

Животноводство и кормопроизводство. 2025. Т. 108. № 4. С. 274-291.  
Animal Husbandry and Fodder Production. 2025. Vol. 108. No. 4. P. 274-291.

Научная статья  
УДК 636.085:639.64  
doi:10.33284/2658-3135-108-4-274

**Исследование биологической активности, экологических характеристик и микроэлементного состава водорослей *Chlorella vulgaris* in vitro**

**Виталий Александрович Рязанов<sup>1</sup>, Владимир Иванович Колпаков<sup>2</sup>, Фоат Галимович Каюмов<sup>3</sup>**

<sup>1,2,3</sup>Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, Оренбург, Россия

<sup>1</sup>vita7456@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0903-9561>

<sup>2</sup>vkolpakov056@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9658-7034>

<sup>3</sup>nazkalms@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9241-9228>

**Аннотация.** В данной статье представлено комплексное исследование биомассы водорослей *Chlorella vulgaris*, отличающихся между собой на клеточном уровне по содержанию белков, липидов и углеводов. Проведен анализ микроэлементного состава, биологической активности и экологических характеристик последних методом *in vitro*. Оценены эффекты *Chlorella vulgaris* в отношении бактериального люминесцирующего штамма *Escherichia coli* K12 TG1 и популяции простейших рубца жвачных животных. Показано, что *Chlorella vulgaris* стимулирует биолюминесценцию модельного штамма, однако при этом снижается общее число инфузорий в рубцовой жидкости. В ходе исследований *in vitro*, имитирующих пищеварение в рубце, установлено повышение концентрации белковой формы азота на фоне снижения аммиачной фракции. Дополнительно показано оптимальное соотношение уксусной и пропионовой кислот (3:1) в рубцовой жидкости. При этом биомасса хлореллы отличалась высоким содержанием фосфора, калия, магния и железа.

**Ключевые слова:** зеленые водоросли *Chlorella vulgaris*, азот, летучие жирные кислоты, углеродный след, метан, простейшие

**Благодарности:** работа выполнена в соответствии с планом НИР за 2024-2026 гг. ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН (№ FNWZ-2024-0003).

**Для цитирования:** Рязанов В.А., Колпаков В.И., Каюмов Ф.Г. Исследование биологической активности, экологических характеристик и микроэлементного состава водорослей *Chlorella vulgaris* in vitro // Животноводство и кормопроизводство. 2025. Т. 108. № 4. С. 274-291. [Ryazanov VA, Kolpakov VI, Kayumov FG. Study of biological activity, ecological characteristics and trace element composition of *Chlorella vulgaris* algae in vitro. Animal Husbandry and Fodder Production. 2025;108(4):274-291. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.33284/2658-3135-108-4-274>

Original article

**Study of biological activity, ecological characteristics and trace element composition of *Chlorella vulgaris* algae in vitro**

**Vitaly A Ryazanov<sup>1</sup>, Vladimir I Kolpakov<sup>2</sup>, Foat G Kayumov<sup>3</sup>**

<sup>1,2,3</sup>Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

<sup>1</sup>vita7456@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0903-9561>

<sup>2</sup>vkolpakov056@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9658-7034>

<sup>3</sup>nazkalms@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9241-9228>

**Abstract.** This article presents a comprehensive study of *Chlorella vulgaris* algae biomass samples, which differ at the cellular level in their protein, lipid, and carbohydrate content. Their trace element

composition, biological activity, and environmental characteristics were analyzed *in vitro*. The effects of *Chlorella vulgaris* were assessed on the luminescent bacterial strain *Escherichia coli* K12 TG1 and on a population of protozoa sourced from the rumen of ruminants. *Chlorella vulgaris* was shown to stimulate bioluminescence in the model bacterial strain, but this resulted in a decrease in the total number of ciliates within the rumen fluid samples. *In vitro* studies simulating rumen digestion revealed an increase in the concentration of protein nitrogen while reducing the ammonia fraction. Additionally, an optimal ratio of acetic and propionic acids (3:1) was demonstrated in the rumen fluid samples. Moreover, the *Chlorella* biomass was notable for its high content of phosphorus, potassium, magnesium, and iron.

**Keywords:** green microalgae of *Chlorella vulgaris*, nitrogen, volatile fatty acids, carbon footprint, methane, protozoa

**Acknowledgments:** the work was performed in accordance with the 2024-2026 research plan of FSBRI FRC BST RAS (No. FNWZ-2024-0003).

**For citation:** Ryazanov VA, Kolpakov VI, Kayumov FG. Study of biological activity, ecological characteristics and trace element composition of *Chlorella vulgaris* algae *in vitro*. Animal Husbandry and Fodder Production. 2025;108(4):274-291. (In Russ.). <https://doi.org/10.33284/2658-3135-108-4-274>

### Введение.

Рост населения мира, согласно прогнозам, достигнет 9,7 млрд человек к 2050 году, что ставит под большой вопрос обеспечение продовольственной безопасности и устойчивое развитие сельского хозяйства. В этих условиях задача поиска новых, эффективных и устойчивых источников кормовых компонентов для сельскохозяйственных животных становится приоритетной. Среди перспективных решений особое внимание уделяется микроводорослям, в частности зеленой водоросли *Chlorella vulgaris*, как богатым источникам питательных веществ, обладающим не только высокой биологической ценностью, но и функцией биологически активных добавок к кормам (Mendes AR et al., 2024; Andrade LM et al., 2018).

Так, например, микроводоросль *Chlorella vulgaris* характеризуется высоким содержанием белков, достигающим до 65,5 % от сухой массы, а также сбалансированным аминокислотным профилем с выраженным содержанием лизина и лейцина, что особенно важно для сельскохозяйственных животных и птицы. Помимо белков хлорелла содержит витамины, минеральные вещества (фосфор, калий, железо, магний), а также незаменимые жирные кислоты, среди которых омега-3, и биоактивные соединения, такие как хлорофиллы и каротиноиды, что способствует как улучшению роста животных, так и повышению их иммунитета (Spínola MP et al., 2023; Agarwalla A et al., 2023; An BK et al., 2016). При этом снижается экологическая нагрузка на окружающую среду (Martins LF et al., 2024).

Исследования последних лет демонстрируют перспективы применения *Chlorella vulgaris* в кормлении сельскохозяйственных животных (Dias ALG et al., 2018), где введение биомассы последних в рацион способствует улучшению показателей роста, увеличению конверсии корма и поддержанию здоровья животных через снижение уровня триглицеридов и холестерина в крови. Кроме того, водоросли проявляют положительное воздействие на микрофлору желудочно-кишечного тракта, что улучшает пищеварение и усвоение питательных веществ (Alagawany M et al., 2021; Omarkozhauly N et al., 2023; Lobo RR et al., 2024). Применение растительных компонентов и веществ, выделенных из них, улучшают физиологическое состояние пищеварительной системы сельскохозяйственных животных (Атландерова К.Н. и др., 2024; Камирова А.М. и др., 2025).

Таким образом, интеграция *Chlorella vulgaris* в рационы сельскохозяйственных животных представляется многообещающим направлением, способствующим повышению продуктивности и устойчивости животноводческих систем.

**Цель исследования.**

Комплексное биотестирование и оценка кормового потенциала зеленых микроводорослей *Chlorella vulgaris*.

**Материалы и методы исследования.**

**Объект исследования.** Микроводоросли *Chlorella vulgaris*.

Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями и рекомендациями нормативных актов: Модельный закон Межпарламентской Ассамблеи государств-участников Содружества Независимых Государств "Об обращении с животными", ст. 20 (постановление МА государств-участников СНГ № 29-17 от 31.10.2007 г.), протоколы Женевской конвенции и принципы надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53434-2009), Руководство по работе с лабораторными животными ([http://fncbst.ru/?page\\_id=3553](http://fncbst.ru/?page_id=3553)). При проведении исследований были предприняты меры для обеспечения минимума страданий животных и уменьшения количества исследуемых опытных образцов. Все процедуры над животными были выполнены в соответствии с правилами Комитета по этике животных ФНЦ БСТ РАН.

**Схема эксперимента.** В экспериментах использовали несколько морфотипов *Chlorella vulgaris* с различным содержанием липидов и белков в клетке (табл. 1). Биологическую оценку проводили в несколько этапов. Сухие формы микроводорослей *Chlorella vulgaris* были получены в Научно-исследовательском институте химии Нижегородского государственного университета (НИИХ ННГУ) посредством фотосинтеза в воде в присутствии CO<sub>2</sub> и минералов.

Таблица 1. Характеристика биомассы водорослей *Chlorella vulgaris*  
 Table 1. Characteristics of the biomass of *Chlorella vulgaris* algae

| № образца /<br>Sample No. | Морфотип /<br>Morphotype                     | Содержание липидов, % по массе /<br>Lipid content, % by weight | Содержание белков, % по массе /<br>Protein content, % by weight | Содержание углеводов, % /<br>Carbohydrate content, % by weight |
|---------------------------|--|--|---|--|
| 1                         | Белковый /<br>Protein                        | 12,7   | 54,9  | 32,4   |
| 2                         | Белково-углеводный /<br>Protein-carbohydrate | 27,8   | 24,8  | 47,4   |
| 3                         | Липидный /<br>Lipid                          | 43,2   | 18,5  | 38,2   |

**1) Биологическая активность в тесте ингибирования/индукции люминесценции *Escherichia coli* K12 TG1.** Биологическую активность оценивали с помощью конститутивно люминесцирующего штамма *Escherichia coli* K12 TG1 (коммерческое название «Эколюм», «НВО ИМУНОТЕХ», Россия), несущего гибридную плазмиду pUC19 с клонированными *luxCDABE* генами *Photobacterium leiognathi* 54D10 на многофункциональном микропланшетном ридере TECAN Infinite F200 («Tecan Austria GmbH», Австрия). Для этого к исходному лиофилизату приливали по 5 мл, охлажденной до +4 °С и комнатной температуры воды, интенсивно встряхивали до полного растворения осадка и выдерживали в холодильнике в течение 30 мин. После этого по 100 мкл полученной суспензии добавляли к заранее подготовленной серии двукратных разведений суспензии хлореллы (в объеме 100 мкл на лунку микропланшета с концентрациями от 400 до  $4,8 \times 10^{-5}$  мг/мл), получая итоговые концентрации от 200 до  $2,4 \times 10^{-5}$  мг/мл. Планшет с экспериментальными образцами помещали в прибор, фиксируя интенсивность свечения в относительных приборных едини-

цах (relative luminescence units, RLU) через каждые 5 мин в течение 3 часов экспозиции. Для графического отображения полученных результатов вычисляли нормализованное значение относительной биолуминесценции (A) по формуле 1:

$$A = \frac{Ik_0 \times Io_n}{Ik_n \times Io_0} \times 100 \% , \quad (1)$$

где  $Ik_0$  – светимость контрольной пробы на 0 минуте, RLU,

$Ik_n$  – светимость контрольной пробы на n-ой минуте, RLU,

$Io_0$  – светимость опытной пробы на 0 минуте, RLU,

$Io_n$  – светимость опытной пробы на n-ой минуте, RLU.

**2) Определение ферментативной активности *in vitro* на искусственном рубце.** О характере ферментативных процессов в рубце судили, исходя из динамики концентраций форм азота (общий белок, небелковая форма, аммиачная форма, мочевиновая форма, белковая форма), летучих жирных кислот (уксусная, пропионовая, бутановая, валериановая, капроновая) и метана в рубцовой жидкости после 48-часовой экспозиции в отдельных емкостях при постоянной температуре  $+39,5 \pm 0,5$  °C на приборе Ankom Daisy II («ANKOM Technology», США). Рубцовую жидкость и рубцовое содержимое отбирали через фистулу рубца, имплантированной по методу А.А. Алиева, у крупного рогатого скота казахской белоголовой породы, в термоконтейнере доставляли в лабораторию, в доставленную рубцовую жидкость вносили необходимое количество буферной смеси и изучаемые образцы, вытеснение кислорода проходило при подаче углекислого газа. Контрольным образцом служила рубцовая жидкость с содержимым рубца крупного рогатого скота, который находился на рационе, принятом в мясном скотоводстве: 60 % – грубые корма (сено степное разнотравное) 40 % – концентраты (ячмень дробленый), в опытные образцы дополнительно вносили морфотипы микроводорослей.

Фиксацию этих концентраций проводили на газовом хроматографе «Хроматэк-Кристал 5000.2» (СКБ «Хроматэк», Россия). Для расчета углеродного следа определяли эквивалент  $CO_2$  по формуле 2:

$$CO_{2e} = (\text{объем газа } 1 \times ПГП_1) + (\text{объем газа } 2 \times ПГП_2) + \dots (2)$$

Для расчета  $CO_2$ -эквивалента используются специальные коэффициенты – потенциалы глобального потепления (ПГП): для метана ( $CH_4$ ) ПГП=25.

Помимо прочего производили расчет эффективности пищеварения по соотношению концентраций уксусной и пропионовой кислоты по формуле 3:

$$\text{Соотношение} = \frac{\text{Пропионовая к-та (мг/дм}^3\text{)}}{\text{Уксусная к-та (мг/дм}^3\text{)}} \quad (3)$$

*Определение азотистых веществ в содержимом рубца.*

*Определение общего азота в рубцовой жидкости.* Метод базируется на способности органических соединений под воздействием кипящей среды серной кислоты окисляться до углекислоты и воды.

В перегонную колбу осторожно наливают 1 мл рубцового содержимого. Туда же приливают 5 мл концентрированной серной кислоты и 1 г катализатора. Колбы ставят в дигесторе (сжигает пробы). Сжигание прекращают, когда жидкость в колбе станет прозрачной. Далее, как только колба остынет, перегоняют в анализаторе белка по методу Кьельдаля. Содержимое приемной колбы титруют 0,01 н раствором NaOH до изменения малинового цвета на зеленый.

Расчет количества общего азота в пробе ведут по формуле:

$$x = (A - B) \times 0,14 \times 100, \quad (4)$$

где  $x$  – количество общего азота в 100 мл рубцовой жидкости, мг;

$A$  – количество 0,01 н раствора  $H_2SO_4$  в приемнике, мл (обычно 30 мл.);

$B$  – количество 0,01 н. раствора  $NaOH$ , пошедшего на титрование, мл;

0,14 – количество азота, связываемое 1 мл 0,01 н раствора серной кислоты, мг.

**Определение небелкового азота в рубцовой жидкости.** В центрифужную пробирку наливают рубцовую жидкость в количестве 2 мл, добавляют такое же количество 0,3 н раствор  $Ba(OH)_2$  и такой же объем 5 %-ного раствора  $ZnSO_4$ . Смесь перемешивают и центрифугируют в течение 15 минут при 3000 об./мин. 3 мл центрифугата переносят в перегонную колбу, заливают 5 мл концентрированной серной кислоты и 1 г катализатора. Проводят минерализацию, отгон – так же, как при определении общего азота. Содержимое приемной колбы титруют 0,01 н раствором  $NaOH$  до изменения малинового цвета на зеленый.

Расчет количества небелкового азота в пробе ведут по формуле:

$$x = (A - B) \times 0,14 \times 100/2, \quad (5)$$

где  $x$  – количество небелкового азота в 100 мл рубцовой жидкости, мг;

$A$  – количество 0,01 н. раствора  $H_2SO_4$  в приемнике, мл (обычно 30 мл.);

$B$  – количество 0,01 н. раствора  $NaOH$ , пошедшего на титрование, мл;

0,14 – количество азота, связываемое 1 мл 0,01 н. раствора серной кислоты, мг;

2 – объем навески.

**Определение белкового азота в рубцовой жидкости.** Рассчитывается формулой:

$$\text{Белковый азот} = \text{Общий азот} - \text{Небелковый азот} \quad (6)$$

**Определение мочевиного азота в рубцовой жидкости.** 100 мл рубцовой жидкости поместить в мерную колбу на 500 мл и довести дистиллированной водой до метки, с помощью аппарата встряхивают 15 минут. В течение 15 минут провести отстаивание. Затем из колбы отобрать 10 мл экстракта, поместить в мерную колбу на 50 мл, добавить 1 г свежемолотой сои и довести до метки дистиллированной воды. Полученную смесь встряхивают и в течение 2 часов выдерживают при комнатной температуре (первые 1,5 часа смесь перемешивают с периодичностью в 30 мин). По прошествии 2 часов отбирают 10 мл экстракта, не взмучивая осадок, переносят его в коническую колбу на 100 мл, добавляют 3 капли индикатора Тоширо и титруют 0,5 н раствором соляной кислоты до ярко выраженного фиолетового цвета. Расчет проводят по формуле:

$$X_{\text{мг/\%}} = 0,075 \times a \times y, \quad (7)$$

где:  $a$  – количество 0,5 н раствора соляной кислоты, израсходованной на титрование, мл;

$y$  – объем содержимого колбы до момента взятия экстракта (500 мл);

0,075 – коэффициент пересчета.

**Определение аммиачного азота.** При определении аммиачного азота в содержимом рубца (химуса) набираем в мерный цилиндр  $20 \text{ см}^3$ , добавляем  $80 \text{ см}^3$  дистиллированной воды. Отстаиваем в течение 1 часа и фильтруем через сухой складчатый фильтр. Далее 2 мл вытяжки помещают во внешнюю камеру чашки Конвея, во внутреннюю камеру наливают  $3 \text{ см}^3$   $H_2SO_4$  0,01 н. раствора, добавляют 3 капли индикатора Таширо. Шлиф чашки смазывают вазелином и закрывают матовой стеклянной пластинкой. Поставив наклонно и приоткрыв крышку, быстро вливают во внешний сосуд  $2 \text{ см}^3$  насыщенного раствора  $K_2CO_3$ . Перемешивают круговым покачиванием чашки 10 раз, оставляют на сутки. Одновременно ставится контроль. Не связавшаяся кислота оттитровывается 0,01 н. раствором  $NaOH$  из микробюретки.

1 мл 0,01 н.  $H_2SO_4$  соответствует  $0,00017 \text{ NH}_3$ .

Расчет:

$$X_{\% \text{ аммиака}} = \frac{\text{КОЛИЧЕСТВО СВЯЗАННОЙ КИСЛОТЫ} \times 0,00017 \times 100}{\text{навеска}} = \text{МГ, \%} \quad (8)$$

**3) Определение численности простейших в рубцовой жидкости при контакте с микрородорослями *Chlorella vulgaris*.** Численность простейших в рубцовой жидкости устанавливали с помощью камеры Горяева. Для этого в пробирку отбирали 5 мл профильтрованного содержимого рубца и добавляли 0,1 мл 4 %-ного раствора формалина для фиксации инфузорий и 20 мкл метиленового синего. Встряхивали 1-2 мин. В камеру с сеткой Горяева под покровное стекло вносили 1 каплю жидкости и подсчитывали количество инфузорий в 25 больших квадратах, после чего определяли число простейших в 1 мл рубцового содержимого по формуле 9:

$$X = \frac{n \times b}{k \times S \times h}, \quad (9)$$

где  $X$  – концентрация клеток в 1 мл исследуемой жидкости (клеток/мл);

$n$  – количество клеток, подсчитанных в выбранных секторах;

$b$  – кратность разведения пробы (если разведения не было,  $b=1$ );

$k$  – количество исследованных больших квадратов;

$S$  – площадь одного исследуемого сектора (большого квадрата) в  $\text{мм}^2$ ;

$h$  – глубина счётной камеры в мм (стандартно 0,1 мм).

**4) Анализ концентрации 28 химических элементов в биомассе *Chlorella vulgaris* методом ICP-MS.** Предварительно гомогенизированную пробу в сухом или нативном виде (массой не более 0,2 г для твердых и 0,5 г – для жидких образцов) помещали во фторопластовую вials, взвешивали с точностью до 0,0001 г. Добавляли азотную кислоту, пероксид водорода и, при необходимости, плавиковую кислоту. Разложение проводили в микроволновой системе пробоподготовки TOPEX+ («PREEKEM», Китай) при соответствующей температуре (подбирается в зависимости от вида образца).

Элементный анализ осуществляли на одноквадрупольном масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой Agilent 7900 ICP-MS («Agilent», США). Анализ Cr, Fe, Zn, Se проводили в гелиевом режиме с использованием столкновительной ячейки.

Стандартные растворы получали из мультиэлементной смеси от компании Merck (Германия), с добавлением вручную приготовленного стандарта макроэлементов (K, Na, Mg, Ca).

Статистические данные накапливаются в результате серии измерений по всему диапазону масс (200 «пробегах квадруполя по пикам» за повтор) в 2 повторях.

Результатом анализа является концентрация искомых элементов, выраженная в миллиграммах элемента на килограмм пробы с учетом суммы инструментальной и методической ошибок.

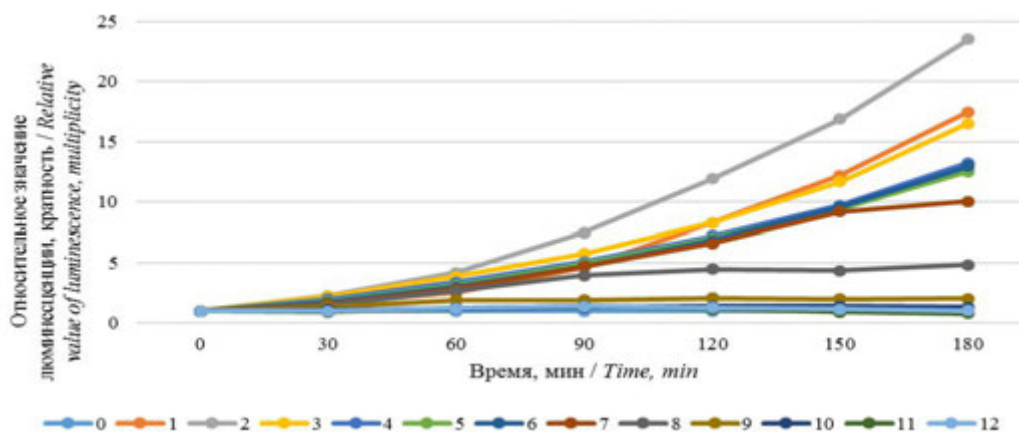
**Оборудование и технические средства.** Исследование проводилось на базе Центра коллективного пользования ФНЦ БСТ РАН (г. Оренбург) (<http://цкп-бст.рф>) с применением следующего оборудования: микропланшетный ридер TECAN Infinite F200 («Tecan Austria GmbH», Австрия), масс-спектрометр с индуктивно-связанной плазмой Agilent 7900 ICP-MS («Agilent», США), микроволновая система пробоподготовки TOPEX+ («PREEKEM», Китай), газовый хроматограф «Хроматэк-Кристал 5000.2» (СКБ «Хроматэк», Россия), микроскоп Levenhuk 320 BASE (KHP для Levenhuk, Inc., США).

**Статистическая обработка.** Проверку репрезентативности, статистический анализ полученных данных осуществляли с помощью программного обеспечения «GraphPad Software Prism 8.0.1» (США). Данные считались достоверными при  $P \leq 0,05$  – значимость,  $P \leq 0,1$  – различия на уровне статистической тенденции.



**Результаты исследований.**

При оценке биологической активности суспензии *Chlorella vulgaris* в тесте ингибирования/индукции бактериальной люминесценции показано, что все исследуемые образцы обладают существенным потенцирующим эффектом. Так, в частности, образец 1 в дозировке 200 мг/мл способствовал росту свечения *Escherichia coli* K12 TG1 в объеме до 1748,5 % относительно контроля. Однако максимум стимуляции наблюдался при концентрации вдвое меньше, достигая 2351,6 % относительно контроля на 180 минуте экспозиции. Общий диапазон концентраций с условным пребиотическим эффектом, тем не менее, охватывал дозы от 200 до 0,39 мг/мл (рис. 1), причем прямо коррелируя с достигаемым пределом люминесценции.



Примечание: 0 – контроль; 1 – 200 мг/мл; 2 – 100 мг/мл; 3 – 50 мг/мл; 4 – 25 мг/мл; 5 – 12,5 мг/мл; 6 – 6,25 мг/мл; 7 – 3,12 мг/мл; 8 – 1,56 мг/мл; 9 – 0,78 мг/мл; 10 – 0,39 мг/мл; 11 – 0,19 мг/мл; 12 – 0,09 мг/мл

Note: 0 – control; 1 – 200 mg/ml; 2 – 100 mg/ml; 3 – 50 mg/ml; 4 – 25 mg/ml; 5 – 12.5 mg/ml; 6 – 6.25 mg/ml; 7 – 3.12 mg/ml; 8 – 1.56 mg/ml; 9 – 0.78 mg/ml; 10 – 0.39 mg/ml; 11 – 0.19 mg/ml; 12 – 0.09 mg/ml

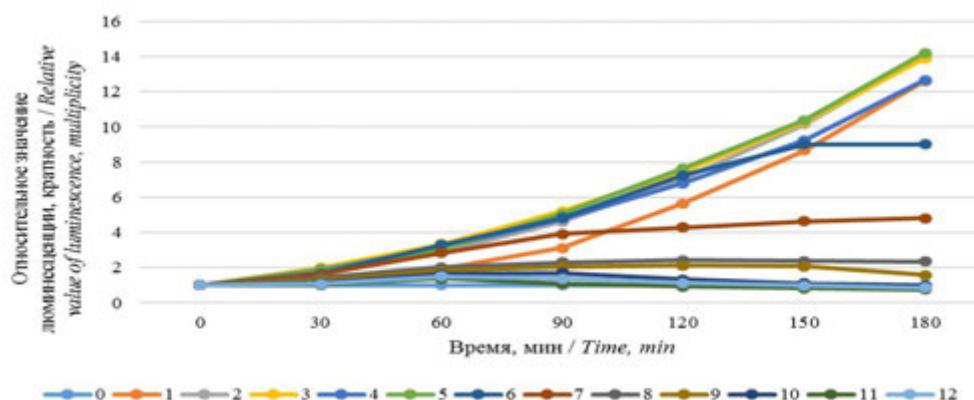
Рисунок 1. Биологическая активность суспензии *Chlorella vulgaris* (образец № 1) в тесте с *Escherichia coli* K12 TG1

Figure 1. Biological activity of *Chlorella vulgaris* suspension (sample No. 1) in the test with *Escherichia coli* K12 TG1

При этом следует отметить, что свечение *Escherichia coli* K12 TG1 зависело также и от длительности экспозиции. Так, при дозировке 100 мг/мл к 180 минуте оно выросло в 12,25 раз относительно начала эксперимента.

Что касается образца № 2, здесь индуцирующий эффект был менее выражен, однако, аналогично первому случаю также сохранялся в диапазоне концентраций от 200 до 0,39 мг/мл (рис. 2) с максимумом к концу эксперимента при 100 мг/мл в 1407,9 % относительно контроля. Величина достигаемого RLU при этом была в 7,34 раза больше, чем на 0 минуте воздействия. Минимальный индуцирующий эффект, однако, при дозе 0,39 мг/мл был смещен к центру временного интервала, достигая 168,9 % на 90 минуте (стационарная фаза в контроле), после чего корректировался.

При использовании образца № 3 динамика люминесценции *Escherichia coli* K12 TG1 отличалась от представленных выше по следующим двум пунктам. Во-первых, диапазон стимулирующих концентраций был смещен вплоть до 0,098 мг/мл с минимальным эффектом в 132,4 % на 120 минуте. Во-вторых, максимум индукции приходился не на 100 мг/мл, а на 25 мг/мл, достигая 1887,3 % по относительному значению биолюминесценции. При этом, как и ранее, свечение с пролонгацией экспозиции возрастало. Так, например, выглядел ряд соотношений  $O_n$  (RLU на 180 минуте) к  $O_0$  (RLU на 0 минуте) в серии двукратных разведений суспензии *Chlorella vulgaris* от 200 до 0,098 мг/мл: 3,23 → 6,78 → 9,43 → 9,83 → 6,81 → 4,91 → 4,72 → 1,80 → 0,95 → 0,88 → 0,88 → 0,55 (низкий коэффициент в последнем случае обусловлен высоким значением RLU в опытной ячейке уже на первых минутах воздействия).

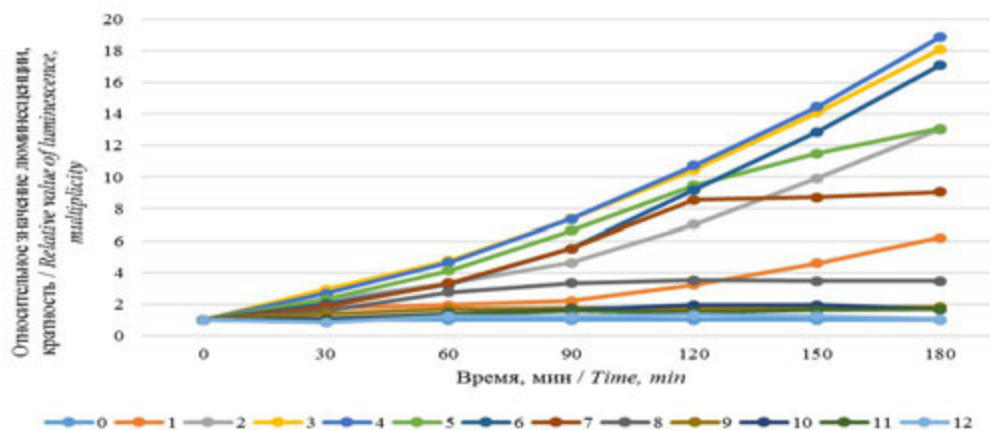


Примечание: 0 – контроль; 1 – 200 мг/мл; 2 – 100 мг/мл; 3 – 50 мг/мл; 4 – 25 мг/мл; 5 – 12,5 мг/мл; 6 – 6,25 мг/мл; 7 – 3,12 мг/мл; 8 – 1,56 мг/мл; 9 – 0,78 мг/мл; 10 – 0,39 мг/мл; 11 – 0,19 мг/мл; 12 – 0,09 мг/мл

Note: 0 – control; 1 – 200 mg/ml; 2 – 100 mg/ml; 3 – 50 mg/ml; 4 – 25 mg/ml; 5 – 12.5 mg/ml; 6 – 6.25 mg/ml; 7 – 3.12 mg/ml; 8 – 1.56 mg/ml; 9 – 0.78 mg/ml; 10 – 0.39 mg/ml; 11 – 0.19 mg/ml; 12 – 0.09 mg/ml

Рисунок 2. Биологическая активность суспензии *Chlorella vulgaris* (образец № 2) в тесте с *Escherichia coli* K12 TG1

Figure 2. Biological activity of *Chlorella vulgaris* suspension (sample No. 2) in the test with *Escherichia coli* K12 TG1



Примечание: 0 – контроль; 1 – 200 мг/мл; 2 – 100 мг/мл; 3 – 50 мг/мл; 4 – 25 мг/мл; 5 – 12,5 мг/мл; 6 – 6,25 мг/мл; 7 – 3,12 мг/мл; 8 – 1,56 мг/мл; 9 – 0,78 мг/мл; 10 – 0,39 мг/мл; 11 – 0,19 мг/мл; 12 – 0,09 мг/мл

Note: 0 – control; 1 – 200 mg/ml; 2 – 100 mg/ml; 3 – 50 mg/ml; 4 – 25 mg/ml; 5 – 12.5 mg/ml; 6 – 6.25 mg/ml; 7 – 3.12 mg/ml; 8 – 1.56 mg/ml; 9 – 0.78 mg/ml; 10 – 0.39 mg/ml; 11 – 0.19 mg/ml; 12 – 0.09 mg/ml

Рисунок 3. Биологическая активность суспензии *Chlorella vulgaris* (образец № 3) в тесте с *Escherichia coli* K12 TG1

Figure 3. Biological activity of *Chlorella vulgaris* suspension (sample No. 3) in the test with *Escherichia coli* K12 TG1



В среднем можно отметить, что при повышении доли жира в биомассе *Chlorella vulgaris* диапазон стимулирующих концентраций суспензии становится шире, однако, при этом снижаются достигаемые максимумы свечения.

Далее, при оценке динамики ферментативных функций в искусственном рубце показано, что введение биомассы опытных образцов № 1-3 в реакционную среду сопровождается повышением концентрации метана на 19,0 %, 21,0 % и 15,0 % соответственно. В опыте с образцом № 1 наблюдается снижение концентрации аммиака на 12,0 %, при этом отмечается существенное повышение доли белкового азота – в 2,3 раза (133,0 %), мочевины – на 38,0 %, небелкового азота – в 2,6 раза (157,0 %), а также общего азота – в 2,5 раза (145,0 %) в сравнении с контролем, что свидетельствует о более интенсивной протейн синтетической активности. В опыте с образцом № 2 – уровни различных форм азота, за исключением мочевинового, также умеренно повышены. Это свидетельствует о схожем уровне мочевинового обмена, но разной доступности протеина. В случае с образцом № 2 аммиачный азот ниже на 4,0 %, чем в контроле. Следовательно, в контроле наблюдаются минимальные концентрации всех форм азота, особенно белкового (в 2-2,3 раза ниже). При этом образцы № 1-3 показывают высокую вариабельность по мочевиному азоту (от 0 % до 38,0 %). Стабильно повышен белковый азот – от 114,0 % до 133,0 % (табл. 2).

Таблица 2. Концентрация различных форм азота, метана и эквивалент  $\text{CO}_2$  в рубцовой жидкости *in vitro* при тестировании микроводорослей *Chlorella vulgaris*  
Table 2. Concentrations of different forms of nitrogen, methane and  $\text{CO}_2$  equivalent in *in vitro* rumen fluid during *Chlorella vulgaris* testing

| Показатели ферментативной активности / Enzyme activity indicators           | Образец 1 / Sample 1 | Образец 2 / Sample 2 | Образец 3 / Sample 3 | Контроль / Control | P-значение / P-value |
|---|----------------------|----------------------|----------------------|--------------------|----------------------|
| Аммиачный азот, мг/100 мл / ammonia nitrogen, mg/100 ml                     | 0,00187 ± 0,00011    | 0,00204 ± 0,00012    | 0,00200 ± 0,00012    | 0,00212 ± 0,00013  | < 0,01               |
| Белковый азот, мг/100 мл / protein nitrogen, mg/100 ml                      | 34,3 ± 2,3           | 31,5 ± 2,1           | 32,2 ± 2,2           | 14,7 ± 1,0         | -                    |
| Мочевинный азот, мг/100 мл / urea nitrogen, mg/100 ml                       | 4,13 ± 0,28          | 3,0 ± 0,20           | 3,75 ± 0,25          | 3,0 ± 0,20         | < 0,01               |
| Небелковый азот, мг/100 мл / non-protein nitrogen, mg/100 ml                | 41,3 ± 2,8           | 23,1 ± 1,6           | 23,8 ± 1,6           | 16,1 ± 1,1         | -                    |
| Общий азот, мг/100 мл / total nitrogen, mg/100 ml                           | 75,6 ± 5,1           | 54,6 ± 3,7           | 56,0 ± 3,8           | 30,8 ± 2,1         | -                    |
| Метан, мг/м <sup>3</sup> / methane, mg/m <sup>3</sup>                       | 517,7 ± 34,9         | 527,8 ± 35,6         | 499,8 ± 33,7         | 436,5 ± 29,4       | -                    |
| CO <sub>2</sub> e, мг/м <sup>3</sup> / CO <sub>2</sub> e, mg/m <sup>3</sup> | 12942,5 ± 872,4      | 13195,0 ± 888,8      | 12495,0 ± 842,1      | 10912,5 ± 735,4    | -                    |

Примечание: столбец «P – значение» в таблице указывает на наиболее сильные статистически значимые различия в тесте ANOVA с поправкой Бонферрони между нативной рубцовой жидкостью и опытными образцами биомассы водорослей

Note: the “P-value” column in the table indicates the strongest statistically significant differences in the ANOVA test with Bonferroni correction between native rumen liquor and the experimental algal biomass samples

В случае с летучими жирными кислотами, в среднем, уксусная кислота преобладала в ~2,8-3,4 раза над пропионовой во всех опытах. Соотношение кислот зависит от состава рациона, его сбалансированности и режима кормления. Если в рационе много грубых кормов, богатых клетчаткой, то в рубце увеличивается содержание уксусной кислоты, а сочные и концентрированные корма вызывают увеличение пропионовой и масляной кислот. Оптимальное соотношение уксусной и пропионовой кислот в рубце жвачных животных составляет (3:1) (рис. 4).

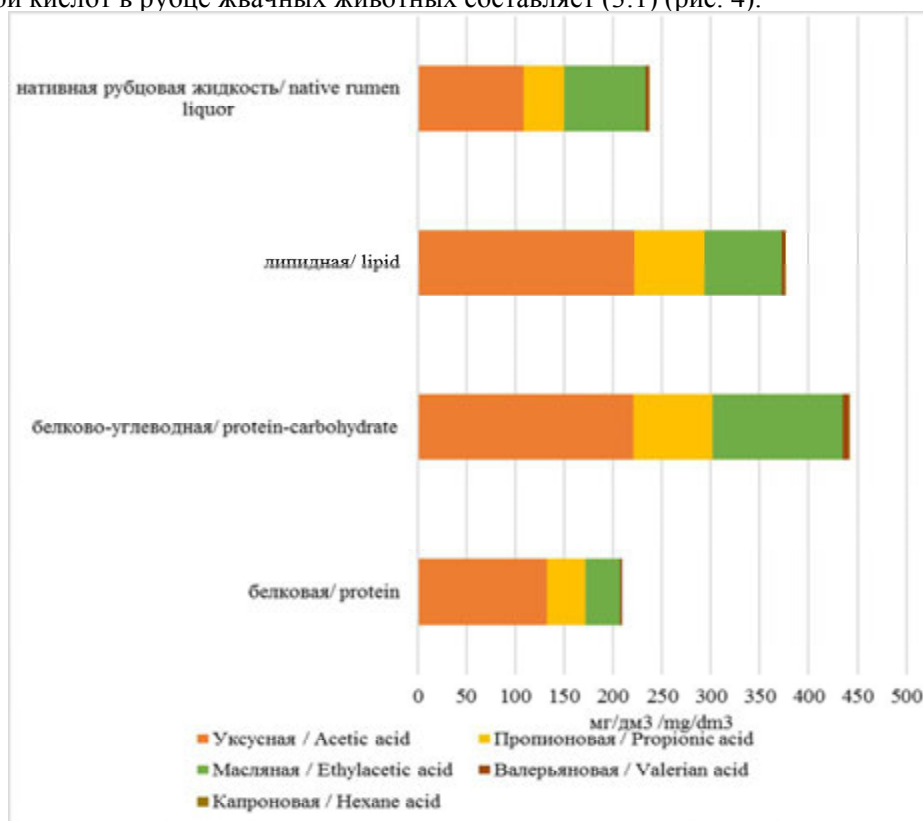


Рисунок 4. Концентрация летучих жирных кислот в рубцовой жидкости *in vitro* при тестировании микроводорослей *Chlorella vulgaris*, мг/дм³  
 Figure 4. Concentration of volatile fatty acids in rumen fluid *in vitro* when testing the microalgae *Chlorella vulgaris*, mg/dm³

Что касается численности простейших в рубцовой жидкости (табл. 3), то во всех опытах она находилась в диапазоне норм для здоровых животных – от 200 000-1 000 000 клеток/мл, но тем не менее уступала контрольным показателям.

Относительно элементного состава установлено, что в биомассе водорослей содержатся высокие концентрации макроэлементов – лидируют P, K, Mg, Ca (>100 мг/кг), среди микроэлементов по содержанию преобладают Mn, Zn, Mo, I и Fe. Концентрации макро- и некоторых микроэлементов (например, Fe, Zn) достоверно различаются ( $P < 0,05$ ). Среди токсичных элементов присутствуют Al, Cd и Sn, во всех образцах есть Pb и Hg, но их концентрации не превышают ПДК для пищевых продуктов (согласно нормам РФ – ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», СанПиН 2.3.2.1078-01, ГОСТ 26927-2014). Наименьшее содержание меди установлено в липидном морфотипе (0,19 мг/кг против 5,77 и 10,96 для образцов с белковым и белково-углеводным морфотипами). Каждый образец *Chlorella vulgaris* имеет свой уникальный элементный профиль, в частности белковый морфотип водорослей наиболее богат макроэлементами, белково-углеводный, напротив, микроэлементами, липидный же наиболее беден по составу макро и микроэлементов. (табл. 4).

Таблица 3. Концентрация инфузорий в рубцовой жидкости после инкубирования *in vitro*, клеток на миллилитрTable 3. Concentration of ciliates in rumen fluid after incubation *in vitro*, cells per milliliter

| Наименование образца /<br>Name of the sample        | Среднее количество клеток в 1 мл рубцовой жидкости по<br>группе, шт. / Average number of cells in 1 ml of rumen tissue per<br>group, pcs |
|---|--|
| Белковая / protein                                  | 900 000±57 735,03 <sup>a,b</sup>   |
| Белково-углеводная /<br>protein-carbohydrate        | 1 533 333,33±66 666,67 <sup>c</sup>  |
| Липидная / lipid                                    | 1 100 000±115 470,05 <sup>d</sup>  |
| Нативная рубцовая жидкость /<br>native rumen liquor | 1 766 666,67±202 758,75  |

Примечание: верхние индексы у показателей концентрации инфузорий в таблице показывают статистическую значимость различий в t-тесте, верхний индекс «а» –  $P<0,0006$  – разница между белковым и белково-углеводным морфотипами; индекс «b» –  $P<0,001$  – между белковым морфотипом и нативной рубцовой жидкостью; индекс «с» –  $P<0,001$  – между белково-углеводным и липидным морфотипами; индекс «d» –  $P<0,005$  – указывает на статистическое различие между липидным морфотипом и нативной рубцовой жидкостью

Note: the superscripts of the ciliate concentration values in the table indicate the statistical significance of differences in the t-test: the superscript “a” –  $P<0.0006$  – is the difference between the protein and protein-carbohydrate morphotypes; the subscript “b” –  $P<0.001$  – is the difference between the protein morphotype and native rumen liquor; the subscript “c” –  $P<0.001$  – is the difference between the protein-carbohydrate and lipid morphotypes; the subscript “d” –  $P<0.005$  – indicates the statistical difference between the lipid morphotype and native rumen liquor

Таблица 4. Концентрация макро- и микроэлементов и при тестировании микроводорослей *Chlorella vulgaris*, мг/кгTable 4. Concentration of macro- and microelements and during testing of *Chlorella vulgaris* microalgae, mg/kg

| Элемент / Element | Образец 1 / Sample 1  | Образец 2 / Sample 2  | Образец 3 / Sample 3  |
|-------------------|---|---|---|
|                   | содержание мг/кг ±<br>ошибка мг/кг / content<br>mg/kg ± error mg/kg | содержание мг/кг ±<br>ошибка мг/кг / content<br>mg/kg ± error mg/kg | содержание мг/кг ±<br>ошибка мг/кг / content<br>mg/kg ± error mg/kg |
| 1                 | 2   | 3   | 4   |
| Li                | 0,0128±0,0014   | 0,0064±0,0016   | 0,0034±0,0023   |
| Be                | 0,0000±0,0  | 0,0000±0,0  | 0,0010±0,0007   |
| Na                | 5,0±1,0   | 10,0±2,0  | 0,0±0,0   |
| Mg                | 870,0± 58,0   | 806,0±55,0  | 608,0±37,0  |
| Al                | 2,7193±0,3698   | 10,7522±0,5806  | 2,7569±0,1268   |
| P                 | 8052,0±411,0  | 3748,0±225,0  | 5432,0±299,0  |
| K                 | 13336,0±760,0   | 5703,0±411,0  | 7814,0±500,0  |
| Ca                | 89,0±4,0  | 82,0±6,0  | 38,0±3,0  |
| Mn                | 60,3222±2,8955  | 10,2178±0,6029  | 16,9315±1,1683  |
| Co                | 0,0084±0,0004   | 0,0143±0,0013   | 0,0049±0,0004   |
| Ni                | 0,1278±0,0084   | 0,1141±0,0131   | 0,0603±0,0057   |
| Cu                | 5,7711±0,3116   | 10,9597±0,9206  | 0,1862±0,0078   |

Продолжение таблицы 4

| 1  | 2              | 3              | 4             |
|----|----------------|----------------|---------------|
| Se | 0,0163±0,0116  | 0,0000±0       | 0,0083±0,0076 |
| Sr | 0,2743±0,0178  | 0,2974±0,0208  | 0,1697±0,0124 |
| Mo | 7,2699±0,3926  | 5,5324±0,3817  | 4,9062±0,3729 |
| Cd | 0,1371±0,0047  | 0,2891±0,015   | 0,0404±0,0023 |
| Sn | 4,3434±0,2389  | 10,2158±0,7764 | 1,2679±0,0659 |
| Sb | 0,0020±0,0005  | 0,0029±0,0003  | 0,0034±0,0004 |
| I  | 0,2536±0,0345  | 0,1175±0,006   | 0,0506±0,0019 |
| Ba | 0,2516±0,0081  | 0,2448±0,013   | 0,1215±0,0069 |
| Hg | 0,0074±0,0005  | 0,0069±0,002   | 0,0044±0,0025 |
| Tl | 0,0010±0,0004  | 0,0000±0,0     | 0,0000±0,0    |
| Pb | 0,0745±0,0027  | 0,0619±0,0024  | 0,0467±0,0021 |
| Bi | 0,0005±0,0002  | 0,0010±0,0001  | 0,0000±0,0    |
| Cr | 0,0000±0,0     | 0,0202±0,0165  | 0,0000±0,0    |
| Fe | 76,8032±2,3809 | 94,6829±3,0299 | 20,4813±1,065 |
| Zn | 9,4110±0,367   | 3,5600±0,1922  | 4,0982±0,1475 |
| As | 0,0286±0,0066  | 0,0147±0,012   | 0,0078±0,0046 |

Примечание: образец № 1 – белковый морфотип, образец № 2 – белково-углеводный, образец № 3 – липидный морфотип

Note: Sample No. 1 – protein morphotype, sample No. 2 – protein-carbohydrate, sample No. 3 – lipid morphotype

Таким образом, *Chlorella vulgaris* обладает существенным потенциалом в кормлении жвачных животных не только как источник базовых нутриентов – белков, жиров и углеводов, но и как ресурс для извлечения минералов с определенным микробиом модулирующим эффектом, что подтверждается как смещением динамики ферментативных путей, так и биологической активностью в отношении проکاریот и простейших.

#### Обсуждение полученных результатов.

Потенцирующие эффекты биомассы *Chlorella vulgaris* в отношении *Escherichia coli* K12 TG1 могут быть обусловлены тем фактом, что при обработке ультразвуком и, как следствие, разрушении твердой клеточной стенки из микроводорослей высвобождаются различные питательные вещества (Safi C et al., 2014), выступающие дополнительным источником энергии для люциферин-люциферазной реакции. При этом концентрации таких нутриентов напрямую зависят от методов и способов выращивания *Chlorella vulgaris*: обогащение питательной среды азотом способствует накоплению белков, а увеличение интенсивности света сопровождается повышением доли липидов (Chia MA et al., 2013; Metsoviti MN et al., 2019). Причем бактерии, как правило, легче и быстрее расщепляют белки и метаболизируют аминокислоты, чем липиды, что обусловлено нерастворимостью последних в воде, необходимостью в специализированных липазах (как у липолитических микроорганизмов, например, *Pseudomonas* spp. или некоторых *Psychromonas*) и длительностью процессов окисления жирных кислот (Pelikan C et al., 2021). Этим фактом, в частности, объясняется более сильный люминесцентный ответ в среде с биомассой *Chlorella vulgaris* белкового морфотипа и более растянутый во времени в среде с липидным морфотипом. Более того, известно, что в хлорелле содержится большое количество каротиноидов, в частности, лютеин, фукоксантин, астаксантин и бета-каротин с мощным антиоксидантным эффектом – этим можно объяснить не только усиление свечения *Escherichia coli* K12 TG1, но и метаболические сдвиги в рубцовой экосистеме (Sirohi P et al., 2022; Bazarnova J et al., 2022).

При этом, однако, следует иметь в виду, что высвобождаемые из микроводорослей молекулы хлорофилла обладают определенным бактерицидным эффектом, но их концентрация при этом должна быть достаточно высокой – более 20 мкМ, что достигается только путем химической

очистки пигмента (Ahmadi A et al., 2022), иными словами, он не может иметь нивелирующего эффекта в описанном случае. В то же время из *Chlorella vulgaris* получают антибиотик хлореллин, бактерицидные эффекты которого в случае с *Staphylococcus* spp. были сравнимы с действием ампициллина и оксациллина (Acurio LP et al., 2018), что может определенным образом сказаться на общей структуре микробного сообщества рубца за счет подавления роста отдельных видов микроорганизмов. Также ранее отмечалось наличие как симбиотических, так и конкурентных взаимоотношений между *Chlorella vulgaris* и различными бактериями (Qu L et al., 2014; Liang Z et al., 2013), что опосредует микробиом-модулирующее действие этих микроводорослей. В частности, ранее в исследовании на поросятах-отъемышах диета с добавлением 5 % *Chlorella vulgaris* способствовала размножению в кишечнике животных представителей таких таксонов, как *Colidextribacter*, *Oscillospira* и *Lactobacillus* (Martins CF et al., 2022). Это указывает на то, что хлорелла действует как пребиотик, создавая благоприятные условия для роста полезных микроорганизмов.

В то же время численность простейших (инфузорий) в рубцовой жидкости также является важным критерием, отражающим общее состояние и здоровье пищеварительной системы, эффективность кормления и обменные процессы у жвачных животных. Инфузории рода *Entodinium*, *Diplodinium*, *Isotricha* и др. играют ключевую роль в ферментации клетчатки и расщеплении сложных углеводов, синтезе микробного белка, который усваивается животными, и поддержании оптимального pH рубца (6,0-7,0).

Снижение численности инфузорий в опытных образцах рубцовой жидкости может быть связано с тем, что после внесения микроводорослей произошли изменения в микробиоме. Так, некоторые виды инфузорий, живущие в совершенно бескислородных условиях (например, в рубце жвачных животных или в иле на дне водоемов), являются облигатными анаэробами, и у них в клетке живут симбиотические бактерии, которые помогают им получать энергию в отсутствие кислорода (Keum GB et al., 2024), дополнительно на изменения в количестве инфузорий влияет концентрация летучих жирных кислот и азотистых соединений (D'Souza GM et al., 2022).

*Chlorella vulgaris* действует как эффективный пребиотик. Исследования на телятах с фистулами рубца показали, что суспензия хлореллы способствует активизации и заселению рубца микроорганизмами, усиливая бродильные процессы (Tsiplakou E et al., 2017). Это приводит к более интенсивному расщеплению устойчивых полисахаридов (целлюлозы) до простых углеводов, которые вместе с аммиаком используются микрофлорой для синтеза бактериального белка (Kholif AE et al., 2022). В результате улучшается белковый обмен, о чем свидетельствует минимальная потеря азота и его большее отложение в организме животных, получавших хлореллу (Gadzama IU et al., 2025). Этот полноценный микробный белок в дальнейшем переваривается в кишечнике, обеспечивая животное доступными аминокислотами.

ЛЖК (ацетат, пропионат, бутират) являются конечными продуктами микробной ферментации и основным источником энергии для жвачных. Поскольку хлорелла усиливает расщепление клетчатки, можно ожидать увеличения молярной доли уксусной кислоты (ацетата), которая является ключевым предшественником для синтеза молочного жира. Это подтверждается данными о повышении жирномолочности у коров, получавших суспензию хлореллы (Spínola MP et al., 2023).

Прямых исследований о влиянии именно хлореллы на выбросы метана у крупного рогатого скота немного. Однако установлено, что другие виды водорослей (например, *Asparagopsis taxiformis*) способны снижать выбросы метана на 82,0 % (Palangi V et al., 2025). Однако в проведенном исследовании не были получены аналогичные результаты, возможно, из-за видового различия микроводорослей, что требует дальнейшего изучения влияния их на метаногенез. Метанингибирующий эффект связывают с нарушением синтеза метана археями, который в норме происходит при восстановлении CO<sub>2</sub> и водорода, образующихся в процессе брожения (Wallace RJ et al., 2017). Логично предположить, что, изменяя течение бродильных процессов и состав ЛЖК в рубце, хлорелла может влиять и на пул восстановительных эквивалентов, доступных для метаногенов.

### Заключение.

Таким образом, *Chlorella vulgaris* действует как многофункциональный модулятор рубцового пищеварения, а ее эффекты тесно переплетены и вытекают один из другого. Наиболее убедительно доказанным является ее положительное влияние на белковый обмен, в то время как воздействие на метаногенез остается областью для перспективных исследований.

### Список источников

1. Атландерова К.Н., Власенко Л.В., Дускаев Г.К. Оценка действия биовита и коричного альдегида на степень переваримости корма и микробиом рубца крупного рогатого скота // Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2024. № 3(112). С. 201-207. [Atlanderova KN, Vlasenko LV, Duskaev GK. Assessment of the biovit and cinnamaldehyde effect on the degree of feed digestability and the cattle rumen microbiome. Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2024;3(112):201-207. (In Russ.)]. doi: 10.21515/1999-1703-112-201-207
2. Камирова А.М., Сизова Е.А., Иванищева А.П. Использование растительных веществ с целью коррекции элементного статуса и рубцового пищеварения сельскохозяйственных животных // Пермский аграрный вестник. 2025. № 1 (49). С. 124-131. [Kamirova AM, Sizova EA, Ivanishcheva AP. The use of plant substances for correction of the elemental status and ruminal digestion of farm animals. Perm Agrarian Journal. 2025;1(49):124-131. (In Russ.)]. doi: 10.47737/2307-2873-2025-49-124
3. Acurio LP, Salazar DM, Valencia AF, Robalino DR, Barona AC, Alvarez FC, Rodriguez CA. Antimicrobial potential of Chlorella algae isolated from stacked waters of the Andean Region of Ecuador. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2018;151:012040. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/151/1/012040>
4. Agarwalla A, Komandur J, Mohanty K. Current trends in the pretreatment of microalgal biomass for efficient and enhanced bioenergy production. Bioresour Technol. 2023;369:128330. doi: 10.1016/j.biortech.2022.128330
5. Ahmadi A, Shahidi SA, Safari R, Motamedzadegan A, Ghorbani-HasanSaraei A. Evaluation of stability and antibacterial properties of extracted chlorophyll from alfalfa (*Medicago sativa* L.). Food and Chemical Toxicology. 2022;163:112980. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.112980>
6. Alagawany M, Taha AE, AN, Noreldin A, El-Tarabily KhA, El-Hack MEA. Nutritional applications of species of Spirulina and Chlorella in farmed fish: A review. Aquaculture. 2021;542:736841. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736841>
7. An B-K, Kim K-E, Jeon J-Y, Lee KW. Effect of dried Chlorella vulgaris and Chlorella growth factor on growth performance, meat qualities and humoral immune responses in broiler chickens. SpringerPlus. 2016;5:718. doi: 10.1186/s40064-016-2373-4
8. Andrade LM, Andrade CJ, Dias M, Nascimento CAO, Mendes MA. Chlorella and spirulina microalgae as sources of functional foods, nutraceuticals, and food supplements; an overview. MOJ Food Process Technol. 2018;6(1):45-58. doi: 10.15406/mojfpt.2018.06.00144
9. Bazarnova J, Smyatskaya Y, Shlykova A, Balabaev A, Đurović S. Obtaining fat-soluble pigments—Carotenoids from the biomass of Chlorella microalgae. Applied Sciences. 2022;12(7):3246. <https://doi.org/10.3390/app12073246>
10. Chia MA, Lombardi AT, Melao MDGG. Growth and biochemical composition of Chlorella vulgaris in different growth media. Anais da Academia Brasileira de Ciências. 2013;85(04):1427-1438. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201393312>
11. Dias ALG, Freitas JA, Micai B, Azevedo RA, Greco LF, Santos JEP. Effect of supplemental yeast culture and dietary starch content on rumen fermentation and digestion in dairy cows. J Dairy Sci. 2018;101(1):201-221. doi: 10.3168/jds.2017-13241
12. D'Souza GM, Dias Batista LF, Norris AB, Tedeschi LO. Effect of live yeast supplementation on energy partitioning and ruminal fermentation characteristics of steers fed a grower-type diet in heat-stress conditions. J Anim Sci. 2022;100(11):skac320. doi: 10.1093/jas/skac320



13. Gadzama IU, Ray S, Méité R, Mugweru IM, Gondo T, Rahman MA, Redoy MRA, Rohani MF, Kholif AE, Salahuddin M, Brito AF. *Chlorella vulgaris* as a livestock supplement and animal feed: a comprehensive review. *Animals*. 2025;15(6):879. <https://doi.org/10.3390/ani15060879>
14. Keum GB, Pandey S, Kim ES, Doo H, Kwak J, Ryu S, Choi Y, Kang J, Kim S, Kim HB. Understanding the diversity and roles of the ruminal microbiome. *J Microbiol*. 2024;62(3):217-230. doi: 10.1007/s12275-024-00121-4
15. Kholif AE, Gouda GA, Abu EAA, Patra AK. Replacing the concentrate feed mixture with *moringa oleifera* leaves silage and *Chlorella vulgaris* microalgae mixture in diets of damascus goats: lactation performance, nutrient utilization, and ruminal fermentation. *Animals*. 2022; 12(12):1589. <https://doi.org/10.3390/ani12121589>
16. Liang Z, Liu Y, Ge F, Xu Y, Tao N, Peng F, Wong M. Efficiency assessment and pH effect in removing nitrogen and phosphorus by algae-bacteria combined system of *Chlorella vulgaris* and *Bacillus licheniformis*. *Chemosphere*. 2013;92(10): 1383-1389. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.05.014>
17. Lobo RR, Almeida E, Monteiro A, et al. Replacing soybean meal with microalgae biomass in diets with contrasting carbohydrate profiles can reduce in vitro methane production and improve short-chain fatty acid production. *J Dairy Sci*. 2024;107(8):5542-5555. doi: 10.3168/jds.2023-24025
18. Martins CF, Trevisi P, Coelho DF, Correa F, Ribeiro DM, Alfaia CM, Pinho M, Pestana JM, Mourato MP, Almeida AM, Fontes CMGA, Freire JPB, Prates JA. Influence of *Chlorella vulgaris* on growth, digestibility and gut morphology and microbiota of weaned piglet. *Scientific Reports*. 2022;12(1):6012. doi: 10.1038/s41598-022-10059-5
19. Martins LF, Cueva SF, Lage CFA, Ramin M, Silvestre T, Tricarico J, Hristov AN. A meta-analysis of methane-mitigation potential of feed additives evaluated in vitro. *Journal of Dairy Science*. 2024;107(1):288-300. [https://doi.org/10.1016/S0022-0302\(23\)00819-6](https://doi.org/10.1016/S0022-0302(23)00819-6)
20. Mendes AR, Spínola MP, Lordelo M, Prates JAM. Impact of *Chlorella vulgaris* intake levels on performance parameters and blood health markers in broiler chickens. *Vet Sci*. 2024;11(7):290. doi: 10.3390/vetsci11070290
21. Metsoviti MN, Papapolymerou G, Karapanagiotidis IT, Katsoulas N. Effect of light intensity and quality on growth rate and composition of *Chlorella vulgaris*. *Plants*. 2019; 9(1):31. <https://doi.org/10.3390/plants9010031>
22. Omarkozhauy N, Shaikenova K, Ismailova A, Satieva K, Kamenov M. Effect of zeolite-chlorella top dressing on scar metabolism and conversion of dairy cows' feed. *Braz J Biol*. 2023;83:e274763. doi: 10.1590/1519-6984.274763
23. Palangi V, Kaya A, Macit M, Nadaroglu H, Ünlü HB, Kaya A, Fekri A, Mammadov A, Lackner M. Comparative anti-methanogenic ability of green algae (*C. reinhardtii*) with/without nanoparticles: *in vitro* gas and methane production. *Frontiers in Veterinary Science*. 2025;12:1492230. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1492230>
24. Pelikan C, Wasmund K, Glombitza C, Hausmann B, Herbold CW, Flieder M, Loy A. Anaerobic bacterial degradation of protein and lipid macromolecules in subarctic marine sediment. *ISME Journal*. 2021;15(3):833-847. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00817-6>
25. Qu L, Wang R, Zhao P, Chen R, Zhou W, Tang L, Tang X. Interaction between *Chlorella vulgaris* and bacteria: interference and resource competition. *Acta Oceanologica Sinica*. 2014;33(1):135-140. <https://doi.org/10.1007/s13131-014-0432-7>
26. Safi C, Zebib B, Merah O, Pontalier PY, Vaca-Garcia C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and sustainable energy reviews*. 2014;35:265-278. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>
27. Sirohi P, Verma H, Singh SK, Singh VK, Pandey J, Khusharia S, Kumar D, Kaushalendra TP, Kumar A. Microalgal carotenoids: therapeutic application and latest approaches to enhance the production. *Current Issues in Molecular Biology*. 2022;44(12):6257-6279. <https://doi.org/10.3390/cimb44120427>

28. Spínola MP, Costa MM, Prates JAM. Enhancing digestibility of *Chlorella vulgaris* biomass in monogastric diets: strategies and insights. *Animals (Basel)*. 2023;13(6):1017. doi: 10.3390/ani13061017
29. Tsiplakou E, Abdullah MA, Skliros D, Chatzikonstantinou M, Flemetakis E, Labrou N, Zervas G. The effect of dietary *Chlorella vulgaris* supplementation on micro-organism community, enzyme activities and fatty acid profile in the rumen liquid of goats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2017;101(2): 275-283. <https://doi.org/10.1111/jpn.12521>
30. Wallace RJ, Snelling TJ, McCartney CA, Tapio I, Strozzi F. Application of meta-omics techniques to understand greenhouse gas emissions originating from ruminal metabolism. *Genet Sel Evol*. 2017; 49(1):9. <https://doi.org/10.1186/s12711-017-0285-6>

### References

1. Atlanderova KN, Vlasenko LV, Duskaev GK. Assessment of the biovit and cinnamaldehyde effect on the degree of feed digestability and the cattle rumen microbiome. *Proceedings of the Kuban State Agrarian University*. 2024;3(112):201-207. (*In Russ.*). doi: 10.21515/1999-1703-112-201-207
2. Kamirova AM, Sizova EA, Ivanishcheva AP. The use of plant substances for correction of the elemental status and ruminal digestion of farm animals. *Perm Agrarian Journal*. 2025;1(49):124-131. (*In Russ.*). doi: 10.47737/2307-2873-2025-49-124
3. Acurio LP, Salazar DM, Valencia AF, Robalino DR, Barona AC, Alvarez FC, Rodriguez CA. Antimicrobial potential of *Chlorella* algae isolated from stacked waters of the Andean Region of Ecuador. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2018;151:012040. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/151/1/012040>
4. Agarwalla A, Komandur J, Mohanty K. Current trends in the pretreatment of microalgal biomass for efficient and enhanced bioenergy production. *Bioresour Technol*. 2023;369:128330. doi: 10.1016/j.biortech.2022.128330
5. Ahmadi A, Shahidi SA, Safari R, Motamedzadegan A, Ghorbani-HasanSarai A. Evaluation of stability and antibacterial properties of extracted chlorophyll from alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Food and Chemical Toxicology*. 2022;163:112980. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.112980>
6. Alagawany M, Taha AE, AN, Noreldin A, El-Tarabily KhA, El-Hack MEA. Nutritional applications of species of *Spirulina* and *Chlorella* in farmed fish: A review. *Aquaculture*. 2021;542:736841. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736841>
7. An B-K, Kim K-E, Jeon J-Y, Lee KW. Effect of dried *Chlorella vulgaris* and *Chlorella* growth factor on growth performance, meat qualities and humoral immune responses in broiler chickens. *SpringerPlus*. 2016;5:718. doi: 10.1186/s40064-016-2373-4
8. Andrade LM, Andrade CJ, Dias M, Nascimento CAO, Mendes MA. *Chlorella* and *spirulina* microalgae as sources of functional foods, nutraceuticals, and food supplements; an overview. *MOJ Food Process Technol*. 2018;6(1):45-58. doi: 10.15406/mojfpt.2018.06.00144
9. Bazarnova J, Smyatskaya Y, Shlykova A, Balabaev A, Đurović S. Obtaining fat-soluble pigments—Carotenoids from the biomass of *Chlorella* microalgae. *Applied Sciences*. 2022;12(7):3246. <https://doi.org/10.3390/app12073246>
10. Chia MA, Lombardi AT, Melao MDGG. Growth and biochemical composition of *Chlorella vulgaris* in different growth media. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2013;85(04):1427-1438. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201393312>
11. Dias ALG, Freitas JA, Micai B, Azevedo RA, Greco LF, Santos JEP. Effect of supplemental yeast culture and dietary starch content on rumen fermentation and digestion in dairy cows. *J Dairy Sci*. 2018;101(1):201-221. doi: 10.3168/jds.2017-13241
12. D'Souza GM, Dias Batista LF, Norris AB, Tedeschi LO. Effect of live yeast supplementation on energy partitioning and ruminal fermentation characteristics of steers fed a grower-type diet in heat-stress conditions. *J Anim Sci*. 2022;100(11):skac320. doi: 10.1093/jas/skac320

13. Gadzama IU, Ray S, Méité R, Mugweru IM, Gondo T, Rahman MA, Redoy MRA, Rohani MF, Kholif AE, Salahuddin M, Brito AF. *Chlorella vulgaris* as a livestock supplement and animal feed: a comprehensive review. *Animals*. 2025;15(6):879. <https://doi.org/10.3390/ani15060879>
14. Keum GB, Pandey S, Kim ES, Doo H, Kwak J, Ryu S, Choi Y, Kang J, Kim S, Kim HB. Understanding the diversity and roles of the ruminal microbiome. *J Microbiol*. 2024;62(3):217-230. doi: 10.1007/s12275-024-00121-4
15. Kholif AE, Gouda GA, Abu EAA, Patra AK. Replacing the concentrate feed mixture with *moringa oleifera* leaves silage and *Chlorella vulgaris* microalgae mixture in diets of damascus goats: lactation performance, nutrient utilization, and ruminal fermentation. *Animals*. 2022; 12(12):1589. <https://doi.org/10.3390/ani12121589>
16. Liang Z, Liu Y, Ge F, Xu Y, Tao N, Peng F, Wong M. Efficiency assessment and pH effect in removing nitrogen and phosphorus by algae-bacteria combined system of *Chlorella vulgaris* and *Bacillus licheniformis*. *Chemosphere*. 2013;92(10): 1383-1389. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.05.014>
17. Lobo RR, Almeida E, Monteiro A, et al. Replacing soybean meal with microalgae biomass in diets with contrasting carbohydrate profiles can reduce in vitro methane production and improve short-chain fatty acid production. *J Dairy Sci*. 2024;107(8):5542-5555. doi: 10.3168/jds.2023-24025
18. Martins CF, Trevisi P, Coelho DF, Correa F, Ribeiro DM, Alfaia CM, Pinho M, Pestana JM, Mourato MP, Almeida AM, Fontes CMGA, Freire JPB, Prates JA. Influence of *Chlorella vulgaris* on growth, digestibility and gut morphology and microbiota of weaned piglet. *Scientific Reports*. 2022;12(1):6012. doi: 10.1038/s41598-022-10059-5
19. Martins LF, Cueva SF, Lage CFA, Ramin M, Silvestre T, Tricarico J, Hristov AN. A meta-analysis of methane-mitigation potential of feed additives evaluated in vitro. *Journal of Dairy Science*. 2024;107(1):288-300. [https://doi.org/10.1016/S0022-0302\(23\)00819-6](https://doi.org/10.1016/S0022-0302(23)00819-6)
20. Mendes AR, Spínola MP, Lordelo M, Prates JAM. Impact of *Chlorella vulgaris* intake levels on performance parameters and blood health markers in broiler chickens. *Vet Sci*. 2024;11(7):290. doi: 10.3390/vetsci11070290
21. Metsoviti MN, Papapolymerou G, Karapanagiotidis IT, Katsoulas N. Effect of light intensity and quality on growth rate and composition of *Chlorella vulgaris*. *Plants*. 2019; 9(1):31. <https://doi.org/10.3390/plants9010031>
22. Omarkozhauy N, Shaikenova K, Ismailova A, Satieva K, Kamenov M. Effect of zeolite-chlorella top dressing on scar metabolism and conversion of dairy cows' feed. *Braz J Biol*. 2023;83:e274763. doi: 10.1590/1519-6984.274763
23. Palangi V, Kaya A, Macit M, Nadaroglu H, Ünlü HB, Kaya A, Fekri A, Mammadov A, Lackner M. Comparative anti-methanogenic ability of green algae (*C. reinhardtii*) with/without nanoparticles: *in vitro* gas and methane production. *Frontiers in Veterinary Science*. 2025;12:1492230. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1492230>
24. Pelikan C, Wasmund K, Glombitza C, Hausmann B, Herbold CW, Flieder M, Loy A. Anaerobic bacterial degradation of protein and lipid macromolecules in subarctic marine sediment. *ISME Journal*. 2021;15(3):833-847. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00817-6>
25. Qu L, Wang R, Zhao P, Chen R, Zhou W, Tang L, Tang X. Interaction between *Chlorella vulgaris* and bacteria: interference and resource competition. *Acta Oceanologica Sinica*. 2014;33(1):135-140. <https://doi.org/10.1007/s13131-014-0432-7>
26. Safi C, Zebib B, Merah O, Pontalier PY, Vaca-Garcia C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and sustainable energy reviews*. 2014;35:265-278. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>
27. Sirohi P, Verma H, Singh SK, Singh VK, Pandey J, Khusharia S, Kumar D, Kaushalendra TP, Kumar A. Microalgal carotenoids: therapeutic application and latest approaches to enhance the production. *Current Issues in Molecular Biology*. 2022;44(12):6257-6279. <https://doi.org/10.3390/cimb44120427>

28. Spínola MP, Costa MM, Prates JAM. Enhancing digestibility of *Chlorella vulgaris* biomass in monogastric diets: strategies and insights. *Animals (Basel)*. 2023;13(6):1017. doi: 10.3390/ani13061017
29. Tsiplakou E, Abdullah MA, Skliros D, Chatzikonstantinou M, Flemetakis E, Labrou N, Zervas G. The effect of dietary *Chlorella vulgaris* supplementation on micro-organism community, enzyme activities and fatty acid profile in the rumen liquid of goats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2017;101(2): 275-283. <https://doi.org/10.1111/jpn.12521>
30. Wallace RJ, Snelling TJ, McCartney CA, Tapio I, Strozzi F. Application of meta-omics techniques to understand greenhouse gas emissions originating from ruminal metabolism. *Genet Sel Evol*. 2017; 49(1):9. <https://doi.org/10.1186/s12711-017-0285-6>

**Информация об авторах:**

**Виталий Александрович Рязанов**, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник лаборатории прецизионных технологий в сельском хозяйстве, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8-922-807-71-00.

**Владимир Иванович Колпаков**, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник лаборатории прецизионных технологий в сельском хозяйстве, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8-987-341-77-02.

**Фоат Галимович Каюмов**, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник селекционно-генетического центра по мясным породам скота, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8(3532)30-81-76, сот.: 8-987-341-75-80.

**Information about the authors:**

**Vitaly A Ryazanov**, Cand. Sci. (Agriculture), Senior Researcher of the Laboratory of Precision Technologies in Agriculture, Federal Research Centre for Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000, Russian Federation, tel.: 8-922-807-71-00.

**Vladimir I Kolpakov**, Cand. Sci. (Agriculture), Senior Researcher of the Laboratory of Precision Technologies in Agriculture, Federal Research Centre for Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000, Russian Federation, tel.: 8-987-341-77-02.

**Foat G Kayumov**, Dr. Sci. (Agriculture), Professor, Chief Researcher of the Breeding and Genetic Center for Beef Cattle, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 29, 9 Yanvarya St., Orenburg, 460000, Russian Federation, tel.: 8(3532)30-81-76, tel.: 8-987-341-75-80.

Статья поступила в редакцию 13.10.2025; одобрена после рецензирования 08.11.2025; принята к публикации 15.12.2025.

The article was submitted 13.10.2025; approved after reviewing 08.11.2025; accepted for publication 15.12.2025.