

ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ ГИДРОБИОНТОВ

DOI: 10.24143/2073-5529-2021-1-90-99

УДК 582.232:519.876.5

ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ *TETRASELMIS SUECICA* В НАКОПИТЕЛЬНОЙ КУЛЬТУРЕ

Н. Н. Ковалев, С. Е. Лескова, Е. В. Михеев, Ю. М. Позднякова, Р. В. Есипенко

*Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
Владивосток, Российская Федерация*

Обосновано применение салициловой кислоты как стимулятора роста микроводорослей. Проведена оценка влияния широкого диапазона концентраций салициловой кислоты на динамику роста *Tetraselmis suecica* в накопительной культуре. Культивирование осуществляли в монокультуре. Прирост биомассы водорослей находили по увеличению числа клеток, просчитанных в каждом опыте в трех камерах Горяева под световым микроскопом. Продолжительность экспериментов составляла 14 дней. Показано, что салициловая кислота в концентрациях $0,4\text{--}1,9 \cdot 10^{-5}$ моль ингибирует рост водоросли. Рост контрольной культуры имеет два выраженных пика численности на 4 и 12 день эксперимента. Внесение салициловой кислоты в концентрациях $0,44\text{--}1,9 \cdot 10^{-5}$ моль сопровождалось изменением характера кривых роста: максимум количества клеток отмечался на 12 день эксперимента. Более высокая концентрация фитогормона ($3,75 \cdot 10^{-5}$ моль) обеспечивала рост плотности культуры на 414 % за 14 дней эксперимента. Рост культуры *T. suecica* в контрольной группе составил 332 %. Рассчитаны значения удельной скорости роста *T. suecica* в различные периоды культивирования. После 14 дней эксперимента проведена оценка биохимического состава биомассы микроводорослей, которая показала стимуляцию салициловой кислотой в концентрации $3,75 \cdot 10^{-5}$ моль накопления углеводов. Содержание углеводов в экспериментальной группе было на 14 % больше по сравнению с контрольной группой. Высокая концентрация фитогормона подавляла накопление в культуре белка, липидов и хлорофилла и стимулировала накопление углеводов. Сделано предположение, что возможным механизмом разнонаправленного действия салициловой кислоты является ее влияние на синтез и катаболизм через ингибирование синтеза и метаболизма эндогенных гормонов растений.

Ключевые слова: накопительная культура, микроводоросль, салициловая кислота, скорость роста, химический состав, углеводы, липиды, белок, хлорофилл.

Для цитирования: Ковалев Н. Н., Лескова С. Е., Михеев Е. В., Позднякова Ю. М., Есипенко Р. В. Влияние салициловой кислоты на продукционные характеристики и биохимические показатели *Tetraselmis suecica* в накопительной культуре // Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство. 2021. № 1. С. 90–99. DOI: 10.24143/2073-5529-2021-1-90-99.

Введение

Большинство коммерчески эксплуатируемых видов микроводорослей находят свой основной рынок сбыта в аквакультуре в качестве корма для рыб, личинок, молоди моллюсков и ракообразных [1]. Знание химического состава микроводорослей, выращенных в контролируемых и стандартизированных условиях, является первым шагом к пониманию и продвижению потенциальных возможностей биомассы микроводорослей в качестве пищевой добавки или ингредиента.

Морская микроводоросль *Tetraselmis suecica* применяется в аквакультуре в качестве корма для культивируемых беспозвоночных [2–4]. В последнее время проявляемый интерес к этому

виду микроводорослей связан с ее использованием в качестве сырья для производства биотоплива и в качестве источника получения высокоэффективных биологически активных веществ для нутрицевтики, фармацевтики и косметической промышленности [5, 6].

Регуляторы роста широко применяются в сельскохозяйственном растениеводстве для регуляции роста растений в сельскохозяйственной практике. К природным регуляторам относят фитогормоны.

К гормонам растений также относят салициловую кислоту. По химической природе салициловая кислота является фенолом. Известна роль салициловой кислоты в формировании индуцированной устойчивости высших растений, основанной на ее способности ингибировать ферменты антиоксидантной защиты растений [7].

Сведения о гормональной системе водорослей фрагментарны и касаются главным образом макрофитов [8]. Физиологическая роль фитогормонов у водорослей различных таксонов значительно варьирует [9, 10]. О синтезе и роли салициловой кислоты у микроводорослей данные в доступной литературе отсутствуют.

Исследования фитогормонов микроводорослей, являющихся пищевыми объектами моллюсков и беспозвоночных, единичны и касаются в основном разработки методов их культивирования с целью извлечения биологически активных метаболитов (каротиноидов, хлорофиллов). Остаются малоизученными вопросы влияния экзогенных стимуляторов роста на культуры микроводорослей, их биохимический состав. В то же время знание физиологических эффектов действия фитогормонов открывает промышленную перспективу их использования в марикультурных хозяйствах.

Целью работы являлось исследование влияния экзогенной салициловой кислоты на ростовые и биохимические характеристики микроводоросли *Tetraselmis suecica*, являющейся природным кормом объектов марикультуры.

Для достижения цели необходимо было решить следующие задачи:

- выявить зависимость динамики роста микроводоросли *Tetraselmis suecica* от различных концентраций салициловой кислоты в накопительной культуре;
- исследовать влияние салициловой кислоты на биохимические показатели микроводорослей: содержание углеводов, белка, липидов, хлорофиллов.

Материалы и методы

В качестве исходного материала для культивирования была использована альгологически чистая культура *Tetraselmis suecica* из коллекции Научно-производственного департамента марикультуры ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз». В качестве культиваторов использовали одноразовые полиэтиленовые рукава объемом 40 л. Микроводоросли выращивали в накопительном режиме на питательной среде Гольдберга, содержащей такие соли, как KNO_3 , Na_2PO_4 , $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ и $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ [11]. Культура водорослей содержалась при температуре 21–23 °С, освещенности 8–10 клк, фотопериоде 8 : 16 ч (свет : темнота) и круглосуточной аэрации.

В качестве стимулятора роста использовали салициловую кислоту («НеваРеактив», Россия).

Культивирование осуществляли в монокультуре. Прирост биомассы водорослей находили по увеличению числа клеток, просчитанных в каждом опыте в трех камерах Горяева под световым микроскопом. Продолжительность экспериментов составляла 14 дней.

Расчет удельной скорости роста микроводоросли проводили по Р. П. Тренкешу (2019) [12].

Общее содержание углеводов оценивали по образованию окрашенного зеленого соединения с максимумом поглощения при 625 нм в результате реакции гидроксиметилфурфурола, который образуется при гидролизе глюкозы в горячей кислой среде, с антроновым реактивом [13].

Для определения количественного содержания белка отбирали 10 мл культуры водоросли, центрифугировали при 5 000 об/мин в течение 5 мин. Надосадочную жидкость удаляли, полученный осадок замораживали и хранили при –20 °С. К осадку добавляли 10 мл 1-молярного раствора NaOH и выдерживали на водяной бане при 100 °С в течение 5 мин [14], предварительно однократно обработав образцы ультразвуком при 50 % мощности в течение 30 с. Полученный экстракт центрифугировали при 5 000 об/мин в течение 5 мин. В надосадочной жидкости проводили определение белка методом Лоури [15].

Сумму хлорофиллов выделяли методом экстракции ацетоном из предварительно замороженной биомассы водорослей [16]. Количественное содержание хлорофиллов определяли спектрофотометрически при длинах волн 630, 647, 664 и 750 нм. В качестве контроля использовали 90 % ацетон. Расчет содержания хлорофиллов *a*, *b* и *c* проводили по формулам, приведенным в [17].

Сумму липидов экстрагировали по методу Фолча [18]. Количество липидов в микроводоросли определяли гравиметрически.

Результаты и обсуждение

Рост *Tetraselmis suecica* в накопительной культуре характеризовался линейностью. Плотность культуры в среднем увеличивалась от 0,66 до 1,9 млн кл./мл через 14 дней культивирования. Следует отметить, что в период с 12 по 14 день рост культуры замедлился и в среднем составил 0,2 млн кл./мл (рис. 1, группа «контроль»).

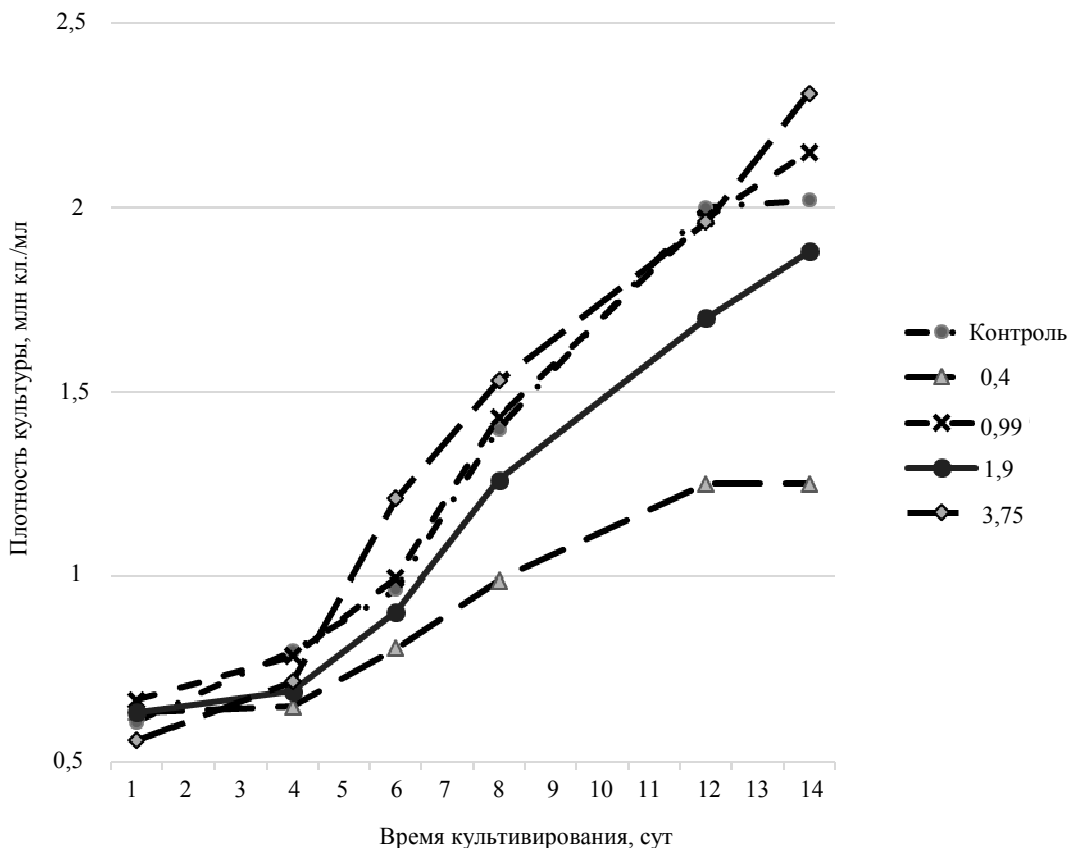


Рис. 1. Влияние различных концентраций салициловой кислоты (10^{-5} моль) на рост культуры *Tetraselmis suecica*

Была проведена оценка влияния различных концентраций салициловой кислоты на рост в накопительной культуре *Tetraselmis suecica*. Оценка роста биомассы проводилась по показателям количества клеток в мл культуральной среды. По результатам исследования установлено, что салициловая кислота в концентрациях $0,99 \cdot 10^{-5}$ моль практически не оказывала влияния на темп роста микроводоросли. Концентрации фитогормона 0,4 и $1,9 \cdot 10^{-5}$ моль ингибировали рост микроводоросли. Только в концентрации $3,75 \cdot 10^{-5}$ моль салициловая кислота стимулировала рост количества клеток микроводоросли. Следует также отметить, что на 12 сутки эксперимента количество клеток в контроле и экспериментальных группах, содержащих $0,99 \cdot 10^{-5}$ и $3,75 \cdot 10^{-5}$ моль фитогормона оказалось одинаковым.

Из оценки роста количества клеток *T. suecica* в течение всего эксперимента следует, что плотность культуры в контрольной группе увеличилась на 332,8 % (рис. 2).

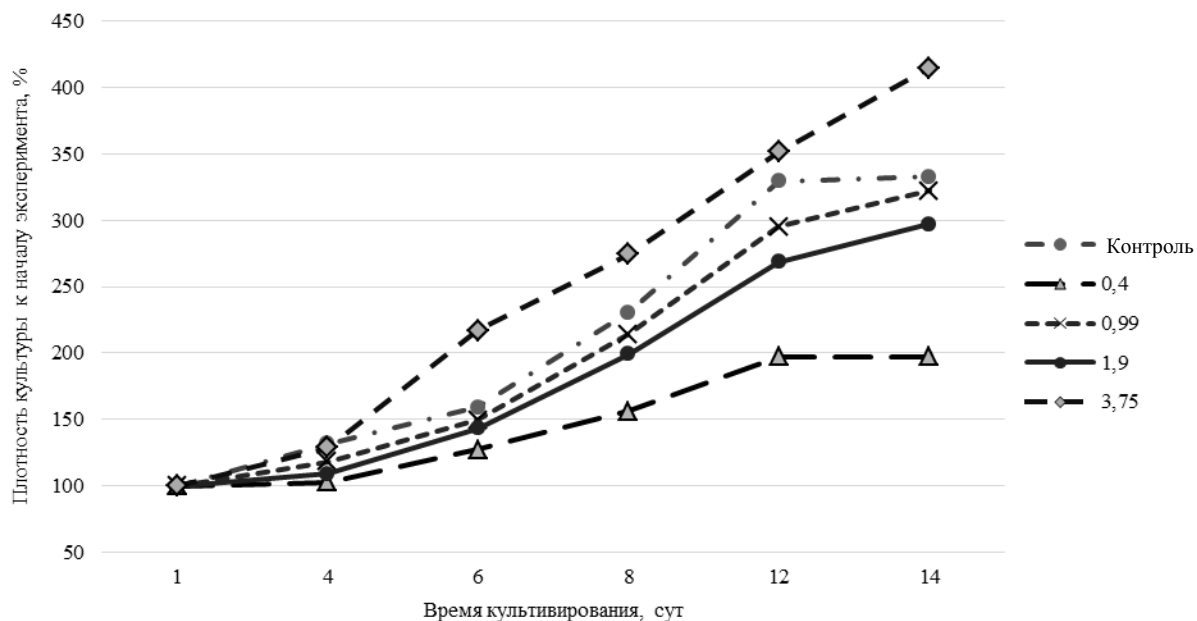


Рис. 2. Влияние различных концентраций салициловой кислоты (10^{-5} моль) на прирост культуры *Tetraselmis suecica*

При использовании салициловой кислоты в концентрациях от $0,4$ до $1,99 \cdot 10^{-5}$ моль рост плотности культуры составлял 197,5–322,3 % от исходных значений. В то же время внесение в культуральную среду салициловой кислоты до концентрации $3,75 \cdot 10^{-5}$ моль приводило к стимуляции роста до 414,7 % от исходных значений. Таким образом, разница темпов роста в этой группе, по сравнению с контрольной, составляла 81,9 %.

Кривые роста культур за весь период эксперимента (см. рис. 1) не имеют линейной зависимости. Исходя из представленных данных не представляется возможным рассчитать удельную скорость роста без выявления ее логарифмической фазы. Была проведена оценка прироста клеток микроводорослей «по нарастающей» за весь период эксперимента (рис. 3).

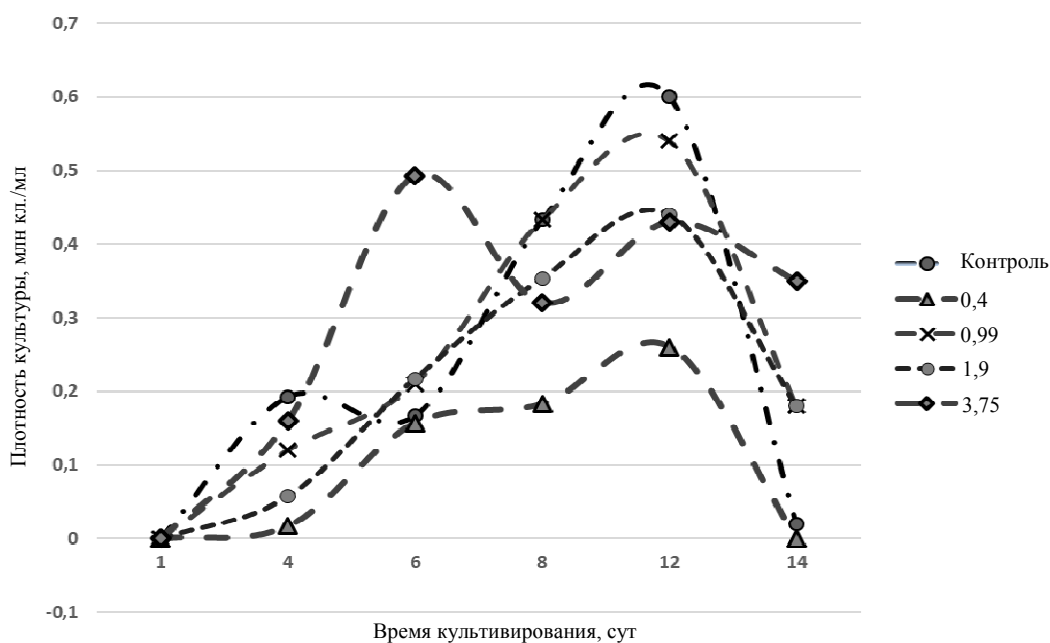


Рис. 3. Влияние различных концентраций салициловой кислоты (10^{-5} моль) на ежесуточный прирост клеток культуры

Как видно из рисунка, рост контрольной культуры имеет два выраженных пика численности: на 4-й и 12-й дни эксперимента. Внесение салициловой кислоты в концентрациях $0,44-1,9 \cdot 10^{-5}$ моль сопровождалось изменением характера кривых роста: максимум количества клеток в большинстве случаев отмечался на 12-й день эксперимента. Кривая прироста культуры при внесении салициловой кислоты в концентрации $3,75 \cdot 10^{-5}$ моль, как и в контрольной группе, имела два максимума – на 6-й и 12-й дни. Следует отметить, что во всех экспериментальных группах культивирование с 12-го по 14-й день сопровождалось резким снижением прироста количества клеток микроводоросли.

Исходя из представленных на рис. 3 данных были рассчитаны значения удельной скорости роста *T. suecica* в различные периоды культивирования (табл. 1).

Таблица 1

**Влияние различных концентраций салициловой кислоты
на удельную скорость роста *Tetraselmis suecica***

Концентрация салициловой кислоты, 10^{-5} моль	Удельная скорость роста, μ , сутки ⁻¹	
	1–4 день	8–12 день
Контроль	0,092	0,089
0,4	0,003	0,058
0,99	0,055	0,08
1,9	0,029	0,075
3,75	0,085	0,062

Представленные в табл. 1 данные свидетельствуют о том, что удельная скорость роста *T. suecica* в контрольной группе не различалась в разные периоды роста. В то же время удельная скорость роста культуры микроводоросли значительно увеличивалась при внесении в культуральную среду салициловой кислоты в концентрациях $0,4-1,9 \cdot 10^{-5}$ моль. Использование максимальной концентрации стимулятора ($3,75 \cdot 10^{-5}$ моль), наоборот, приводило к снижению удельного роста на 8–12 дни эксперимента.

Разнонаправленность эффектов действия различных концентраций салициловой кислоты связано, предположительно, с ее регуляторными свойствами. Считается, что салициловая кислота может вызывать торможение ростовых процессов через механизм ингибирования других фитогормонов – индолилуксусной кислоты – либо стимуляции синтеза ИУК-оксидазы [19]. Например, для каллусной культуры табака *Nicotiana tabacum* ингибирующая концентрация салициловой кислоты составляла 10^{-3} моль/л, стимулирующая концентрация – 10^{-5} моль/л [20].

После 14 дней эксперимента была проведена оценка биохимического состава биомассы микроводорослей (табл. 2).

Таблица 2

Показатели состава биомассы *Tetraselmis suecica*

Показатель	Контроль	Экспериментальная группа (салициловая кислота $3,75 \cdot 10^{-5}$ моль)
Углеводы, %	32,4	46,8
Белок, %	38,7	29,3
Липиды, %	6,3	2,9
Хлорофилл, мкг/мл	15,5	8,8

Из представленных в табл. 2 данных видно, что салициловая кислота в концентрации $3,75 \cdot 10^{-5}$ моль стимулировала накопление углеводов: содержание углеводов в экспериментальной группе было на 14 % больше по сравнению с контрольной группой. В то же время в биомассе микроводорослей экспериментальной группы отмечено снижение содержания белка на 9,4 %, липидов на 3,4 %, хлорофилла в 1,8 раза.

Белки растений по отношению к салициловой кислоте условно разделяют на группы в зависимости от количества и включения в их состав 14С-аминокислот [21]. К СК-зависимым белкам относят фосфоглицератмутазу, S-аденозилметионинсинтазу 3, енолазу, халконизомеразу, нуклеозиддифосфаткиназу 1 и тиоредоксин *h*. Ранее было показано влияние экзогенной салициловой кислоты на содержание общего белка на культивируемых клетках штамма *Polyscias filicifolia* [22]. Был выявлен дозозависимый эффект стимуляции (0,05 и 0,1 мкмоль/100 г сырой биомассы) и ингибирования (0,17 мкмоль/100 г сырой биомассы) накопления белка в культуре. Индукция биосинтеза белка в клетках каллуса отмечалась на фоне снижения его распада и увеличения времени функционирования [22].

Известна способность некоторых фитогормонов влиять на адаптацию, рост и развитие высших растений, а также развитие и покой семян. Так, в стареющих растениях количество АБК увеличивается, что вызывает деградацию белков и хлорофилла [23].

По-видимому, полученные нами данные о снижении содержания белка и липидов в культуре свидетельствуют о том, что концентрации салициловой кислоты $0,4\text{--}1,9 \cdot 10^{-5}$ моль подавляют образование некоторых ферментов синтеза и катаболизма этих веществ.

Выявленные изменения количественного состава белков и хлорофилла *T. suecica* свидетельствуют, по-видимому, о том, что этот гормон выполняет у микроводорослей те же функции, что и у высших растений.

Заключение

В результате исследования установлено, что салициловая кислота в различных концентрациях проявляет как индуцирующее, так и ингибирующее действие на рост культуры *Tetraselmis suecica*. При концентрации салициловой кислоты $3,75 \cdot 10^{-5}$ моль рост культуры составлял 415 % от исходных значений. В культуре без использования фитогормона рост составлял 332 %. Использование больших концентраций салициловой кислоты приводило к повышению концентрации углеводов в биомассе водоросли и снижению концентрации белка, липидов и хлорофилла. Возможным механизмом разнонаправленного действия салициловой кислоты является ее влияние на синтез и катаболизм через ингибирование синтеза и метаболизма эндогенных гормонов растений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Guedes A. C., Malcata F. X. Nutritional value and uses of microalgae in aquaculture // *Aquaculture*. 2012. January. P. 59–78.
2. Conceição L. E. C., Yúfera M., Makridis P., Morais S., Dinis M. T. Live feeds for early stages of fish rearing // *Aquaculture Research*. 2010. V. 41. P. 613–640.
3. Camacho-Rodríguez J., González-Céspedes A. M., Cerón-García M. C., Fernández-Sevilla J. M., Acién-Fernández F. G., Molina-Grima E. A. A quantitative study of eicosapentaenoic acid (EPA) production by *Nannochloropsis gaditana* for aquaculture as a function of dilution rate, temperature and average irradiance // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2014. V. 98. P. 2429–2440.
4. Chauton M. S., Reitan K. I., Norsker N. H., Tveterås R., Kleivdal H. T. A. A techno-economic analysis of industrial production of marine microalgae as a source of EPA and DHA-rich raw material for aquafeed: research challenges and possibilities // *Aquaculture*. 2015. V. 436. P. 95–103.
5. Reyimu Z., Özçimen D. Batch cultivation of marine micro-algae *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis suecica* in treated municipal wastewater toward bioethanol production // *Journal of Cleaner Production*. 2017. V. 150. P. 40–46.
6. Sun Z., Wei H., Zhou Z. G., Ashokkumar M., Liu J. Screening of *Isochrysis* strains and utilization of a two-stage outdoor cultivation strategy for algal biomass and lipid production // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2018. V. 185. P. 1100–1117.
7. Васюкова Н. И., Озерецковская О. Л. Индуцированная устойчивость растений и салициловая кислота (обзор) // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2007. Т. 43. № 4. С. 405–411.
8. Тараховская Е. Р., Маслов Ю. И., Шишова М. Ф. Фитогормоны водорослей // *Физиология растений*. 2007. Т. 5. № 2. С. 186–194.
9. 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.

10. Романенко Е. А., Косаковская И. В., Романенко П. А. Фитогормоны микроводорослей: биологическая роль и участие в регуляции физиологических процессов. Ч. II. Цитокинины и гиббереллины // Альгология. 2016. Т. 26. № 2. С. 203–229.
11. Кабанова Ю. Г. О культивировании в лабораторных условиях морских планктонных диатомовых и перидиниевых водорослей // Тр. Ин-та океанологии Акад. наук СССР. 1961. Т. 47. С. 203–216.
12. Тренкешу П. П. Расчет удельной скорости роста микроводорослей // Морской биологический журнал. 2019. Т. 4. № 1. С. 100–108.
13. 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. V. 84. N. 4. P. 1879–1887.
14. Herbert D., Phipps P. J., Strange R. E. Chemical analysis of microbial cells // Methods Microbiol. 1971. N. 58. P. 209–344.
15. Lowry O., Rosenbrougt N., Parr A., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent // Journal of Biological Chemistry. 1951. V. 193. N. 1. P. 265–276.
16. Carneiro M., Pojo V., Malcata F. X., Otero A. Lipid accumulation in selected Tetraselmis strains // Journal of Applied Phycology. 2019. N. 31. P. 2845–2853.
17. 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.
18. Christie W. W. Lipid Analysis: Isolation, Identification and Structural Analysis of Lipids. England: The Oily Press, 2003. 416 p.
19. Westfall C. S., Muehler A. M., Jez J. M. Enzyme Action in the Regulation of Plant Hormone Responses // Journal of Biological Chemistry. 2013. V. 288. P. 19304–19311.
20. Дитченко Т. И., Юрин В. М. Регуляция ростовых процессов каллусной культуры *Nicotiana tabacum* под действием экзогенной салициловой кислоты // Вестн. Белорус. гос. ун-та. Сер. 2. 2008. № 3. С. 72–76.
21. Тарчевский И. А., Яковлева В. Г., Егорова А. М. Влияние салициловой кислоты на содержание белков и включение в них 14С-аминокислот в корнях гороха // Физиология растений. 2011. Т. 58. № 4. С. 523–532.
22. Кириллова Н. В., Белых Ю. В., Спасенкова О. М. Влияние салициловой кислоты на обмен внутриклеточного белка в культуре ткани *Polyscias filicifolia* // Бутлеровские сообщения. 2013. Т. 34. № 4. С. 129–134.
23. Shu-Quing C., Rong-Xian Z., Wei L., Zhi-Rui D., Qi-Ming Z. The involvement of Cytokinin and Abscisic acid levels in roots in the regulation in flag levels during grain filling in super high-yielding Rice (*Oryza sativa*) // Journal of Agronomy and Crop Science. 2004. V. 190. P. 73–80.

Статья поступила в редакцию 07.07.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Ковалев Николай Николаевич – Россия, 690087, Владивосток; Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет; д-р биол. наук; главный научный сотрудник НИИ инновационных биотехнологий; kovalevnn61@yandex.ru.

Лескова Светлана Евгеньевна – Россия, 690087, Владивосток; Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет; канд. биол. наук; доцент кафедры водных биоресурсов и аквакультуры; svetaleskova@mail.ru.

Михеев Евгений Валерьевич – Россия, 690087, Владивосток; Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет; канд. техн. наук; старший научный сотрудник НИИ инновационных биотехнологий; zhenyasuper79@mail.ru.

Позднякова Юлия Михайловна – Россия, 690087, Владивосток; Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет; канд. техн. наук; директор НИИ инновационных биотехнологий; pozdnyakova.julia@yandex.ru.

Есипенко Роман Владимирович – Россия, 690087, Владивосток; Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет; канд. техн. наук; младший научный сотрудник НИИ инновационных биотехнологий; azt@bk.ru.



INFLUENCE OF SALICYLIC ACID ON PRODUCTION CHARACTERISTICS AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF *TETRASELMIS SUECICA* IN ENRICHMENT CULTURE

N. N. Kovalev, S. E. Leskova, E. V. Mikheev, Yu. M. Pozdnyakova, R. V. Esipenko

Far Eastern State Technical Fisheries University,
Vladivostok, Russian Federation

Abstract. The article considers the use of salicylic acid as a stimulator of microalgae growth. The influence of a wide range of salicylic acid concentrations on the growth dynamics of *Tetraselmis suecica* in enrichment culture has been evaluated. Cultivation was carried out in monoculture. An increase in algal biomass was measured by the increasing number of cells counted in each experiment in three Goryaev chambers under a light microscope. The duration of the experiments was 14 days. It is shown that salicylic acid in concentrations of $0.4-1.9 \cdot 10^{-5}$ M inhibits the growth of algae. The growth of the control culture has two pronounced peak numbers on 4th and 12th days of the experiment. The introduction of salicylic acid in concentrations of $0.44-1.9 \cdot 10^{-5}$ M was accompanied by a change of the growth curves: the maximum number of cells was observed on 12th day of the experiment. A higher concentration of phytohormone ($3.75 \cdot 10^{-5}$ M) provided an increase in crop density by 414% over 14 days of the experiment. The growth of *T. suecica* culture in the control group was 332%. The values of the specific growth rate of *T. suecica* were calculated for different periods of cultivation. After 14 days of the experiment, the biochemical composition of the microalgae biomass was evaluated, which showed stimulation with salicylic acid at a concentration of $3.75 \cdot 10^{-5}$ M carbohydrate accumulation. The high concentration of phytohormone suppressed the accumulation of protein, lipids and chlorophyll in the culture and stimulated the accumulation of carbohydrates. It has been suggested that a possible mechanism for the multidirectional action of salicylic acid is its effect on synthesis and catabolism through inhibition of the synthesis and metabolism of endogenous plant hormones.

Key words: enrichment culture, microalgae, salicylic acid, growth rate, chemical composition, carbohydrates, lipids, protein, chlorophyll.

For citation: Kovalev N. N., Leskova S. E., Mikheev E. V., Pozdnyakova Yu. M., Esipenko R. V. Influence of salicylic acid on production characteristics and biochemical parameters of *Tetraselmis suecica* in enrichment culture. *Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*. 2021;1:90-99. (In Russ.) DOI: 10.24143/2073-5529-2021-1-90-99.

REFERENCES

1. Guedes A. C., Malcata F. X. Nutritional value and uses of microalgae in aquaculture. *Aquaculture*, 2012, January, pp. 59-78.
2. Conceição L. E. C., Yúfera M., Makridis P., Morais S., Dinis M. T. Live feeds for early stages of fish rearing. *Aquaculture Research*, 2010, vol. 41, pp. 613-640.
3. Camacho-Rodríguez J., González-Céspedes A. M., Cerón-García M. C., Fernández-Sevilla J. M., Acien-Fernández F. G., Molina-Grima E. A. A quantitative study of eicosapentaenoic acid (EPA) production by *Nannochloropsis gaditana* for aquaculture as a function of dilution rate, temperature and average irradiance. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, vol. 98, pp. 2429-2440.
4. Chauton M. S., Reitan K. I., Norsker N. H., Tveterås R., Kleivdal H. T. A. A techno-economic analysis of industrial production of marine microalgae as a source of EPA and DHA-rich raw material for aquafeed: research challenges and possibilities. *Aquaculture*, 2015, vol. 436, pp. 95-103.

5. Reyimu Z., Özçimen D. Batch cultivation of marine micro-algae *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis suecica* in treated municipal wastewater toward bioethanol production. *Journal of Cleaner Production*, 2017, vol. 150, pp. 40-46.
6. Sun Z., Wei H., Zhou Z. G., Ashokkumar M., Liu J. Screening of *Isochrysis* strains and utilization of a two-stage outdoor cultivation strategy for algal biomass and lipid production. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2018, vol. 185, pp. 1100-1117.
7. Vasiukova N. I., Ozeretskova O. L. Indutsirovannaia ustoichivost' rastenii i salitsilovaia kislota (obzor) [Induced plant resistance and salicylic acid (review)]. *Prikladnaia biokhimiia i mikrobiologiya*, 2007, vol. 43, no. 4, pp. 405-411.
8. Tarakhovskaia E. R., Maslov Iu. I., Shishova M. F. Fitogormony vodoroslei [Algae phytohormones]. *Fiziologiya rastenii*, 2007, vol. 5, no. 2, pp. 186-194.
9. Romanenko E. A., Kosakovskaia I. V., Romanenko P. A. Fitogormony mikrovdoroslei: biologicheskaia rol' i uchastie v reguliatsii fiziologicheskikh protsessov. Chast' I. Auksiny, abstsizovaia kislota, etilen [Phytohormones of microalgae: biological role and participation in regulation of physiological processes. Part I. Auxins, abscisic acid, ethylene]. *Al'gologiya*, 2015, vol. 25, no. 3, pp. 330-351.
10. Romanenko E. A., Kosakovskaia I. V., Romanenko P. A. Fitogormony mikrovdoroslei: biologicheskaia rol' i uchastie v reguliatsii fiziologicheskikh protsessov. Chast' II. Tsitokininy i gibberelliny [Phytohormones of microalgae: biological role and participation in regulation of physiological processes. Part II. Cytokinins and gibberellins]. *Al'gologiya*, 2016, vol. 26, no. 2, pp. 203-229.
11. Kabanova Iu. G. O kul'tivirovanii v laboratornykh usloviakh morskikh planktonnykh diatomovykh i peridinievnykh vodoroslei [About cultivation of marine planktonic diatoms and peridinium algae in laboratory conditions]. *Trudy Instituta okeanologii Akademii nauk SSSR*, 1961, vol. 47, pp. 203-216.
12. Trenkeshu R. P. Raschet udel'noi skorosti rosta mikrovdoroslei [Calculation of specific growth rate of microalgae]. *Morskoi biologicheskii zhurnal*, 2019, vol. 4, no. 1, pp. 100-108.
13. Laurens L. M. L., Dempster T. A., Jones H. D. T., Wolfrum E. J., Wychen S. V., McAllister J. S. P., Renzenberger 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.
14. Herbert D., Phipps P. J., Strange R. E. Chemical analysis of microbial cells. *Methods in Microbiology*, 1971, no. 5, pp. 209-344.
15. 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.
16. Sarneiro M., Pojo V., Malcata F. X., Otero A. Lipid accumulation in selected *Tetraselmis* strains. *Journal of Applied Phycology*, 2019, no. 31, pp. 2845-2853.
17. 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.
18. Christie W. W. *Lipid Analysis: Isolation, Identification and Structural Analysis of Lipids*. England, The Oily Press, 2003. 416 p.
19. Westfall C. S., Muehler A. M., Jez J. M. Enzyme Action in the Regulation of Plant Hormone Responses. *Journal of Biological Chemistry*, 2013, vol. 288, pp. 19304-19311.
20. Ditchenko T. I., Iurin V. M. Reguliatsiia rostovykh protsessov kallusnoi kul'tury *Nicotiana tabacum* pod deistviem ekzogennoi salitsilovoi kisloty [Regulation of growth processes in callus culture of *Nicotiana tabacum* under influence of exogenous salicylic acid]. *Vestnik Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya 2*, 2008, no. 3, pp. 72-76.
21. Tarchevskii I. A., Iakovleva V. G., Egorova A. M. Vliianie salitsilovoi kisloty na sodержanie belkov i vkluchenie v nikh 14S-aminokislot v korniakh gorokha [Influence of salicylic acid on protein composition and inclusion of 14C-amino acids in them in the roots of peas]. *Fiziologiya rastenii*, 2011, vol. 58, no. 4, pp. 523-532.
22. Kirillova N. V., Belykh Iu. V., Spasenkova O. M. Vliianie salitsilovoi kisloty na obmen vnutrikletchnogo belka v kul'ture tkani *Polyscias filicifolia* [Effect of salicylic acid on exchange of intracellular protein in tissue culture *Polyscias filicifolia*]. *Butlerovskie soobshcheniia*, 2013, vol. 34, no. 4, pp. 129-134.
23. Shu-Quing C., Rong-Xian Z., Wei L., Zhi-Rui D., Qi-Ming Z. The involvement of Cytokinin and Abscisic acid levels in roots in the regulation in flag levels during grain filling in super high-yielding Rice (*Oryza sativa*). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 2004, vol. 190, pp. 73-80.

The article submitted to the editors 07.07.2020

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Kovalev Nikolai Nikolayevich – Russia, 690087, Vladivostok; Far Eastern State Technical Fisheries University; Doctor of Biology; Chief Researcher of the Research Institute of Innovative Biotechnology; kovalevnn61@yandex.ru.

Leskova Svetlana Evgenyevna – Russia, 690087, Vladivostok; Far Eastern State Technical Fisheries University; Candidate of Biology; Assistant Professor of the Department of Water Bioresources and Aquaculture; svetaleskova@mail.ru.

Mikheev Evgeny Valerevich – Russia, 690087, Vladivostok; Far Eastern State Technical Fisheries University; Candidate of Technical Sciences; Senior Researcher of the Research Institute of Innovative Biotechnologies; zhenyasuper79@mail.ru.

Pozdnyakova Yuliya Mikhaylovna – Russia, 690087, Vladivostok; Far Eastern State Technical Fisheries University; Candidate of Technical Sciences; Director of the Research Institute of Innovative Biotechnologies; pozdnyakova.julia@yandex.ru.

Esipenko Roman Vladimirovich – Russia, 690087, Vladivostok; Far Eastern State Technical Fisheries University; Candidate of Technical Sciences; Junior Researcher of the Research Institute of Innovative Biotechnologies; azt@bk.ru.

