

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА ПРОДУКЦИЮ БИОВОДОРОДА И ЦИФРОВОЙ АНАЛИЗ ФЕНОТИПА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ СЕМЕЙСТВА *CHLORELLACEAE*

А. О. Муравицкая¹, В. И. Светлаков¹, В. Ю. Бондаренко¹, М. С. Вечерек¹,
Т. В. Самович², Н. В. Козел², А. И. Соколик¹, Л. С. Габриелян³, Д. Г. Маноян³,
В. В. Демидчик¹

¹Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

²Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь

³Ереванский государственный университет, г. Армения, Ереван

Селекция высокопродуктивных штаммов микроводорослей семейства *Chlorellaceae*, способных осуществлять синтез H_2 для промышленных целей, является одной из актуальных задач биотехнологии. Потенциальным решением проблемы отбора продуцентов является применение подходов цифрового фенотипирования. Предполагается, что различия фенотипических характеристик могут коррелировать со способностью микроводорослей к биосинтезу H_2 . Целью данной работы являлись оценка продукции H_2 и цифровой анализ фенотипа водорослей семейства *Chlorellaceae* в связи с H_2 -генерирующей активностью штаммов белорусской и армянских коллекций. В качестве объектов исследования выступали штаммы микроводорослей *Chlorella kessleri* IBCE C-3, *Chlorella vulgaris* IBCE C-19 (Коллекция водорослей, Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск) и *Parachlorella kessleri* PA-002 (Центр депонирования микроорганизмов НАН РА, Ереван). Культивирование осуществлялось на средах ТАР и Тамия (полноценных либо дефицитных по азоту и/или сере). Для индукции синтеза H_2 культуры на поздней логарифмической фазе роста помещались в анаэробные условия. Количество выделяемого H_2 в культурах определялось с помощью оценки окислительно-восстановительного потенциала и газовой хроматографии. Для фенотипического анализа клеток микроводорослей была разработана компьютерная программа, позволяющая производить сегментацию цифровых изображений клеток, а также сверточная нейронная сеть для их классификации. Работа была проведена с использованием Python 3.9 и библиотек OpenCV, NumPy, Skimage, SciPy, Pandas и Tensorflow. Была создана нейронная сеть со сверточной архитектурой, содержащая 10 сверточных и 5 полносвязных слоев, тренировка происходила на наборе данных размером в 10 000 фотографий, при этом 80% изображений использовалось для тренировки, 20% для валидации. Функция активации – ReLU, количество эпох – 100, размер батча – 32. Для тренировки применялась методика градиентного спуска, с оптимизатором Adam, в качестве метрик использовалась точность (*accuracy*). В качестве функции потерь выбиралась бинарная кроссэнтропия либо средний квадрат ошибок. Согласно полученным данным, наибольшей продуктивностью с точки зрения синтеза биоводорода характеризуется штамм *Parachlorella kessleri* PA-002. При этом лучшие показатели продемонстрировали культуры, находившиеся в условиях дефицита серы. Для них максимальная концентрация выделяемого водорода составила $42,1 \pm 6,4$ ммоль H_2 / (г сухой массы · сут)⁻¹. Метрика точности при идентификации исследуемых штаммов микроводорослей составила 96,38%. Нейросетевой анализ позволил обнаружить различия между клетками культур микроводорослей *Parachlorella kessleri* PA-002, выращенных в разных условиях, с точностью 94,72%. Для штаммов *Chlorella vulgaris* IBCE C-19 и *Chlorella kessleri* IBCE C-3 данные показатели составили 89,22% и 90,46% соответственно.

Работа выполнена в рамках проекта Б21АРМ-018, № госрегистрации 20213856 БРФФИ (Беларусь-Армения).