

DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-3-841

УДК 639.64+639.55



Научная статья

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ АУКСИНОВ НА РОСТ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ CHAETOCEROS MUELLERI

Н.Н. Ковалев, С.Е. Лескова, Е.В. Михеев, Е.А. Барсова

Обоснование. Изучение процесса культивирования микроводорослей связано не только с получением широкого спектра биологически активных веществ. С развитием марикультуры некоторые виды микроводорослей (в том числе *Chaetoceros muelleri*), представляют интерес в качестве кормов для таких объектов культивирования как моллюски, членистоногие и головоногие. Целью данного исследования являлась оценка влияния гормонов ауксинового ряда на количественные и качественные показатели микроводоросли *Chaetoceros muelleri*.

Материалы и методы. Объектом исследований являлась культура микроводорослей *Chaetoceros muelleri*. Продолжительность эксперимента составляла 7 дней. Для стимуляции роста использовали индолил-3-масляную кислоту и индол-3-уксусную кислоты. Культивирование микроводоросли осуществлялось в монокультуре, при постоянных условиях. К экспериментальной группе добавляли указанные фитогормоны в концентрации 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; $1,0 \times 10^{-5}$ моль. Контрольная группа культивировалась без добавления фитогормонов.

Результаты исследований. Показано, что 3 индол уксусная кислота в концентрациях от 0,2 до $0,5 \times 10^{-5}$ моль оказывала положительное влияние на рост культуры водорослей. При использовании обоих гормонов в оптимальной концентрации установлен выраженный положительный эффект накопления липидов в культуре водоросли. Установлено, что индолил-3-масляная кислота в оптимальной концентрации повышала содержание углеводов в культуре.

Заключение. Полученные данные показали, что исследованные фитогормоны оказывали положительное влияние на динамику роста микроводоросли *Chaetoceros muelleri* в накопительной культуре. Проведенное исследование показало возможность использования исследованных фитогормонов ауксинового ряда для стимуляции роста микроводоросли *Chaetoceros muelleri* в накопительной монокультуре.

Ключевые слова: *Chaetoceros muelleri*; ауксины; микроводоросли; индол-3-уксусная кислота; индолил-3-масляная кислота

Для цитирования. Ковалев Н.Н., Лескова С.Е., Михеев Е.В., Барсова Е.А. Оценка влияния ауксинов на рост и биохимические показатели *Chaetoceros muelleri* // *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2024. Т. 16, №3. С. 205-226. DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-3-841

Original article

EVALUATION OF THE EFFECT OF AUXINS ON GROWTH AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF CHAETOCEROS MUELLERI

N.N. Kovalev, S.E. Leskova, E.V. Mikheev, E.A. Barsova

Background. The study of microalgae cultivation process is not only related to obtaining a wide range of biologically active substances. With the development of mariculture, some species of microalgae (including *Chaetoceros muelleri*) are of interest as food for mollusks, arthropods and holothuria. The aim of this study was to evaluate the effect of auxin hormones on quantitative and qualitative parameters *Chaetoceros muelleri* accumulative cultivation.

Materials and methods. The object of research was the culture of microalgae *Chaetoceros muelleri*. The duration of the experiment was 7 days. Indole-3-butyric and indole-3-acetic acids were used for growth stimulation. The microalgae were cultured in monoculture, under constant conditions. 0.1; 0.2; 0.4; 0.6; 1.0 $\times 10^{-5}$ mol phytohormones concentrations were added to the cultivation medium of the experimental groups. The control group was cultured without phytohormones addition.

Results. It was shown that indole-3-acetic acid in concentrations from 0.2 to 0.5 $\times 10^{-5}$ mol had a positive effect on the growth of algal culture. Auxins at optimum concentration had a positive effect on lipid accumulation in the algal culture. It was found that indole-3-butyric acid increased the carbohydrate content in the culture on the 3rd day of culturing *Chaetoceros muelleri*. At the same time, under the action of indole-3-butyric acid, the highest content of carbohydrates.

Conclusion. The obtained data showed that the studied auxins had a positive effect on *Chaetoceros muelleri* dynamics growth. The possibility of using auxin series phytohormones to stimulate the growth of the microalga *Chaetoceros muelleri* in an accumulative monoculture has been established by this study.

Keywords: *Chaetoceros muelleri*; auxins; microalgae; indole-3-acetic acid; indole-3-butyric acid

For citation. Kovalev N.N., Leskova S.E., Mikheev E.V., Barsova E.A. Evaluation of the Effect of Auxins on Growth and Biochemical Parameters of *Chaetoceros muelleri*. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 2024, vol. 16, no. 3, pp. 205-226. DOI: 10.12731/2658-6649-2024-16-3-841

Введение

Научный интерес к культивированию микроводорослей связан с их использованием в качестве потенциального источника биологически активных компонентов для косметической, фармацевтической и пищевой промышленности [18, 27, 30, 34].

Род *Chaetoceros* является одним из крупнейших космополитических родов морского фитопланктона [5]. На долю этого рода приходится около 20-25% первичной продукции в прибрежных апвеллинговых районах и прибрежных зонах [29].

В последнее десятилетие этот род широко используется в аквакультуре, например, для кормления личинок беспозвоночных и рыб. Микроводоросли должны быть подходящего для проглатывания размера, от 1 до 15 мкм для фильтраторов [16, 33], легко проглатываться и легко перевариваться. Также микроводоросли должны обладать быстрыми темпами роста, быть устойчивыми в культуре к любым колебаниям температуры, света и питательных веществ. Наконец, они должны обладать хорошим питательным составом.

Современные направления проводимых исследований в первую очередь связаны с поиском способов повышения эффективности роста микроводорослей для синтеза БАВ [9, 12, 31, 35]. Динамика изменений скорости роста и биохимического состава микроводорослей, видоспецифична, зависит от состава питательной среды и условий роста [4, 20, 25].

Регуляторы роста, такие как фитогормоны, играют жизненно важную роль в оценке эффективности и регулирования метаболизма у культурных растений и водорослей [7, 28, 34, 36].

Фитогормоны ауксинового ряда, в том числе индол-3-уксусная кислота (ИУК) и индолил-3-масляная кислота (ИМК) были выявлены в культурах 24 видов зеленых микроводорослей из классов *Chlorophyceae*, *Trebouxiophyceae*, *Ulvothamniophyceae* и *Charophyceae* [2]. Предполагается, что биосинтез ауксина осуществляется через триптамиин и индолил-3-ацетонитрил, поскольку ферменты, задействованные в таком преобразовании,

обнаружены у ряда водорослей, принадлежащих к различным таксономическим группам [1].

Ранее проведенные исследования показали, что ауксины повышают темп роста и урожайность микроводорослей *Chlorella vulgaris*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlamydomonas reinhardtii* и *Scenedesmus obliquus* [8, 17, 26, 32]. Контролируемое добавление ауксинов в культуру микроводорослей приводит к увеличению продуктивности липидов до 3 раз у *S. abundans* [10].

Эти данные позволяют предположить, что использование ауксинов может быть важной стратегией оптимизации питательной среды для культивирования микроводорослей.

Однако эти исследования не всегда показывают оптимальные концентрации фитогормонов с точки зрения производства биомассы, динамики изменения ее состава и выхода липидов. Кроме того, в них не рассматривается механизм действия фитогормонов и не проводится анализ затрат и выгод от добавления фитогормонов [23].

Однако следует отметить, что повышение эффективности культивирования микроводорослей является потенциальным методом коммерческого производства *Chaetoceros muelleri* (*Ch. muelleri*).

Целью исследования являлось определение влияния различных концентраций индолил-3-масляной и индол-3-уксусной кислот на продукционные и биохимические характеристики *Chaetoceros muelleri* в накопительной культуре.

Материалы и методы

В работе использовали культуру микроводорослей *Chaetoceros muelleri* из коллекции НПДМ ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз». Водоросль выращивали в накопительном режиме на питательной среде f/2, которую готовят на основе фильтрованной и стерилизованной морской воды с добавлением растворов основных минеральных солей (NaNO_3 ; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), микроэлементов ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; ЭДТА- Na_2 ; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) и витаминов (B_1 ; B_7 ; B_{12}) [11]. Культура водорослей содержалась при постоянных условиях: температуре 21–23 °С, освещенности 8–10 кЛк, фотопериоде 8:16 ч (свет : темнота) и периодическом перемешивании (4–5 раза в сутки).

В качестве стимуляторов роста использовали индол-3-уксусную (ИУК) и индолил-3-масляную (ИМК) и кислоты (Hebei Guanlang Biotechnology Co., Ltd, China).

В качестве культиваторов использовались колбы Эрленмейера объемом 1 литр. В эксперименте использовали стерильные колбы, в которые в начале эксперимента наливали 400 мл чистой фильтрованной и стерилизованной морской воды, 100 мл культуры водорослей и стимулятор в исследуемых концентрациях. Одна колба была контрольной, т.е. культура росла без добавления стимулятора роста.

Культивирование осуществляли в монокультуре. Прирост биомассы водорослей определяли по увеличению числа клеток, просчитанных в каждом опыте в трех камерах Горяева под световым микроскопом. Продолжительность эксперимента составляла 7 дней.

Расчет скорости роста популяции (R), количества делений в сутки (K) и времени удвоения популяции (T_2) производили как указано в [24].

Общее содержание углеводов оценивали методом кислотного гидролиза проб взвези водорослей, за счет чего образовавшиеся моносахаридные единицы переходят в фурфурольные производные, которые при добавлении в раствор L-триптофана образуют окрашенные комплексы, поглощающие свет при длине волны 540 нм [20].

Пробоподготовку для определения белка проводили согласно [14]. Определение содержания белка проводили методом Лоури [22].

Общее содержание липидов проводили методом, в основе которого лежит цветная реакция ванилина в кислой среде с липидами, с образованием интенсивного окрашивания. Хромогенными группами выступают гидроксильные и карбонильные [15].

Сумму хлорофиллов выделяли методом экстракции ацетоном из предварительно замороженной биомассы водорослей [6]. Количественное содержание хлорофиллов определяли спектрофотометрически при длинах волн 630, 647, 664 и 750 нм. В качестве контроля использовали 90% ацетон [3].

Обработка результатов проводилась с использованием программного обеспечения Excel и STATISTICA® 7.0, определяя стандартное отклонение и доверительный интервал в трех повторениях экспериментов. Среднюю квадратичную ошибку определяли с учетом доверительного интервала $D = \pm 5\%$ и надежности $p \leq 0.05$.

Результаты и обсуждение

Проведена оценка влияния различных концентраций ИУК и ИМК на рост культуры *Chaetoceros muelleri* в течение 7-дневного культивирования (рис. 1).

Проведенное исследование показало, что ИУК в высокой ($1,0 \times 10^{-5}$ моль/л) концентрации не оказывала стимулирующего влияния на рост культуры *Ch. muelleri* в накопительной культуре. В тоже время ИУК в концентрациях $0,2 - 0,6 \times 10^{-5}$ моль/л оказывала стимулирующий эффект на развитие культуры. Наибольшая стимулирующая способность определена при внесении в культуральную среду ИУК в концентрации $0,2 \times 10^{-5}$ моль/л. При этом, плотность культуры за 7 суток культивирования возрас- тала на 270%. За этот же период культивирования плотность культуры в контрольной группе увеличилась на 211%.

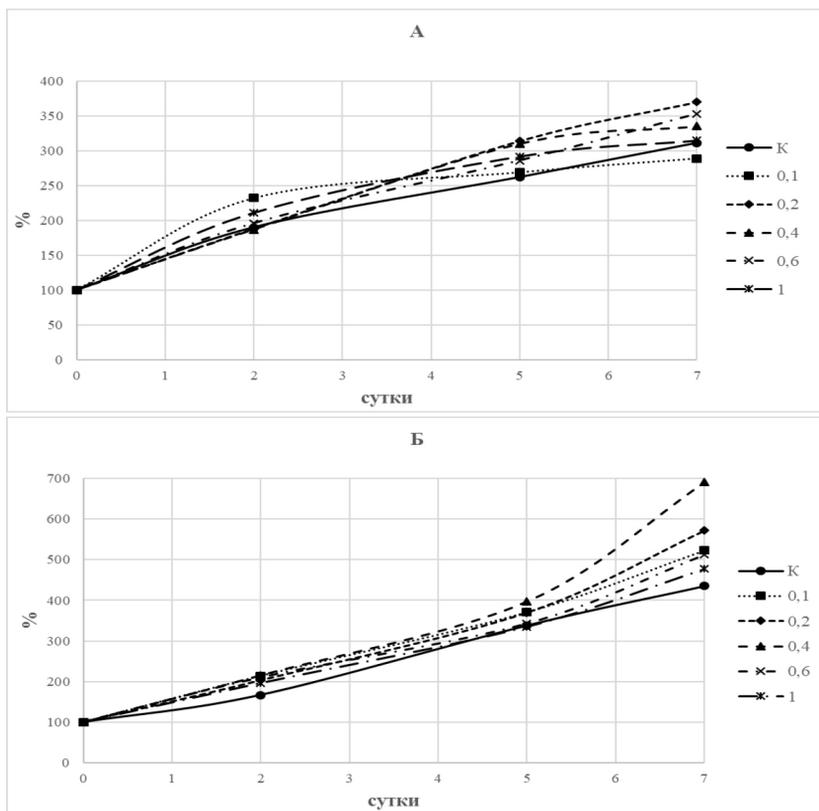


Рис. 1. Динамика накопления плотности культуры *Ch. muelleri* под действием различных концентраций ИУК (А) и ИМК (Б)

Примечание: на рисунке представлены средние значения плотности культуры трех экспериментов ($p \leq 0.05$)

Проведенными исследованиями установлено, что все исследованные концентрации ИМК стимулировали рост культуры. Наибольший стимулирующий эффект отмечен при концентрации ИМК равной $0,4 \times 10^{-5}$ моль/л. Стимулирующий эффект составил 591% по сравнению со стартовой культурой. Для остальных исследованных концентраций фитогормона отмечено увеличение количества клеток в культуре на 377-472%. Следует отметить, что в контрольной культуре (без добавления фитогормона) прирост культуры за 7 суток культивирования составил 335%.

Таким образом установлено, что внесение в культуру ИУК в концентрации $0,2 \times 10^{-5}$ моль/л увеличивает плотность культуры на 60% по сравнению с контролем, а внесение в культуру ИМК в концентрации $0,4 \times 10^{-5}$ моль/л увеличивает плотность культуры на 58,9% по сравнению с контролем.

Сравнение констант, характеризующих рост культуры микроводоросли позволил определить особенности влияния двух фитогормонов (табл. 1).

Таблица 1.

Скорость роста популяции (R), количество делений в сутки (K) и времени удвоения популяции (T_2) *Ch. muelleri* под действием ауксинов за семь дней культивирования

Параметр	Контроль	3 ИМК	3 ИУК
Период, сутки	0-7		
R, клеток/сутки ¹	0,10	0,14	0,13
K, количество делений в сутки ¹	0,15	0,21	0,18
T_2 , сутки	6,66	4,58	5,33

Полученные данные свидетельствуют, что скорость роста популяции *Ch. muelleri* под воздействием фитогормонов возростала в 1,3 – 1,4 раза по сравнению с контролем. Определено, что количество делений в сутки при использовании ИМК в 1,4 раза больше, чем при использовании ИУК. Можно сделать вывод, что чем выше скорость роста (R) тем больше количество делений клеток в сутки (K). Время удвоения популяции относится к способности водоросли производить еще одну клетку в течение одного дня (Andersen 2005). Если значения T_2 меньше, то можно сделать вывод, что водоросли имеют более высокую скорость роста и более высокую плотность культуры в процессе культивирования. Вследствие высокой скорости роста время удвоения численности популяции от исходных клеток для *Ch. muelleri* под действием ИМК составляло 4,58 суток, в то время как под действием ИУК 5,33 суток. По сравнению с контрольной группой время

удвоения популяции под действием ИМК и ИУК уменьшалось в 1,5 и 1,3 раза, соответственно.

На основании приведённых выше данных проведено определение основных биохимических показателей культуры *Ch. muelleri* при культивировании с использованием эффективных концентраций ИУК ($0,2 \times 10^{-5}$ моль/л) и ИМК ($0,4 \times 10^{-5}$ моль/л).

Проведенное исследование показало, что накопление белка в первые 3-е суток культивирования было равным в контрольной и опытной культуре при внесении ИУК (рис.2 А). К 7-м суткам культивирования отмечен резкий рост количества белка в контрольной культуре – на 370%, по сравнению с исходными значениями. В опытной культуре прирост количества белка составил за тот же период 480%. К окончанию эксперимента различия в продукции белка в опытной и контрольной группах составляло 4,9 мкг/мл или 29,3%.

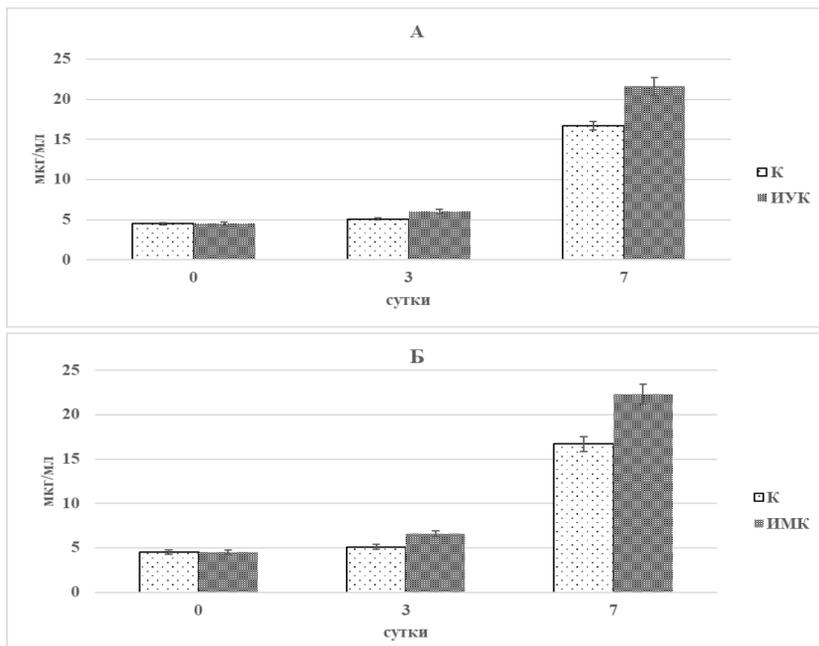


Рис. 2. Динамика накопления белка (мкг/мл) в культуре *Ch. muelleri* под действием ИУК (А) и ИМК (Б)

Примечание: планки погрешностей значений соответствуют стандартному отклонению от среднего значения ($p \leq 0.05$)

Следует отметить, что введение 3 ИМК в культуру *Ch. muelleri* в первые 3-е суток культивирования не оказывала влияния на концентрацию белка (рис. 2 Б). Однако на 7-сутки культивирования концентрация белка в опытной на 33,5% больше, чем в контрольной культуре.

Таким образом, два исследованных фитогормона в эффективных концентрациях по белок-стимулирующей способности на 3-е сутки эксперимента не различались.

Липиды в микроводорослях кроме основной структурной функции выполняют роль запасных питательных энергетических веществ.

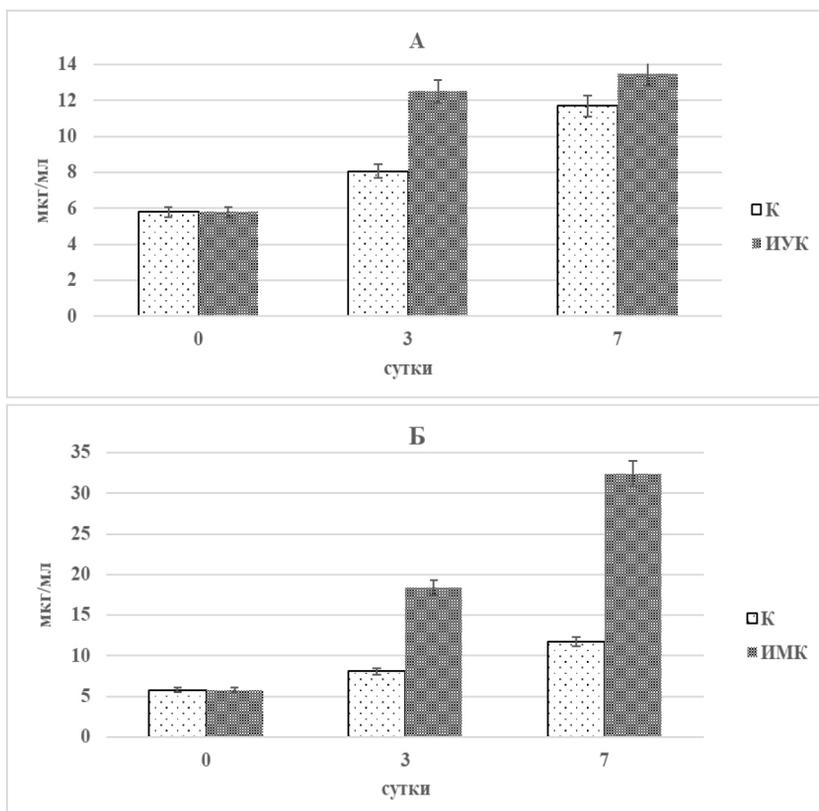


Рис. 3. Динамика накопления липидов (мкг/мл) в культуре *Ch. muelleri* под действием ИУК (А) и ИМК (Б)

Примечание: планки погрешностей значений соответствуют стандартному отклонению от среднего значения ($p \leq 0.05$)

Полученные результаты свидетельствуют о липид-стимулирующей активности ИУК (рис.3 А). Так, за 3-е суток культивирования концентрация липидов в среде опытной культуры увеличилась в 2,16 раза, в контрольной культуре – в 1,4 раза. Однако дальнейшее культивирование увеличивало концентрацию липидов в контрольной группе еще на 45%, в опытной группе прирост составил только 8%. За все время эксперимента концентрация липидов возрастала в опытной группе на 132,8%, в контрольной на 101,7%. Таким образом липид-стимулирующий эффект применения 3 ИУК за 7 суток культивирования составил 132,8 %.

Из представленных на рисунке данных видно, что ИМК в концентрации $0,4 \times 10^{-5}$ моль/л проявляет выраженный положительный эффект на накопление липидов в культуре (рис 3 Б). Так, на 3-е сутки культивирования количество липидов в опытной культуре возрастало на 317,2%, а на 7-е сутки на 558,6%, по сравнению с исходными значениями. Прирост концентрации липидов на 3-й и 7-й день культивирования, по сравнению с контрольной группой, составил 228% и 276,9%, соответственно.

Следует отметить, что внесение ИМК в культуральную среду *Ch. muelleri* за семь дней культивирования повышало концентрацию липидов до 32,4 мкг/мл, в то время как применение ИУК способствовало повышению концентрации липидов до 13,5 мкг/мл. Таким образом проведенным исследованием установлена специфичность липид стимулирующей способности ИМК.

Одним из показателей эффективности метаболических процессов фотосинтезирующих организмов является накопление углеводов. Проведено исследование влияния эффективных концентраций ИУК и ИМК на накопление углеводов в культуре *Ch. muelleri* за семь дней культивирования (рис. 4).

Как видно из представленных данных в первые 3-е суток культивирования *Ch. muelleri* с использованием ИУК отмечен значительный рост концентрации углеводов: в опытной группе на 207,4%, в контрольной группе на 112,1% (рис 4 А). Однако дальнейшее культивирование приводило к резкому снижению количества углеводов в опытной группе (на 54,1%) и увеличению в контрольной группе на 32,5% по сравнению с показателями на 3-е сутки культивирования.

При этом количество углеводов в опытной группе на 7-е сутки культивирования на 54% меньше, чем в опытной культуре на 3-й день культивирования.

Исследование динамики накопления углеводов в культуре *Ch. muelleri* под действием ИМК (рис. 4 Б) показало, что максимальное их содержание определяется на 3-сутки культивирования в опытной культуре и состав-

ляет 19,2 мкг/мл. При этом в контрольной группе содержание углеводов было на 36% меньше, чем в опытной группе. Однако на 7-е сутки культивирования отмечено снижение накопления углеводов в опытной группе на 34,9%, а в контрольной возросло на 32,5%. При этом различия в концентрации углеводов к окончанию эксперимента составляло 23,3%.

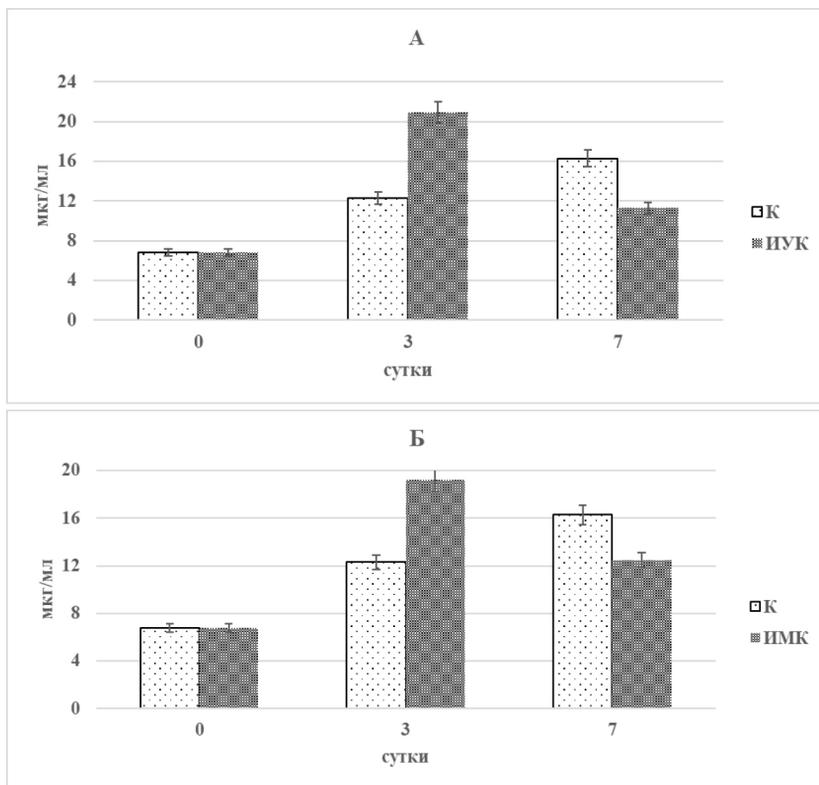


Рис. 4. Динамика накопления углеводов (мкг/мл) в культуре *Ch. muelleri* под действием ИУК (А) и ИМК (Б)

Примечание: планки погрешностей значений соответствуют стандартному отклонению от среднего значения ($p \leq 0.05$)

Таким образом углевод стимулирующий эффект ИМК проявляет в концентрации $0,4 \times 10^{-5}$ моль/л на 3-е сутки культивирования.

Содержание хлорофилла микроводорослей является основным параметром, характеризующим фотосинтетическую активность и продуктивность

культур. Проведено определение влияния эффективных концентраций фитогормонов ИУК и ИМК на концентрацию хлорофилла в культуре *Ch. muelleri*.

Результаты проведенного исследования показывают отсутствие влияния ИУК на накопление хлорофилла в культуре (рис. 5 А). В опытной и контрольной группах прирост накопления хлорофилла за 7 суток культивирования составил 2177,8 % и 2300%, соответственно.

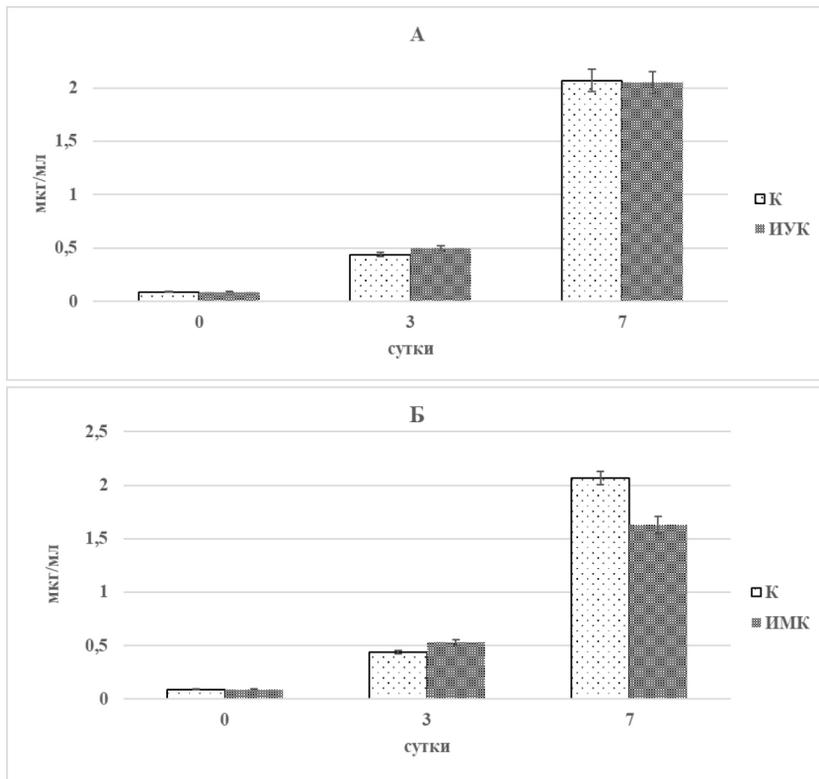


Рис. 5. Динамика накопления хлорофилла (мкг/мл) в культуре *Ch. muelleri* под действием ИУК (А) и ИМК (Б)

Примечание: планки погрешностей значений соответствуют стандартному отклонению от среднего значения ($p \leq 0.05$)

Проведенное исследование показало также отсутствие стимулирующего влияния ИМК на накопление хлорофилла в культуре *Ch. muelleri* в процессе культивирования (рис. 5 Б). К 7-м суткам культивирования кон-

центрация хлорофилла в контрольной группе составляла 2,07 мкг/мл, что на 21,3% больше, чем в опытной культуре.

Таким образом проведенным исследованием показано отсутствие влияния на концентрацию хлорофилла в культуре *Ch. muelleri* под действием ауксинов.

Заключение

Культивирование микроводорослей имеет важный практический аспект в качестве ценного живого корма в индустрии аквакультуры.

Актуальной задачей культивирования является поиск способов повышения эффективности роста биомассы микроводорослей в качестве источника ценных биологически активных соединений. Регуляторы роста, такие как фитогормоны, играют жизненно важную роль в манипулировании метаболическими путями в культивируемых растениях и водорослях.

Фитогормоны - это химические соединения, которые действуют как сигнальные молекулы регулирующие физиологические процессы, включая деление клеток и скорость синтеза белков, углеводов, липидов и вторичных метаболитов. Оценка содержания углеводов в биомассе микроводорослей является важной из-за их способности преобразовываться в биополимеры соединения углерода, включая углекислый газ.

Известно, что некоторые ауксины стимулируют фотосинтез, и как следствие производство моносахаридов, которые играют ключевую роль в качестве источника энергии [32].

Полученные нами данные свидетельствуют, что исследованные ауксины проявляли углевод-стимулирующий эффект только на 3-е сутки культивирования микроводорослей. Соответствующие значения для *Chaetoceros muelleri* составляли 69,9% и 56,1%, соответственно.

Белок является одним из важных биохимических соединений в микроводорослях, на концентрацию которого влияют условия окружающей среды и питательные вещества. Белок-стимулирующий эффект ауксинов отмечен при культивировании *Chaetoceros muelleri*. Так, применение ИМК стимулировало накопление белка на 33,5%. В то время как под действием ИУК концентрация белка на 7-е сутки культивирования увеличивалась на 29,3%, по сравнению с контролем.

Колебания содержания белка зависят от его биосинтеза и деградации. Ауксины регулируют скорость синтеза белков и ферментов в клетке путем увеличения скорости трансляции и транскрипции соответствующих генов. По-видимому, различия в концентрациях белка экспериментальных

культур объясняется различной способностью ИМК и ИУК к активации транскрипции генов.

Chaetoceros muelleri относят к олеиногенным, т.е. способным накапливать значительные количества липидов в процессе культивирования. Некоторые результаты показали, что влияние синтетических ауксинов на накопление липидов сильно зависит от дозы [13,19].

В текущем исследовании установлено, что содержание липидов увеличивалось при концентрации ИМК $0,4 \times 10^{-5}$ в культуре *Chaetoceros muelleri* на 176,9%, по сравнению с контрольной культурой. Важно отметить, что ИУК в концентрации $0,2 \times 10^{-5}$ М оказывала не значительный положительный эффект на накопление липидов в культуре *Chaetoceros muelleri*.

Это увеличение может быть связано с различной способностью фитогормонов влиять на активность некоторых ключевых ферментов участвующих в биосинтезе липидов, например, ацетил коэнзима, который катализирует необратимое карбоксилирование ацетил-КоА до получения малонил-КоА - основного субстрата для производства жирных кислот в клетках микроводорослей.

В данном исследовании добавление в культуральную среду ИМК и ИУК $0,2-0,6 \times 10^{-5}$ М оказало стимулирующее действие на накопление биомассы микроводорослей. Исследованные фитогормоны стимулировали накопление белка и п липидов в накопительной культуре *Chaetoceros muelleri*.

Полученные результаты показывают, что исследованные ауксины могут быть использованы как эффективные стимуляторы роста *Chaetoceros muelleri* в накопительной культуре.

В заключение следует отметить, что повышение эффективности культивирования микроводорослей является потенциальным методом для коммерческого производства биомассы в качестве живого корма для объектов марикультуры.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Киселева А.А., Тараховская Е.Р., Шишова М.Ф. Биосинтез фитогормонов у водорослей // Физиология растений. 2012. № 59. С. 643-659.
2. Романенко Е. А., Косаковская И. В., Романенко П. А. Фитогормоны микроводорослей: биологическая роль и участие в регуляции

- физиологических процессов. Ч. I. Ауксины, абсцизовая кислота, этилен // Альгология. 2015. Т. 25. № 3. С. 330–351.
3. Aminot A., Ray F. Standard procedure for the determination of chlorophyll a by spectroscopic methods. ICES techniques in marine environmental sciences // International Council for the Exploration of the Sea. 2001. 16 p.
 4. Bajguz A., Piotrowska-Niczyporuk A. Synergistic effect of auxins and brassinosteroids on the growth and regulation of metabolite content in the green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae) // Plant Physiology and Biochemistry. 2013. Vol. 71. P. 290-297.
 5. Berard-Therriault L., Poulin M., Bosse L. Guide d'identification du phytoplancton marin de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent: incluant egalement certains protozoaires // Canadian Science Publishing (NRC Research Press) . 1999. 387 p.
 6. Carneiro M., Pojo V., Malcata F.X., Otero A. Lipid accumulation in selected *Tetraselmis* strains // Journal of Applied Phycology. 2019. Vol. 31. № 5. P. 2845-2853.
 7. Chen B., Wan C., Mehmood M.A., Chang J.S., Bai F., Zhao X. Manipulating environmental stresses and stress tolerance of microalgae for enhanced production of lipids and value-added products; a review // Bioresource Technology. 2017. Vol. 244. P. 1198-1206.
 8. Czerpak R., Bajguz A. Stimulatory effect of auxins and cytokinins on carotenes, with differential effects on xanthophylls in the green alga *Chlorella pyrenoidosa* Chick // Acta Societatis Botanicorum Poloniae. 1997. Vol. 66. P. 41-46.
 9. Fazal T., Mushtaq A., Rehman F., Khan A.U., Rashid N., Farooq W., Xu J. Bioremediation of textile wastewater and successive biodiesel production using microalgae // Renewable & Sustainable Energy Reviews. 2018. Vol. 82. P. 3107-3126.
 10. Gonzalez-Garcinu A., Sanchez-Alvarez J.A., Martin del Valle E.M. Understanding and optimizing the addition of phytohormones in the culture of microalgae for lipid production // Biotechnology Progress. 2016, Vol. 32. № 5. P. 1203-1221.
 11. Guillard, R.R.L. Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates. In: Smith, M.L. and Chanley, M.H., Eds., Culture of Marine Invertebrates Animals, Plenum Press, New York, 1975. P. 29-60.
 12. Hadizadeh Z., Mehrgan M.S., Shekarabi S.P.H. The potential use of stickwater from a kilka fishmeal plant in *Dunaliella salina* cultivation // Environmental Science and Pollution Research. 2020. Vol. 27. P. 2144-2154.
 13. Han S.F., Jin W., Abomohra A.E.F., Zhou X., Tu R., Chen C., Wang Q. Enhancement of lipid production of *Scenedesmus obliquus* cultivated in municipal

- wastewater by plant growth regulator treatment // Waste Biomass Valorization. 2019. Vol. 10. P. 2479-2485.
14. Herbert D., Phipps P. J., Strange R. E. Chemical analysis of microbial cells // Methods in Microbiology. 1971. № 5. P. 209-344.
 15. Johnson K.R., Ellis G., Toothill C. The sulfophosphanilin reaction for serum lipids: a reappraisal // Clinical Chemistry. 1977. Vol. 23. P. 1669-1673.
 16. Kawamura T., Roberts R.D., Nicholson C.M. Factors affecting the food value of diatom strains for post-larval abalone *Haliotis iris* // Aquaculture. 1998. Vol. 160. P. 81-88.
 17. Kobraei M.E., White D.S. Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on Kentucky Algae: simultaneous laboratory and field toxicity testings // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1996. Vol. 31. P.571-580.
 18. Koyande A.K., Chew K.W., Rambabu K., Tao Y., Chu D.T., Show P.L. Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans // Food Science and Human Wellness. 2019. Vol. 8. P. 16-24.
 19. Kozlova T.A., Hardy B.P., Krishna P. & Levin D.B. Effect of phytohormones on growth and accumulation of pigments and fatty acids in the microalgae *Scenedesmus quadricauda* // Algal Research. 2017. Vol. 27. P. 325-334.
 20. Laurens L.M.L., Dempster T.A., Jones H.D. T., Wolfrum E.J., Wychen S.V., McAllister J.S.P., Rencenberger M., Parchert K.J., Gloe L.M. Algal Biomass Constituent Analysis: Method Uncertainties and Investigation of the Underlying Measuring Chemistries // Journal of Analytical Chemistry. 2012. Vol. 84. № 4. P. 1879-1887.
 21. Lin B., Ahmed F., Du H., Li Z., Yan Y., Huang Y., Meng C. Plant growth regulators promote lipid and carotenoid accumulation in *Chlorella vulgaris* // Journal Applied Phycology. 2018. Vol. 30. P. 1549-1561.
 22. Lowry O., Rosenbrought N., Parr A., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent // Journal of Biological Chemistry. 1951. Vol. 193. № 1. P. 265-276.
 23. Lu Y., Xu J. Phytohormones in microalgae: a new opportunity for microalgal biotechnology? // Trends in Plant Science. 2015. Vol. 20. P. 272-283.
 24. Measuring Growth Rates in Microalgal Cultures / Wood A. M., Everroad R. C., Wingard L. M. // Algal Culturing Technique [Andersen R.A.]. New York: Elsevier Academic Press. 2005. P. 269-285.
 25. Paliwal C., Mitra M., Bhayani K., Bharadwaj S.V., Ghosh T., Dubey S., Mishra S. Abiotic stresses as tools for metabolites in microalgae // Bioresource Technology. 2017. Vol. 244. P. 1216-1226.
 26. Park W-K., Yoo G., Moon M., Kim C.W., Choi Y-E., Yang J-W. Phytohormone supplementation significantly increases growth of *Chlamydomonas reinhardtii*

- cultivated for biodiesel production // Appl. Biochem. Biotechnol. 2013. Vol. 171. P. 1128-1142.
27. Rastar M., Hosseini S.P., Shamsaie M.S., Sabzi S. Effects of iron and zinc concentrations on growth performance and biochemical composition of *Haemato-coccus pluvialis*: a comparison between nanoparticles and their corresponding metals bulks // Journal of Algal Biomass Utilization. 2018. Vol. 9. P. 59–67.
 28. Renuka N., Guldhe A., Prasanna R., Singh P., Bux F. Microalgae as multi-functional options in modern agriculture: current trends, prospects and challenges // Biotechnology Advances. 2018. Vol. 36. P. 1255-1273.
 29. Rines J.E.B., Theriot E.C. Systematics of Chaetocerotaceae (Bacillariophyceae): I. A phylogenetic analysis of the family // Physiol. Res. 2003. Vol. 51. № 2. P. 83-98.
 30. Rizwan M., Mujtaba G., Memon S.A., Lee K., Rashid N. Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: a review // Renewable Sustainable Energy Reviews. 2018. Vol. 92. P. 394-404.
 31. Sabzi S., Mehrgan M.S., Islami H.R., Shekarabi S.P.H. Changes in biochemical composition and fatty acid accumulation of *Nannochloropsis oculata* in response to different iron concentrations // Biofuels. 2018. Vol. 12. P. 1-7.
 32. Salama E-S., Kabra A.N., Ji M-K., Kim J.R., Min B., Jeon B-H. Enhancement of microalgae growth and fatty acid content under the influence of phytohormones // Bioresource Technology. 2014. Vol. 172. P. 97-103.
 33. Webb K., Chu F.L. Phytoplankton as a food source for algae. In: Pruder G.D., Langdon C.J., Conklin D.E. (eds) // Proc. 2nd Int. Conf. Aquacult. Nutr. Spec. // Publ. No 2. Louisiana State University, Baton Rouge, LA. 1983. P. 272-291.
 34. Zhao Y., Wang H.P., Han B., Yu X. Coupling of abiotic stresses and phytohormones for the production of lipids and high-value by-products by microalgae: a review // Bioresource Technology. 2019. Vol. 274. P. 549-556.
 35. Zhuang L.L., Yu D., Zhang J., Liu F.F., Wu Y.H., Zhang T.Y., Hu H.Y. The characteristics and influencing factors of the attached microalgae cultivation: a review // Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2018. Vol. 94. P. 1110-1119.
 36. Zienkiewicz K., Du Z.Y., Ma W., Vollheyde K., Benning C. Stress-induced neutral lipid biosynthesis in microalgae-molecular, cellular and physiological insights // Biochimica et Biophysica Acta. 2016. Vol. 1861. P. 1269-1281.

References

1. Kiseleva A.A., Tarahovskaya E.R., Shishova M.F. Biosintez fitogormonov u vodorosle [Biosynthesis of phytohormones in algae]. *Fiziologiya rastenij*, 2012, no. 59, pp. 643-659.

2. Romanenko E.A., Kosakovskaya I.V., Romanenko P.A. Fitogormony mikro-vodoroslej: biologicheskaya rol' i uchastie v regulyacii fiziologicheskikh processov. Ch. I. Auksiny, abszcizovaya kislota, etilen [Microalgae phytohormones: biological role and participation in the regulation of physiological processes. Part I. Auxins, abscisic acid, ethylene]. *Al'gologiya*, 2015, vol. 25, no. 3, pp. 330-351.
3. Aminot A., Ray F. Standard procedure for the determination of chlorophyll a by spectroscopic methods. ICES techniques in marine environmental sciences. International Council for the Exploration of the Sea, 2001, 16 p.
4. Bajguz A., Piotrowska-Niczyporuk A. Synergistic effect of auxins and brassinosteroids on the growth and regulation of metabolite content in the green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae). *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, vol. 71, pp. 290-297.
5. Berard-Therriault L., Poulin M., Bosse L. Guide d'identification du phytoplankton marin de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent: incluant egalement certains protozoaires. Canadian Science Publishing (NRC Research Press) . 1999, 387 p.
6. Carneiro M., Pojo V., Malcata F.X., Otero A. Lipid accumulation in selected Tetraselmis strains. *Journal of Applied Phycology*, 2019, vol. 31, no. 5, pp. 2845-2853.
7. Chen B., Wan C., Mehmood M.A., Chang J.S., Bai F., Zhao X. Manipulating environmental stresses and stress tolerance of microalgae for enhanced production of lipids and value-added products; a review. *Bioresource Technology*, 2017, vol. 244, pp. 1198-1206.
8. Czerpak R., Bajguz A. Stimulatory effect of auxins and cytokinins on carotenes, with differential effects on xanthophylls in the green alga *Chlorella pyrenoidosa* Chick. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 1997, vol. 66, pp. 41-46.
9. Fazal T., Mushtaq A., Rehman F., Khan A.U., Rashid N., Farooq W., Xu J. Bioremediation of textile wastewater and successive biodiesel production using microalgae. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 2018, vol. 82, pp. 3107-3126.
10. Gonzalez-Garcinu A., Sanchez-Alvarez J.A., Martin del Valle E.M. Understanding and optimizing the addition of phytohormones in the culture of microalgae for lipid production. *Biotechnology Progress*, 2016, vol. 32, no. 5, pp. 1203-1221.
11. Guillard, R.R.L. Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates. In: Smith, M.L. and Chanley, M.H., Eds., Culture of Marine Invertebrates Animals, Plenum Press, New York, 1975, pp. 29-60.
12. Hadzizadeh Z., Mehrgan M.S., Shekarabi S.P.H. The potential use of stickwater from a kilka fishmeal plant in *Dunaliella salina* cultivation. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, vol. 27, pp. 2144-2154.

13. Han S.F., Jin W., Abomohra A.E.F., Zhou X., Tu R., Chen C., Wang Q. Enhancement of lipid production of *Scenedesmus obliquus* cultivated in municipal wastewater by plant growth regulator treatment. *Waste Biomass Valorization*, 2019, vol. 10, pp. 2479-2485.
14. Herbert D., Phipps P. J., Strange R. E. Chemical analysis of microbial cells. *Methods in Microbiology*, 1971, no. 5, pp. 209-344.
15. Johnson K.R., Ellis G., Toothill C. The sulfophosphovanilin reaction for serum lipids: a reappraisal. *Clinical Chemistry*, 1977, vol. 23, pp. 1669-1673.
16. Kawamura T., Roberts R.D., Nicholson C.M. Factors affecting the food value of diatom strains for post-larval abalone *Haliotis iris*. *Aquaculture*, 1998, vol. 160, pp. 81-88.
17. Kobraei M.E., White D.S. Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on Kentucky Algae: simultaneous laboratory and field toxicity testings. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1996, vol. 31, pp. 571-580.
18. Koyande A.K., Chew K.W., Rambabu K., Tao Y., Chu D.T., Show P.L. Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. *Food Science and Human Wellness*, 2019, vol. 8, pp. 16-24.
19. Kozlova T.A., Hardy B.P., Krishna P. & Levin D.B. Effect of phytohormones on growth and accumulation of pigments and fatty acids in the microalgae *Scenedesmus quadricauda*. *Algal Research*, 2017, vol. 27, pp. 325-334.
20. Laurens L.M.L., Dempster T.A., Jones H.D.T., Wolfrum E.J., Wychen S.V., McAllister J.S.P., Rencenberger M., Parchert K.J., Gloe L.M. Algal Biomass Constituent Analysis: Method Uncertainties and Investigation of the Underlying Measuring Chemistries. *Journal of Analytical Chemistry*, 2012, vol. 84, no. 4, pp. 1879-1887.
21. Lin B., Ahmed F., Du H., Li Z., Yan Y., Huang Y., Meng C. Plant growth regulators promote lipid and carotenoid accumulation in *Chlorella vulgaris*. *Journal Applied Phycology*, 2018, vol. 30, pp. 1549-1561.
22. Lowry O., Rosenbrougt N., Parr A., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 1951, vol. 193, no. 1, pp. 265-276.
23. Lu Y., Xu J. Phytohormones in microalgae: a new opportunity for microalgal biotechnology? *Trends in Plant Science*, 2015, vol. 20, pp. 272-283.
24. Measuring Growth Rates in Microalgal Cultures. A. M. Wood, R.C. Everroad, L.M. Wingard. *Algal Culturing Technique* [Andersen R.A.]. New York: Elsevier Academic Press, 2005, pp. 269-285.
25. Paliwal C., Mitra M., Bhayani K., Bharadwaj S.V., Ghosh T., Dubey S., Mishra S. Abiotic stresses as tools for metabolites in microalgae. *Bioresource Technology*, 2017, vol. 244, pp. 1216-1226.

26. Park W-K., Yoo G., Moon M., Kim C.W., Choi Y-E., Yang J-W. Phytohormone supplementation significantly increases growth of *Chlamydomonas reinhardtii* cultivated for biodiesel production. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2013, vol. 171, pp. 1128-1142.
27. Rastar M., Hosseini S.P., Shamsaie M.S., Sabzi S. Effects of iron and zinc concentrations on growth performance and biochemical composition of *Haemato-coccus pluvialis*: a comparison between nanoparticles and their corresponding metals bulks. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 2018, vol. 9, pp. 59-67.
28. Renuka N., Guldhe A., Prasanna R., Singh P., Bux F. Microalgae as multi-functional options in modern agriculture: current trends, prospects and challenges. *Biotechnology Advances*, 2018, vol. 36, pp. 1255-1273.
29. Rines J.E.B., Theriot E.C. Systematics of Chaetocerotaceae (Bacillariophyceae): I. A phylogenetic analysis of the family. *Physiol. Res.*, 2003, vol. 51, no. 2, pp. 83-98.
30. Rizwan M., Mujtaba G., Memon S.A., Lee K., Rashid N. Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: a review. *Renewable Sustainable Energy Reviews*, 2018, vol. 92, pp. 394-404.
31. Sabzi S., Mehrgan M.S., Islami H.R., Shekarabi S.P.H. Changes in biochemical composition and fatty acid accumulation of *Nannochloropsis oculata* in response to different iron concentrations. *Biofuels*, 2018, vol. 12, pp. 1-7.
32. Salama E-S., Kabra A.N., Ji M-K., Kim J.R., Min B., Jeon B-H. Enhancement of microalgae growth and fatty acid content under the influence of phytohormones. *Bioresource Technology*, 2014, vol. 172, pp. 97-103.
33. Webb K., Chu F.L. Phytoplankton as a food source for algae. In: Pruder G.D., Langdon C.J., Conklin D.E. (eds). *Proc. 2nd Int. Conf. Aquacult. Nutr. Spec.* Publ. no 2. Louisiana State University, Baton Rouge, LA, 1983, pp. 272-291.
34. Zhao Y., Wang H.P., Han B., Yu X. Coupling of abiotic stresses and phytohormones for the production of lipids and high-value by-products by microalgae: a review. *Bioresource Technology*, 2019, vol. 274, pp. 549-556.
35. Zhuang L.L., Yu D., Zhang J., Liu F.F., Wu Y.H., Zhang T.Y., Hu H.Y. The characteristics and influencing factors of the attached microalgae cultivation: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2018, vol. 94, pp. 1110-1119.
36. Zienkiewicz K., Du Z.Y., Ma W., Vollheyde K., Benning C. Stress-induced neutral lipid biosynthesis in microalgae-molecular, cellular and physiological insights. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2016, vol. 1861, pp. 1269-1281.

ВКЛАД АВТОРОВ

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку статьи для публикации.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The authors contributed equally to this article.

ДАнные ОБ АВТОРАХ

Ковалев Николай Николаевич, д-р биол. наук, профессор кафедры биохимии и биотехнологии, Институт Мирового Океана
*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный федеральный университет»
ДВФУ Кампус, 10, п. Аякс, о. Русский, г. Владивосток, Приморский край, 660022, Российская Федерация
kovalevnn61@yandex.ru*

Лескова Светлана Евгеньевна, канд. биол. наук, доцент кафедры «Водные биоресурсы и аквакультура»
*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет»
ул. Луговая, 52Б, г. Владивосток, Приморский край, 690087, Российская Федерация
svetaleskova@mail.ru*

Михеев Евгений Валерьевич, канд. техн. наук, старший научный сотрудник «Научно-исследовательского института инновационных биотехнологий»
*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет»
ул. Луговая, 52Б, г. Владивосток, Приморский край, 690087, Российская Федерация
zhenyasuper79@mail.ru*

Барсова Екатерина Андреевна, аспирант, заведующая лабораторией кафедры биохимии и биотехнологии, Институт Мирового Океана
*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный федеральный университет»
ДВФУ Кампус, 10, п. Аякс, о. Русский, г. Владивосток, 660022, Российская Федерация
barsova.ea@dvfu.ru*

DATA ABOUT THE AUTHORS

Nickolay N. Kovalev, Dr. Sc. (Biology), Professor of Department of Biochemistry and Biotechnology, Institute of the World Ocean

Far Eastern Federal University

FEFU Campus, 10 Ajax Bay, Russky Island, Vladivostok, Primorsky Krai, 690922, Russian Federation

kovalevnn61@yandex.ru

SPIN-code: 96894

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7100-7208>

Svetlana E. Leskova, Ph. Dr. (Biology), Assistant professor of Department “Water bioresources and aquaculture”

Far Eastern State Technical Fisheries University

52B, Lugovaya, Vladivostok, Primorsky Krai, 690089, Russian Federation

svetaleskova@mail.ru

SPIN-code: 5124-2384

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7058-3449>

Evgeny V. Mikheev, Ph. Dr. (Technology), Head Researcher of Research Institute of Innovative Biotechnologies

Far Eastern State Technical Fisheries University

52B, Lugovaya, Vladivostok, Primorsky Krai, 690089, Russian Federation

zhenyasuper79@mail.ru

SPIN-code: 1244-4962

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3433-5653>

Scopus Author ID: 6602626984

Ekaterina A. Barsova, Head of the Laboratory of Department of Biochemistry and Biotechnology, Institute of the World Ocean

Far Eastern Federal University

FEFU Campus, 10 Ajax Bay, Russky Island, Vladivostok, Primorsky Krai, 690922, Russian Federation

barsova.ea@dvfu.ru

SPIN-code: 3891-9427

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5752-8648>

ResearcherID: GWQ-6967-2022

Scopus Author ID: 57196417972

Поступила 10.10.2023

После рецензирования 04.12.2023

Принята 16.12.2023

Received 10.10.2023

Revised 04.12.2023

Accepted 16.12.2023