկանող: Սևանա լճի և Կարճաղբյուր գետի ջրի նմուշներից անջատվել են ցիանոբակտերիաների մեկական կուլտուրաներ՝ *Synechococcus* sp. և *Microcystis* sp.:

Այսպիսով, մեկուսացման աշխատանքների արդյունքում, համաձայն նախնական մանրադիտակային հետազոտությունների արդյունքների, պարզվել է, որ ուսումնասիրված ջրերի նմուշներում գերակշռում են *Chlorellaceae* ընտանիքին պատկանող միկրոջրիմուռները: Ուսումնասիրված բոլոր հանքային ջրերում և Սևանա լճից վերցված բոլոր ջրերի նմուշներում դոմինանտ տեսակները հանդիսացել են ցիանոբակտերիաները:

Մեկուսացված կուլտուրաները ներառվել են ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի Այլընտրանքային էներգիայի աղբյուրների լաբորատորիայում պահպանվող համապատասխան հավաքածուներում:

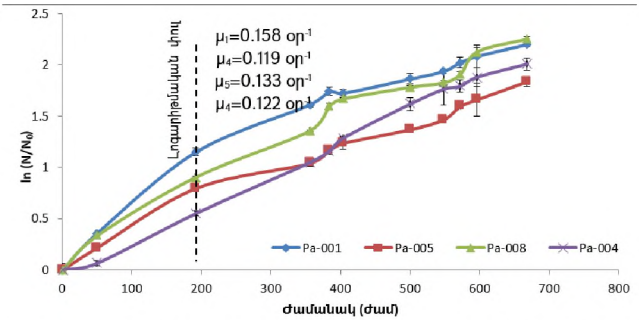
3.2. Անջատված միկրոջրիմուռների և ցիանոբակտերիաների նախնական սկրինինգ՝ կենսազանգվածում ճարպաթթուների օպտիմալ պարունակությամբ շտամ արտադրիչ գտնելու նպատակով

Հետազոտվել է սույն աշխատանքի իրականացման արդյունքում մեկուսացված միկրոջրիմուռների և ցիանոբակտերիաների արտադրողականությունը՝ ըստ կենսազանգվածում ճարպաթթուների պարունակության: Պարզվել է, որ միկրոջրիմուռների որոշ շտամներ համեմատաբար մեծ քանակներով սինթեզում են պալմիտինաթթու ($C_{16:0}$) և ստեարինաթթու ($C_{18:0}$) ճարպաթթուների խառնուրդ, ինչը դարձնում է նրանց առավել հեռանկարային՝ ցետանային թվի օպտիմալ արժեքով (45-50) կենսավառելիքի ստացման համար [Knothe, 2009]: Սինթեզված ճարպաթթուների առավել լայն սպեկտր հայտնաբերվել է Pa-001-*Chlorella vulgaris* միկրոջրիմուռի մոտ: Այս կուլտուրայի կենսազանգվածում առավել բարձր կոնցենտրացիայով հանդիպում են հագեցած ճարպաթթուներ միրիստինաթթուն (2,82%), պալմիտինաթթուն (12,4%), մարգարաթթուն (3,22%), իսկ չհագեցածներից՝ օլեաթթուն (2,68%), լինոլեաթթուն (27,72%), ինչպես նաև օմեգա-3 ճարպաթթուներ՝ α-լինոլենաթթուն (8,92%) էյկոզապենտաենաթթուն (3,76%):

Ցիանոբակտերիաների ճարպաթթվային կազմի ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ բոլոր ուսումնասիրված շտամների մոտ գերակշռում է պալմիտինաթթուն և մեկ չհագեցած կապ պարունակող պալմիտոլեաթթուն,

Մնացած բոլոր ճարպաթթուները, որոնք հայտնաբերվել են ցիանոբակտերիաների մոտ, առկա են ոչ մեծ քանակներով:

Այսպիսով, համեմատական անալիզի արդյունքների հիման վրա հետազոտության համար ընտրված միկրոջրիմուռների և ցիանոբակտերիաների բոլոր շտամներից որպես ճարպաթթուների առավել հեռանկարային արտադրիչներ ընտրվել են միկրոջրիմուռների 4 կուլտուրաներ՝ Pa-001 – *Ch. vulgaris*, Pa-004 - *Scenedesmus acutus*, Pa-005 – *Sc. obliquus*, Pa-008 – *Sc quadricauda*՝ աճի կինետիկան ուսումնասիրելու նպատակով: Կատարվել է ընտրված 4 միկրոջրիմուռների սկրինինգ՝ ըստ աճի արագության: Աճի կորերի (նկար 1) ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ ճարպաթթուների լավագույն արտադրիչ հանդիսացած Pa-001 կուլտուրան ցուցաբերել է առավել մեծ աճի գործակից (μ, օր-1)՝ աճի լոգարիթմական փուլում:



Նկար 1. Ուսումնասիրված միկրոջրիմուռների աճի դինամիկան դիտարկման ժամանակահատվածում

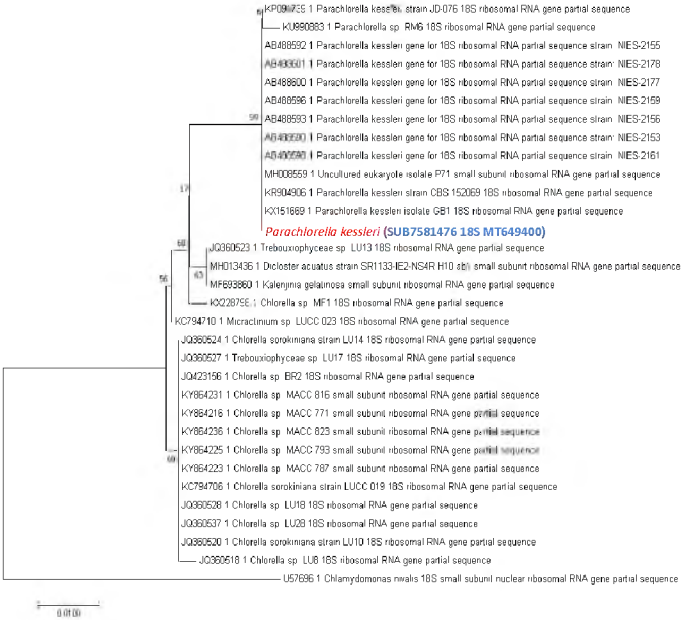
Աճի առավելագույն արագություն ցուցաբերած միկրոջրիմուռը կուլտիվացվել է կիսաարտադրական պայմաններում՝ 80 լիտրանոց կենսառեակտորում: Պարզվել է, որ կենսառեակտորում կուլտիվացման ժամանակ աճի գործակիցը կազմել է 0,45 օր$^{-1}$, մինչդեռ ինչպես վերը նշվել էր, կոլբայում լաբորատոր թափահարիչների վրա այն կազմել էր ընդամենը 0,158: Այսինքն կուլտիվացման ընդամենը մեկ պարամետր փոխելով հնարավոր է դարձել մոտ 3 անագամ ավելացնել կենսազանգվածի կուտակման արագությունը:

3.3. Հետազոտման օբյեկտի տաքսոնոմիական պատկանելիության որոշումը

Մոլեկուլային գենետիկական մեթոդների օգնությամբ և ՌԴՆԹ գեների անալիզի կիրառմամբ կատարված աշխատանքի արդյունքում անալիզի է

ենթարկվել Pa-001 լաբորատոր կուլտուրան: Ավելի վաղ, հաշվի առնելով մորֆոլոգիական, ֆիզիոլոգիական և կուլտուրալ առանձնահատկությունները՝ Pa-001 միկրոջրիմուռի շտամը տեսակային մակարդակում նույնականացվել էր որպես *Ch. vulgaris*:

Ch. vulgaris Pa-001 կուլտուրայի մոլեկուլային գենետիկական անալիզների իրականացման արդյունքում կիրառված ունիվերսալ պրայմերային զույգի միջոցով որոշվել է 18S ռԴՆԹ-ի 371 նուկլեոտիդային զույգերի հաջորդականությունը: *Ch. vulgaris* Pa-001 շտամի ֆիլոգենետիկ դիրքն ըստ 18S ռԴՆԹ գենի անալիզի տվյալների ու NJ և ML մեթոդների համաձայն, ներկայացված է նկար 2-ում:



Նկար 2. Ch. vulgaris Pa-001 (P. kessleri) կուլտուրայի 18s-ռԴՆԹ-ի հիման վրա կոնսեսուսային ML-ծառը

Առավելագույն հավաստիության (ML) մեթոդով (MEGA-X ալգորիթմով, որպես կաղապար կիրառվել են 30 ազգակից տեսակների հաջորդականություններ) կառուցվել է ֆիլոգենետիկական ծառը: Որպես արտաքին խումբ օգտագործվել է *Chlamydomonas* nivalis U57696.1 հաջորդականությունը: Բայեսյան և ML վերլուծությունների հիման վրա ցույց է տրվել, որ *Ch. vulgaris* կուլտուրան ընդհանուր կլաստեր է կազմում GB1 *Parachlorella kessleri*-ի հետ (մուտքի կոդ՝ KX151669.1): Տեսակների ներսում

նուկլեոտիդային տարբերությունների բաժինը (Bootstrup ինդեքս) կազմել է 0,010:

Շտամի 18S ռԴՆԹ նուկլեոտիդային հաջորդականության որոշման արդյունքների վերլուծությունը, որն իրականացվել է megablast որոնողական ալգորիթմի կիրառմամբ, ցույց է տվել, որ *Ch. vulgaris*-ի սեքվենսը 99%-ով նման է 9 տարբեր *Chlorophyceae* շտամների սեքվենսների, որոնք ներկայացնում են *Chlorophyceae* ընտանիքը՝ *Parachlorella kessleri* ցեղի տարբեր մոլեկուլային մակարդակներում:

Այսպիսով, նախկինում որպես *Ch. vulgaris* նույնականացված միկրոջրիմուռի 18S ռԴՆԹ նուկլեոտիդային հաջորդականության անալիզը ցույց տվեց նրա տեսակային պատկանելիությունը *Parachlorella kessleri* տեսակին՝ *Chlorellaceae* ընտանիքի ներսում:

3.4. Տարբեր եղանակներով *P. kessleri* միկրոջրիմուռի կենսազանգվածի ստացման արդյունավետության համեմատական գնահատումը

Ատենախոսական աշխատանքի շրջանակում գնահատվել է կենսազանգվածի ստացման արդյունավետությունը ֆլոկուլացման, էլեկտրակոագուլացման և ցենտրիֆուգման միջոցով: Ֆլոկուլացման արդյունավետությունն ուսումնասիրվել է ալյումինի սուլֆատի (1,0; 2,0; 3,0 գ/լ) և կալցիումի օքսիդի (1,0; 1,5; 2,0 գ/լ) միջոցով: Որոշվել են կուլտուրալ հեղուկի կոնցենտրացման գործակիցները ֆլոկուլանտներից յուրաքանչյուրի համար (աղյուսակ 1), ինչպես նաև էլեկտրակոագուլյացիայի ժամանակ.

Աղյուսակ 1. Կուլտուրալ հեղուկի կոնցենտրացման գործակիցները տարբեր ֆլոկուլանտների և էլեկտրոկոագուլացման դեպքում

Ֆլոկուլանտ	CaO			$Al_2(SO_4)_3$			Էլեկտրակոագուլյացիա
Կոնցենտրացիա (գ/լ)	1	1,5	2	1	2	3	ալյումինե անոդներ, ≈0,07Ա/սմ^2 հոսանք, ≈30Վ լարում, 5 րոպե
Կոնցենտրացմա ն գործակից	4,35	4,55	5,0	5,0	5,26	6,3	6,0

Կատարվել է նաև կուլտուրալ հեղուկից կենսազանգվածի կորզման արդյունավետության դինամիկայի հաշվարկ՝ ֆլոկուլանտի ավելացումից 5; 15; 30 և 60 րոպե անց (աղյուսակ 2):

Աղյուսակ 2. Կենսազանգվածի կորզման արդյունավետությունը

Ժամանակը (րոպե)	Ֆլոկուլանտ					
	CaO			$Al_2(SO_4)_3$		
	1գ/լ	1.5գ/լ	2գ/լ	1գ/լ	2գ/լ	3գ/լ
0,0	0,0	0	0	0	0	0
5,0	85,8	95,3	98,9	79,2	92,1	94,5
15,0	87,5	96,5	99,1	83,6	97,7	98,1
30,0	87,6	97,2	99,2	84,6	98,1	98,7
60,0	89,1	97,3	99,3	85,3	98,3	99,0

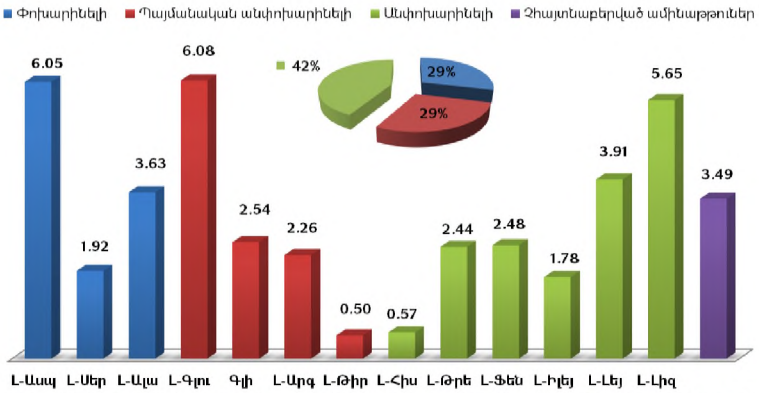
Այսպիսով, կախված ֆլոկուլանտի տեսակից և կոնցենտրացիայից՝ ելային լուծույթի ծավալը կրճատվել է 4,35-ից 6,3 անգամ, իսկ կենսազանգվածի կորզման ամենամեծ ելքը՝ ավելի քան 99%, դիտվել է CaO-ի 2 գ/լ կոնցենտրացիայի դեպքում:

3.5. *P. kessleri* միկրոջրիմուռի կենսազանգվածի ֆիզիկաքիմիական ցուցանիշները

Միկրոջրիմուռների կենսազանգվածի քիմիական հարուստ բաղադրությունը թույլ է տալիս օգտագործել դրանք մի շարք արժեքավոր, առևտրային տեսանկյունից կարևոր նյութերի՝ սպիտակուցների, ածխաջրերի, լիպիդների, վիտամինների, հակաօքսիդանտների, ամինաթթուների, միկրո- և մակրոտարրերի կենսաբանորեն մատչելի ձևերի, ինչպես նաև կենսագազի, ջրածնի, կենսաէթանոլի, կենսադիզելի, պոլիչհագեցած ճարպաթթուների և այլ նյութերի ստացման համար [Сенько, 2012; Backer, 2007; Guedes, 2011; Halim, 2012; Skjanes, 2013]:

P. kessleri միկրոջրիմուռի կենսազանգվածում ընդհանուր սպիտակուցների պարունակության անալիզը կատարվել է Կելդալի եղանակով: Սպիտակուցների ընդհանուր պարունակությունը կազմել է չոր կենսազանգվածի 43,3%-ը: Միկրոջրիմուռի կենսազանգվածի հիդրոլիզատում ամինաթթվային անալիզատորի միջոցով հայտնաբերվել են 13 ամինաթթուներ, այդ թվում 6 անփոխարինելի՝ L-Հիս, L-Թրե, L-Ֆեն, L-Իզոլ, L-Լեյ, L-Լիզ, 4 պայմանական անփոխարինելի՝ L-Գլու, Գլի, L-Արգ, L-Թիր և 3 փոխարինելի՝ L-Ասպ, L-Սեր, L-Ալա (նկար 3):

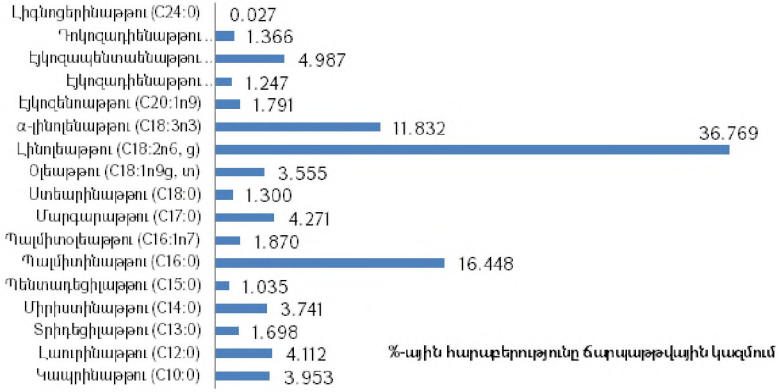
Անփոխարինելի, պայմանական անփոխարինելի և փոխարինելի ամինաթթուների հարաբերակցությունը կազմել է 1,48:1,0:1,02: Պարզվել է, որ *P. kessleri* միկրոջրիմուռի կենսազանգվածում ընդհանուր ամինաթթուների 79,29%-ը կապված ամինաթթուներ են և ներառված են տարբեր սպիտակուցների կազմի մեջ, 20,71%-ը՝ ազատ ամինաթթուներ են:



Նկար 3. P. kessleri միկրոջրիմուռի կենսազանգվածի ամինաթթվային կազմը, %

Կառուցվածքային ածխաջրերի և լիգնինի պարունակության անալիզը ԲԱՀՔ եղանակով ցույց է տրվել, որ նշված միացությունների պարունակությունը *P. kessleri* միկրոջրիմուռի չոր կենսազանգվածում 32,0% է: Պարզվել է, որ այն պարունակում է 7,37% գլյուկան, 9,61% արաբինան, 7,69% քսիլան և 7,37% լիգնին՝ չոր քաշի հաշվով:

P. kessleri միկրոջրիմուռի չոր կենսազանգվածում ճարպաթթուների որակական և քանակական անալիզը ցույց է տվել, որ այն պարունակում է 8,62 % ճարպաթթուներ: Հագեցած և չհագեցած ճարպաթթուների կազմը ներկայացված է նկար 4-ում:



Նկար 4. P. kessleri միկրոջրիմուռի ճարպաթթվային կազմը

P. kessleri միկրոջրիմուռի չոր կենսազանգվածում որոշվել է քլորոֆիլ *a*-ի և քլորոֆիլ *b*-ի պարունակությունը, այն կազմել է համապատասխանաբար 1,27±0,025% և 0,57±0,037%:

3.6. Աճի տարբեր գործոնների ազդեցությունը միկրոջրիմուռի աճի դինամիկայի և ճարպաթթուների կազմի վրա

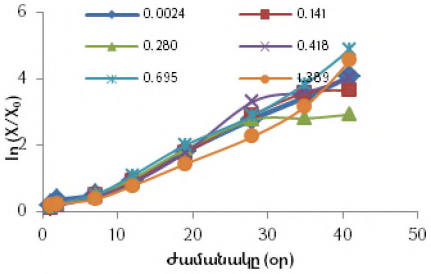
Ուսումնասիրվել է սննդամիջավայրի pH-ի տարբեր արժեքների և ազոտի աղբյուրի տարբեր կոնցենտրացիաների ազդեցությունը *P. kessleri* միկրոջրիմուռի աճի վրա: Նշված պարամետրերի համադրություններն ընտրվել են փորձարարական դիզայնի մեթոդի կիրառմամբ [Doehlert, 1970]: pH-ի համար վերցվել է 4-12 տիրույթը, ազոտի կոնցենտրացիայի համար՝ 0,027-0,373գ/լ: pH=10,0 պայմաններում կուլտիվացման հաջորդ իսկ օրից միկրոջրիմուռը սկսել է աճել, ընդ որում ազոտի աղբյուրի երկու կոնցենտրացիաների (նվազագույն՝ 0,027 գ/լ և առավելագույն՝ 0,373 գ/լ) պարագայում էլ դիտարկվել է համանման աճ՝ 2,565±0,09 և 3,03±0,38՝ համապատասխանաբար: Սննդամիջավայրում ազոտի համանման կոնցենտրացիաների դեպքում (0,027 գ/լ և 0,373 գ/լ), ի տարբերություն pH=10,0-ի, pH=6,0 պայմաններում միկրոջրիմուռն այնքան էլ լավ չի աճել, ինչը կարող է պայմանավորված լինել pH-ի՝ միկրոջրիմուռի համար օպտիմալ արժեքից կտրուկ շեղմամբ: Պարզվել է, որ միկրոջրիմուռի համար սովորական pH-ից կտրուկ տատանումների պայմաններում (pH-ի 12,0; 8,0 և 4,0 արժեքներ) միկրոջրիմուռը՝ ազոտի միևնույն կոնցենտրացիայի պարագայում (0,2 գ/լ) որոշակի ժամանակահատվածի կարիք ունի՝ pH-ի նոր պայմաններին ադապտացվելու համար:

P. kessleri միկրոջրիմուռի աճը գնահատվել է նաև միայն ազոտի աղբյուրի տարբեր կոնցենտրացիաների պայմաններում: Վերցվել են ազոտի հետևյալ կոնցենտրացիաները. 0,0024; 0,141; 0,28; 0,418; 0,695, 1,389:

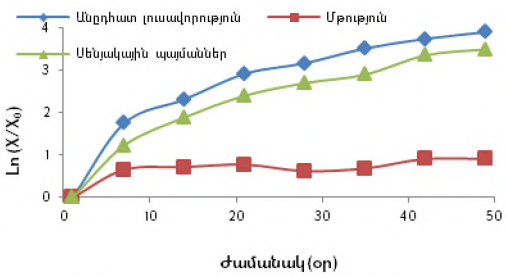
Աճի դինամիկայի ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ *P. kessleri* միկրոջրիմուռի աճը գրեթե կախված չէ ազոտի կոնցենտրացիայից, բոլոր նմուշներում դիտարկվել է համանման աճ (նկար 5):

Ճարպաթթուների կազմի ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ այն մեծապես կախված է սննդամիջավայրում ազոտի կոնցենտրացիայից: Ճարպաթթուների նվազագույն քանակությունները հայտնաբերվել են ազոտի 0,695 և 1,389 գ/լ պարունակությունների դեպքում. 0,695 գ/լ-ի դեպքում ընդամենը 4 տարբեր հագեցած ճարպաթթուներ, 1,389 գ/լ-ի դեպքում 1 հագեցած և 3 չհագեցած, այդ թվում $C_{18:3n3}$ ω-3 ճարպաթթուն: 0,0024 և 0,141 գ/լ կոնցենտրացիաների դեպքում յուրաքանչյուր նմուշում հայտնաբերվել են 8 ճարպաթթու: Սակայն, ի տարբերություն 0,0024 գ/լ-ի, որտեղ գերակշռում են հագեցած ճարպաթթուները և միայն 2 չհագեցած ճարպաթթու ($C_{16:1n7}$ և $C_{17:1}$) է

հայտնաբերվել, 0,141 գ/լ կոնցենտրացիայի դեպքում հայտնաբերվել են 4-ական հագեցած և չհագեցած ճարպաթթուներ: 0,28 գ/լ-ի դեպքում ի հայտ է բերվել 7 ճարպաթթու, ընդ որում կրկին գերակշռել են հագեցած ճարպաթթուները, միայն 2 չհագեցած ճարպաթթու է հայտնաբերվել ($C_{17:1}$ և $C_{18:2n6c}$): 0,418 գ/լ-ի պարագայում հայտնաբերվել են 5 ճարպաթթուներ, որոնցից միայն մեկն է հանդիսացել չհագեցած՝ $C_{18:3n3}$ ω-3 ճարպաթթուն:



Նկար 5. P. kessleri միկրոջրիմուռի աճի դինամիկան ազոտի տարբեր կոնցենտրացիաներով սննդամիջավայրերում



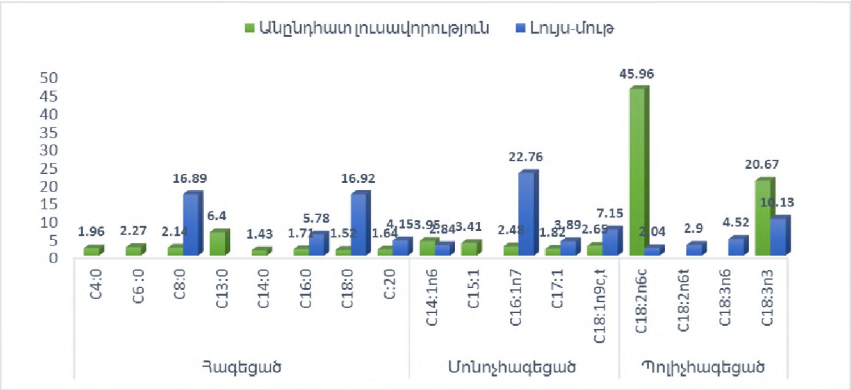
Նկար 6. P. kessleri միկրոջրիմուռի աճի դինամիկան՝ կախված լուսավորության ռեժիմից

Ուսումնասիրվել է նաև *P. kessleri* միկրոջրիմուռի աճը և սինթեզված ճարպաթթուների կազմը՝ կախված լուսավորության ռեժիմից՝ անընդհատ լուսավորություն (լյումինոստատ), լույս-մութ (սենյակային պայմաններ), մթություն (թերմոստատ): Նկար 6-ում ներկայացված է աճի դինամիկան նշված պայմաններում:

Ինչպես և սպասվում էր, մթության մեջ, օրգանական սուբստրատների բացակայության պայմաններում միկրոջրիմուռը չի աճել, մինչդեռ անընդհատ լուսավորության և լույս–մութ պայմաններում դիտարկվել է համանման աճ (անընդհատ լուսավորության պայմաններում աճի կինետիկան մի փոքր գերազանցել է սենյակային պայմաններում աճի կինետիկային):

Միևնույն ժամանակ, պարզվել է, որ լուսավորության ռեժիմն էականորեն ազդում է ճարպաթթուների բաղադրության և կազմի վրա (նկար 7):

Չոր կենսազանգվածներում ճարպաթթվային կազմի ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ անընդհատ լուսավորության պայմաններում գերակշռել են չհագեցած ճարպաթթուները (80,94 %), իսկ սենյակային լուսավորության պայմաններում չհագեցած և հագեցած ճարպաթթուների հարաբերակցությունը գրեթե հավասարվել է (56,25 % և 43,74 %՝ համապատասխանաբար):



Նկար 7. Ճարպաթթուների կազմը (%)՝ կախված լուսավորության ռեժիմից

Հաշվարկները ցույց են տվել, որ անընդհատ լուսավորության պայմաններում սինթեզվել են 1,16 անգամ ավել շատ ճարպաթթուներ, քան սենյակային լուսավորության պայմաններում աճեցնելու դեպքում:

3.7. *P. kessleri* MDC6524 (SUB7581476 18S MT649400) շտամի կիրառման հեռանկարները՝ միկրոջրիմուռների կենսատեխնոլոգիայում

Հետազոտությունների ստացված արդյունքերը վկայում են այն մասին, որ անջատված և ուսումնասիրված նոր *Parachlorella kessleri* MDC6524 (SUB7581476 18S MT649400) շտամը կարող է պոտենցիալ հեռանկարային լինել՝ ֆոտոկենսառեակտորներում անընդհատ կուլտիվացման պայմաններում՝ միկրոջրիմուռների կենսատեխնոլոգիական արտադրության կազմակերպման համար: Գործնականում ստացված արդյունքների վերլուծությունը վկայում է այն մասին, որ *P. kessleri* հանդիսանում է արժեքավոր կենսաբանորեն ակտիվ նյութեր պարունակող կենսազանգվածի հեռանկարային աղբյուր: Դրա հետ մեկտեղ, կենսազանգվածի կենսաքիմիական կազմը բնութագրվում է էական փոփոխականությամբ, ինչը պայմանավորված է ինչպես տեսակային առանձնահատկություններով, այնպես էլ՝ միջավայրի արտաքին գործոններով: Միկրոջրիմուռների բջիջների կենսաքիմիական կազմի փոփոխականությունը խոսում է կենսազանգվածի ստացման պայմանների մանրամասն մշակման անհրաժեշտության մասին, ինչը թույլ է տալիս ոչ միայն հասնել դրա առաջացման մաքսիմալ արագության, այլ նաև կենսաբանորեն արժեքավոր բաղադրիչների առավելագույն ելքի: Այն կարող է կիրառվել ինչպես ամբողջական տեսքով՝ որպես սննդային հավելում, այնպես էլ որպես առանձին բաղադրիչների աղբյուր: Հատկապես կարևորվում է այս միկրոջրիմուռի դերը որպես

կենսավառելիքի արտադրիչ, քանի որ կենսավառելիքը կարելի է ստանալ ինչպես ամբողջական բջջից, այնպես էլ՝ բարձրարժեք բաղադրիչների էքստրակտումից հետո մնացած մնացորդային կենսազանգվածից:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

Փորձարարական աշխատանքների արդյունքում ստացված տվյալները թույլ են տալիս կատարել հետևյալ եզրակացությունները.

1. Հայաստանի գետերի ջրերի ուսումնասիրված նմուշներում հիմնականում գերակշռել են *Chlorella* և *Scenedesmus* տեսակների միկրոջրիմուռները, մինչդեռ հանքային ջրերի և Սևանա լճի ջրի նմուշներում դոմինանտ տեսակներ են հանդիսացել զանազան տեսակի ցիանոբակտերիաները:
2. Ուսումնասիրված ջրերի նմուշներից ըստ մորֆոլոգիական ցուցանիշների նույնականացման աշխատանքների արդյունքում մեկուսացվել են դոմինանտ տեսակներ հանդիսացած միկրոջրիմուռների 12 և ցիանոբակտերիաների 7 նոր շտամներ:
3. Մեկուսացված բոլոր կուլտուրաների համանման պայմաններում աճեցման պարագայում ճարպաթթուների լավագույն արտադրիչ է հանդիսացել *P. kessleri* միկրոջրիմուռը, որը դրսևորել է նաև կենսազանգվածի կուտակման ամենամեծ արագությունը:
4. Նախկինում մանրադիտակային հետազոտությունների արդյունքում որպես *Chlorella vulgaris* նույնականացված միկրոջրիմուռի մոլեկուլային գենետիկական հետազոտությունների միջոցով տաքսոնոմիական պատկանելիության որոշման արդյունքում պարզվել է վերջինիս տեսակային պատկանելիությունը *Parachlorella kessleri* տեսակին՝ նույն *Chlorellaceae* ընտանիքի ներսում («Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի Մանրէների ավանդադրման կենտրոն հիմնարկ՝ MDC 6524, GenBank՝ SUB7581476 18S MT649400):
5. Կուլտուրալ հեղուկից կենսազանգվածի ստացման ժամանակ տարբեր ֆլոկուլանտների կիրառումը թույլ է տվել կրճատել ցենտրիֆուգվող հեղուկի ծավալը մինչև 6,3 անգամ ($Al_2(SO_4)_3$՝ 3գ/լ), իսկ կենսազանգվածի կորզման էֆեկտիվությունը հասցվել է 99,3%-ի (CaO՝ 2գ/լ):
6. *P. kessleri* միկրոջրիմուռի կենսատեխնոլոգիական ներուժի գնահատումը ցույց է տվել, որ այն հանդիսանում է
   - սպիտակուցների (43,3% պարունակությամբ) և անփոխարինելի, պայմանական անփոխարինելի ու փոխարինելի ամինաթթուների (1,48:1,0:1,02 հարաբերակցությամբ) աղբյուր,

- 17 հագեցած և չհագեցած, այդ թվում կարևոր կենսական նշանակություն ունեցող օմեգա-3, ճարպաթթուների աղբյուր (ընդհանուր պարունակությունը՝ 8,62%),
- գլյուկան, արաբինան, քսիլան և լիգնին (1:1,3:1,04:1 հարաբերությամբ) ածխաջրերի աղբյուր (32,04% ընդհանուր պարունակությամբ):

7. Պարզվել է, որ կուլտիվացման պայմանների փոփոխությունը կարող է հանգեցնել միկրոջրիմուռի կենսազանգվածում հագեցած և չհագեցած ճարպաթթուների հարաբերակցության և կազմի փոփոխության: Անընդհատ լուսավորության ռեժիմով կուլտիվացման պայմաններում *P. kessleri* միկրոջրիմուռի կողմից սինթեզվում են 8 հագեցած և 7 չհագեցած տարբեր ճարպաթթուներ, իսկ լույս-մթություն պայմաններում՝ համապատասխանաբար 4 և 8:

8. Պարզվել է, որ սննդամիջավայրում ազոտի կոնցենտրացիան ազդեցություն չունի միկրոջրիմուռի աճի կինետիկայի վրա, մինչդեռ էականորեն ազդում է միկրոջրիմուռի ճարպաթթվային կազմի վրա:

<u>Ատենախոսության թեմայով հրատարակված աշխատությունների ցուցակ</u>

1. Goginyan V., Tozalakyan P., Arakelyan A., **Kalantaryan N.** *On study of photosynthesizing microorganisms in Armenia* // Book of Abstracts of 2nd International Scientific Conference of Young Researchers "Contribution of the Young Generation in the Development of Biotechnology", Yerevan, October 1-4, **2013,** p. 59.
2. **Kalantaryan N.K.,** Goginyan V.B., Saghatelyan L.H. *Features of polyunsaturated fatty acids synthesis by microalgae* // Book of Abstracts of International Scientific Workshop "Trends in Microbiology and Microbial Biotechnology", Yerevan, October 5-8, **2014,** p. 23.
3. **Kalantaryan N.K.,** Saghatelyan L.H., Goginyan V.B., Kisel M.A. *Comparative characteristics of microalgae growth affected by 5-aminolevulinic acid and its ethers* // Book of Abstracts of 3rd International Scientific Conference of Young Researchers "Dialogues on Sciences", Yerevan, June 23-26, **2015,** p. 38.
4. **Kalantaryan N.K.,** Goginyan V.B., Saghatelyan L.H., Harutyunyan B.A. *Composition of fatty acids synthesized by green microalgae Dunaliella salina Pa-018* // Electronic Journal of Natural Sciences NAS RA, 1(26), **2016,** p. 43-48.
5. Михальчук А.Л., Рудак Е.В., Курман П.В., Бабицкая С.В., Кисель М.А., **Калантарян Н.К.,** Сагателян Л.О., Гогинян В.Б. *Синтез алифатических эфиров 5-аминолевулиновой кислоты и их влияние на рост фототрофных микроводорослей* // Вести Национальной

Академии Наук Беларуси. Серия химических наук, раздел биоорганическая химия, **2016,** № 2. с. 64-68.

1. **Kalantaryan N.K.,** Duarte L., Reis A., Goginyan V.B. *The evaluation of the Green microalgae Parachlorella kessleri as a feedstock for the biorefinery* // Book of Abstracts of 4rd International Scientific Conference of Young Researchers "Biotechnology: Science and Practice", Yerevan, September 28-30, **2017,** Armenia, p. 39-40.
2. Martins P.L., **Kalantaryan N.K.,** Dias C., Goginyan V.B, Duarte L., Pereira H., Reis A., Carvalheiro F. *Chemical Characterization of Microalgae Biomass Grown in Agro-food Effluents:* First approach on integrated fractionation strategies for biorefinery applications proceedings of the 4th Iberoamerican congress on biorefineries. University of the Jaén, Spain, October 24-26, **2018,** p. 935.
3. **Քալանթարյան Ն.Ք.** *Parachlorella kessleri* կանաչ միաբջիջ ջրիմուռի որոշ արտադրողական հատկությունների բնութագրումը // Հայաստանի կենսաբ. հանդես, **2018,** 4(70), էջ 90-96:
4. **Kalantaryan N.K.,** Stepanyan L.A., Dadayan A.S., Minasyan E.V. Goginyan V.B. Comparative Characteristics of Green Microalgae *Parachlorella kessleri* and *Chlorella vulgaris* as a Protein Additive // Chemical Journal of Armenia, **2019,** 72(3), p. 249-255.
5. **Калантаряан Н.К.** Молекулярно-генетическая идентификация одноклеточных зеленых микроводорослей семейства *Chlorellaceae* // Биологический журнал Армении, **2019,** 3(71), с. 6-13.
6. Minasyan E.V., Tsaturyan A.H., **Kalantaryan N.K.,** Harutyunyan B.A. Determination of 5-aminolevulinic Acid in Liquid Cultures of Purple Non-Sulfur Photosynthesizing Bacteria by High Performance Liquid Chromatography // Chemical Journal of Armenia, **2019,** 72(3), p. 243-248.
7. **Kalantaryan N.K.,** Harutyunyan B.A., Hovhannisyan R.S., Andreasyan N.R., Goginyan V.B. *Molecular Genetic Identification of Some Microalgae from the Family Chlorellaceae* // Book of Abstracts of International Conference "Microbes: Biology & Application", October 9-11, **2019,** p. 65-66.

КАЛАНТАРЯН НАРИНЕ КАЛАНТАРОВНА

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ, ОЦЕНКА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА МИКРОВОДОРОСЛИ *PARACHLORELLA KESSLERI*

РЕЗЮМЕ

Ключевые слова: *микроводоросли, цианобактерии, биоразнообразие, Parachlorella kessleri, биохимический анализ, биомасса, продуктивность.*

Диссертационная работа посвящена изучению биоразнообразия микроводорослей и цианобактерий в пресных и минеральных водных экосистемах Армении, а также комплексной оценке биологических и продуктивных свойств одноклеточной зеленой микроводоросли *Parachlorella kessleri*, выделенной в рамках исследований.

Проведен альгологический мониторинг отобранных проб воды с целью получения чистых культур наиболее перспективных штаммов микроводорослей и цианобактерий. Выделено 12 штаммов одноклеточных зеленых микроводорослей и 7 штаммов цианобактерий. В образцах воды исследованных рек доминирующими видами являлись микроводоросли семейства *Chlorellaceae*, тогда как в пробах из минеральных вод и озера Севан доминирующими видами оказались цианобактерии.

Изучена продуктивность всех выделенных штаммов микроводорослей и цианобактерий по составу жирных кислот в их биомассе.

По результатам сравнительного анализа были отобраны 4 культуры микроводорослей: Pa-001 - *Chlorella vulgaris*, Pa-004 - *Scenedesmus acutus*, Pa-005 - *Sc. obliquus*, Pa-008 – *Sc. quadricauda*, как наиболее перспективные штаммы-продуценты жирных кислот.

Согласно результатам скрининга 4-х микроводорослей по скорости образования биомассы, в качестве наилучшей культуры для дальнейших углубленных исследований был отобран наилучший штамм-продуцент жирных кислот Pa-001, который культивировали в крупномасштабном фотобиореакторе (объемом 80 л).

Ранее, на основании морфологических, физиологических и культуральных особенностей, штамм микроводоросли Pa-001 нами был идентифицирован как *Ch. vulgaris*. Однако, анализ нуклеотидной последовательности гена 18S рДНК штамма с использованием поискового алгоритма megablast, показал, что сиквенс *Ch. vulgaris* на 99% сходен с 9 другими различными штаммами *Chlorophyceae,* зарегистрированными в базе GenBank, NCBI и представляющими различные молекулярные клады семейства *Chlorellaceae*, рода *Parachlorella kessleri*.

В рамках диссертацонной работы оценена эффективность сбора биомассы с помощью флокуляции, электрокоагуляции и центрифугирования. Эффективность флокуляции изучена с использованием сульфата алюминия (1,0; 2,0; 3,0 г/л) и оксида кальция (1,0; 1,5; 2,0 г/л). Были определены коэффициенты

концентрирования культуральной жидкости для каждого отдельного флокулянта и электрокоагуляции.

Рассчитана динамика эффективности сбора биомассы из культуральной жидкости через 5; 15; 30 и 60 минут после добавления флокулянта. Показано, что в зависимости от типа и концентрации флокулянта объем исходной жидкости уменьшался от 4,35 до 6,3 раза. Наибольший выход при сборе биомассы (свыше 99%) наблюдался с использованием CaO в концентрации 2 г/л.

Общее количество белка микроводоросли *P. kessleri* составило 43,3% на сухой вес биомассы. С помощью аминокислотного анализатора в гидролизате биомассы микроводоросли были выявлены 13 аминокислот, в том числе 6 незаменимых: L-Гис, L-Тре, L-Фен, L-Иле, L-Лей, L-Лиз, 4 условно незаменимых: L-Глу, Гли, L-Арг, L-Тир и 3 заменимые: L-Асп, L-Сер, L-Ала, в соотношении 1,48:1,0:1,02, соответственно. Установлено, что 79,29% от общего количества аминокислот в биомассе *P. kessleri* являются связанными, и входят в состав различных белков, а остальные 20,71% - свободными аминокислотами.

Анализ структурных полисахаридов методом ВЭЖХ показал наличие 32,0% указанных соединений в сухой биомассе *P. kessleri*, включая 7,37% глюкана, 9,61% арабинана, 7,69% ксилана и 7,37% лигнина на сухой вес.

Качественный и количественный анализ жирных кислот в сухой биомассе микроводоросли *P. kessleri* показал, что в ней содержится 17 различных жирных кислот, что составляет 8,62% от сухого веса биомассы.

Содержание хлорофилла *a* и хлорофилла *b* в сухой биомассе *P. kessleri* было определено спектрофотометрическим методом и составило 1,27 ± 0,025% и 0,57 ± 0,037%, соответственно.

Методом экспериментального дизайна [Doehlert, 1970] исследовано влияние различных концентраций азота (от 0,027 до 0,373 г/л) и значений pH (в диапазоне от 4 до 12) на кинетику роста микроводоросли *P. kessleri*. Показано, что концентрация азота, в отличие от pH, не оказывает существенного влияния на динамику роста микроводоросли, в то время как значение pH является определяющим фактором для эффективного развития штамма.

Рост микроводоросли *P. kessleri* также оценивался отдельно, в присутствии различных концентраций источника азота. Изучение динамики роста культуры показало, что он практически не зависит от концентраций азота. Между тем, исследование состава жирных кислот показало, что их количество в значительной степени зависит от концентрации азота в питательной среде. Чем выше концентрация азота, тем меньше жирных кислот содержится в биомассе микроводоросли. Установлено, что концентрация азота имеет решающее значение не только для количественного, но и качественного состава жирных кислот.

Изучен рост микроводоросли *P. kessleri* и состав синтезированных ею жирных кислот в зависимости от режимов освещения: постоянное, свето-темновое, темновое. Как следовало ожидать, микроводоросль не росла в темновом режиме в отсутствие органических субстратов, тогда как при постоянном и свето-темновом освещении наблюдался аналогичный рост (кинетика роста при постоянном освещении была немного выше кинетики роста в условиях свето-темнового режима).

При этом установлено, что режимы освещения существенно влияют на состав и количество жирных кислот. Показано, что при постоянном освещении в сухой биомассе микроводоросли преобладают ненасыщенные жирные кислоты (80,94%), при этом соотношение ненасыщенных и насыщенных жирных кислот при свето-темновом освещении практически равно (56,25% и 43,74%, соответственно). Расчеты показали, что при постоянном освещении синтезировалось в 1,16 раза больше жирных кислот, чем при свето-темновом режиме.

Таким образом, анализ результатов исследований свидетельствует о том, что микроводоросль *Parachlorella kessleri* MDC6524 (SUB7581476 18S MT649400) является биотехнологически перспективным источником биомассы, содержащей ценные биологически активные вещества. Вариабельность биохимического состава клеток микроводорослей указывает на необходимость тщательной разработки условий получения биомассы, что позволит достичь не только максимальной интенсивности ее образования, но и наибольшего выхода биологически ценных компонентов.

KALANTARYAN NARINE KALANTAR

STUDY OF BIODIVERSITY OF MICROALGAE AND CYANOBACTERIA, ASSESSMENT OF BIOTECHNOLOGICAL POTENTIAL OF *PARACHLORELLA KESSLERI* MICROALGA

SUMMARY

Keywords: *microalgae, cyanobacteria, biodiversity, Parachlorella kessleri, biochemical analysis, biomass, productivity.*

This thesis is devoted to the study of biodiversity of microalgae and cyanobacteria in the Armenian fresh and mineral water ecosystems and the comprehensive assessment of biological and productive properties of unicellular green microalga *Parachlorella kessleri*, isolated in the framework of this research.

Algological monitoring of the selected water samples has been performed to obtain pure cultures of the most promising strains of microalgae and cyanobacteria. 12 Strains of unicellular green microalgae and 7 strains of cyanobacteria have been isolated. Microalgae belonging to the *Chlorellaceae* family were predominating species in the water samples of the studied rivers. Cyanobacteria were dominant species in the studied mineral water samples and samples of Lake Sevan.

The productivity of all isolated microalgae and cyanobacteria strains was studied according to the composition of fatty acids in their biomass.

Based on the results of the comparative analysis, 4 cultures of microalgae - Pa-001 - *Chlorella vulgaris*, Pa-004 - *Scenedesmus acutus*, Pa-005 - *Sc. obliquus*, Pa-008 – *Sc. quadricauda* were selected as the most promising strain-producers of fatty acids.

According to the screening results of 4 microalgae by growth rate the best strain-producer of fatty acids Pa-001 was selected as the best culture for further in-depth studies. This culture was cultivated in a large-scale photobioreactor (80 L volume).

Previously, based on the morphological, physiological and cultural features, we had identified microalga strain Pa-001 as *Ch. vulgaris*. However, the analysis of nucleotide sequence of 18S rDNA gene of the strain using megablast search algorithm showed that the sequence of *Ch. vulgaris* was 99% similar to 9 different *Chlorophyceae* strains registered in GenBank, NCBI databases and representing different molecular levels in the *Parachlorella kessleri* genus of the *Chlorophyceae* family.

The biomass harvesting efficiency through flocculation, electrocoagulation and centrifugation was evaluated in the framework of this thesis. The effectiveness of flocculation was investigated using aluminium sulfate (1.0; 2.0; 3.0 g/L) and calcium oxide (1.0; 1.5; 2.0 g/L). Concentration coefficients of the culture fluid were determined for each flocculant agent and electrocoagulation.

The dynamics of the efficiency of biomass harvesting from culture fluid was calculated after 5; 15; 30 and 60 minutes after adding the flocculant. Depending on the type and the concentration of the flocculant agent, the volume of the initial solution was reduced from 4.35 to 6.3 times, and the highest biomass harvesting yield (more than 99%) was observed at a concentration of 2 g/L CaO.

The total protein content of *P. kessleri* microalga was 43.3% per dry weight. Using the amino acid analyzer, 13 amino acids were detected in the hydrolysate of microalgae biomass, including 6 essential amino acids: L-His, L-Thr, L-Phe, L-Ile, L-Leu, L-Lys, 4 conditionally essential amino acids: L-Glu, Gly, L-Arg, L-Tyr and 3 non-essential amino acids: L-Asp, L-Ser, L-Ala in the ratio of 1.48:1.0:1.02, respectively. It has been revealed that 79.29% of the total amino acids in the biomass of *P. kessleri* are bound amino acids, which are included in the composition of different proteins, and 20.71% are free amino acids.

The structural polysaccharides analysis by the HPLC method showed 32.0% presence of the mentioned compounds in *P. kessleri* dry biomass: 7.37% glucan, 9.61% arabinan, 7.69% xylan and 7.37% lignin per dry weight.

Qualitative and quantitative analysis of fatty acids in the dry biomass of *P. kessleri* microalga showed that it contained 17 different fatty acids, which were 8.62% of the dry weight of biomass.

Chlorophyll *a* and chlorophyll *b* content in the dry biomass of *P. kessleri* was determined spectrophotometrically and it was 1.27 ± 0.025% and 0.57 ± 0.037%, respectively.

The effect of different concentrations of nitrogen (0.027-0.373 g/L) and pH values (in the range of 4-12) on the growth kinetics of *P. kessleri* microalgae was investigated using the experimental design method [Doehlert, 1970]. It was shown that nitrogen concentration, in contrast to pH, had no significant effect on microalgae growth dynamics, while, pH value is an essential factor for the strain efficient development.

The growth of *P. kessleri* microalga was also assessed separately at different concentrations of the nitrogen source. The study of the growth dynamics of culture showed that its growth practically did not depend on the nitrogen concentration. Meanwhile, the study of the composition of fatty acids showed that it highly depended on the nitrogen concentration in the nutrient medium. The higher the nitrogen concentration, the less fatty acids are found in the microalgae biomass. It was established that nitrogen concentration was decisive not only for the quantitative, but also the qualitative composition of fatty acids.

The growth of *P. kessleri* microalga and the composition of the synthesized by it fatty acids were studied depending on the illumination regime: constant light, light-dark, dark. As it was expected, the microalga did not grow in the darkness in the absence of organic substrates, while under the constant and light-dark illumination a similar growth was observed (the growth kinetics in constant lighting was slightly higher than the growth kinetics under light-dark conditions).

At the same time, it was revealed that the illumination regime significantly affected the composition and quantity of the fatty acids. It was shown that under constant illumination unsaturated fatty acids (80.94%) predominated in dry biomass of microalgae, while the ratio of unsaturated and saturated fatty acids under light-dark conditions was practically equal (56.25% and 43.74%, respectively). Calculations showed that under constant illumination, 1.16 times more fatty acids were synthesized than under light-dark mode.

Thus, the obtained results show that *Parachlorella kessleri* MDC6524 (SUB7581476 18S MT649400) microalga is a biotechnologically prospective source of biomass containing valuable biologically active substances. The variability of the biochemical composition of microalgae cells indicates the necessity for detailed processing of biomass production conditions, which will allow not only to achieve the maximum intensity of its formation, but also the maximum yield of biologically valuable components.