

УДК 593.161.42-113.4:547.587.11

**РОСТ *ISOCHRYSIS GALBANA* PARKE, 1949 (НАРТОФЫТА)  
В МИКСОТРОФНЫХ УСЛОВИЯХ  
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ**

© 2023 г. **Н. Н. Ковалев, С. Е. Лескова, Е. В. Михеев**

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,  
Владивосток, Российская Федерация  
E-mail: [kovalevnn61@yandex.ru](mailto:kovalevnn61@yandex.ru)

Поступила в редакцию 28.10.2021; после доработки 27.04.2022;  
принята к публикации 20.10.2022; опубликована онлайн 14.03.2023.

Проведена оценка влияния различных концентраций салициловой кислоты на динамику роста *Isochrysis galbana* Parke, 1949 в накопительной культуре. Культивирование осуществляли в монокультуре. Прирост биомассы водорослей находили по увеличению числа клеток, просчитанных в каждом опыте в камере Горяева в трёх повторностях под световым микроскопом. Продолжительность экспериментов составляла 7 суток. Установлено, что концентрации салициловой кислоты от  $2,8 \times 10^{-7}$  до  $5,6 \times 10^{-7}$  моль·л<sup>-1</sup> оказывали стимулирующее воздействие на динамику роста клеток *I. galbana* по сравнению с контрольной группой. Максимальный прирост клеток в культуре отмечен при добавлении салициловой кислоты в концентрации  $2,8 \times 10^{-7}$  моль·л<sup>-1</sup>, причём удельная скорость роста при данной концентрации на 7-е сутки эксперимента была в 1,2 раза выше, чем в контрольной группе. Проведена оценка биохимических показателей культуры водорослей *I. galbana* с добавлением салициловой кислоты в концентрации  $2,8 \times 10^{-7}$  моль·л<sup>-1</sup> в течение 7 суток эксперимента в сравнении с показателями контрольной группы. Максимальное содержание белка в экспериментальной группе зарегистрировано на 7-е сутки опыта. Увеличение составляло 76,9 % по сравнению с начальным значением. Показано, что максимальный рост содержания липидов и углеводов в экспериментальной группе приходился на 5-е сутки опыта. Прирост значений по этим показателям составлял 41,7 и 87 % соответственно. Содержание хлорофилла росло на протяжении всего времени опыта как в контрольной, так и в экспериментальной группе, при этом наибольшее значение показателя отмечено для экспериментальной группы.

**Ключевые слова:** микроводоросли, культивирование, *Isochrysis galbana*, фитогормоны, салициловая кислота

Морские микроводоросли играют фундаментальную роль в питании рыб и моллюсков, особенно в прибрежной зоне. *Isochrysis galbana* Parke, 1949 (Haptophyta) — одна из наиболее широко используемых микроводорослей в аквакультуре из-за высокого содержания в ней полиненасыщенных жирных кислот [Sánchez et al., 2013].

*I. galbana* в основном применяют для кормления личинок и ранней молоди двустворчатых моллюсков. Стадии искусственного разведения большинства личинок приходится на периоды высоких температур, что может изменять липидный состав *I. galbana* и влияет на её питательную ценность.

Получение культур со стабильным составом питательных компонентов осложняется широкой его вариативностью под влиянием способов и условий среды культивирования. Так, было отмечено, что повышение солёности с 5 до 50 г·л<sup>-1</sup> снижает продукцию общих липидов *I. galbana* в 2 раза [Cañavate et al., 2020]. В то же время увеличение времени светового режима при культивировании способствует росту выработки водорослью докозагексаеновой кислоты в 1,6 раза [Tzovenis et al., 1997].

Между тем производство культуры в открытых бассейнах нестабильно и требует оптимизации основных параметров (рН и объём культуры, газообмен, скорость потока), что в конечном счёте влияет на продуктивность фотосинтеза [Van Bergeijk et al., 2007]. Одним из способов регуляции эффективности культивирования микроводорослей и их биохимического состава является использование фитогормонов. Эти вещества рассматривают в качестве экзогенных биорегуляторов, воздействующих на устойчивость микроводорослей к факторам окружающей среды, а также на процессы биосинтеза липидов и пигментов [Романенко и др., 2016; Priyadarshani, Rath, 2012], однако влияние фитогормонов на разные виды микроводорослей может значительно различаться. Сведения о воздействии этих химических соединений различных групп на физиологические и биохимические показатели микроводорослей остаются фрагментарными, и значения зависят от их концентраций в различные фазы роста.

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. Между тем знание физиологических эффектов действия фитогормонов открывает промышленную перспективу их использования в марикультурных хозяйствах [Ковалев и др., 2021].

Целью настоящей работы было оценить влияние различных концентраций салициловой кислоты на рост и биохимический состав *I. galbana* в накопительной культуре.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали культуру микроводорослей *I. galbana* из коллекции Научно-производственного департамента марикультуры 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 ряда минеральных солей (NaNO<sub>3</sub>; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O; Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O), микроэлементов (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O; CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O; MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O; ЭДТА-Na<sub>2</sub>; FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O) и витаминов (B<sub>1</sub>; B<sub>7</sub>; B<sub>12</sub>) [Guillard, 1975]. Культуру водорослей содержали при постоянных условиях — температуре +21...+23 °С, освещённости 8–10 кЛк, фотопериоде 8 : 16 ч (свет : темнота) и периодическом перемешивании (4–5 раз в сутки).

В опытах салициловую кислоту («НеваРеактив», Россия) применяли в качестве фитогормона в четырёх концентрациях:  $2,8 \times 10^{-7}$ ;  $5,6 \times 10^{-7}$ ;  $8 \times 10^{-7}$  и  $11,2 \times 10^{-7}$  моль·л<sup>-1</sup>. *I. galbana* во время экспериментов содержали в стеклянных термостойких конических колбах объёмом 1 л. В стерильные колбы заливали 400 мл чистой фильтрованной и стерилизованной морской воды, 2 мл питательной среды и 100 мл культуры водорослей. В четыре из них в начале эксперимента был добавлен фитогормон, пятая колба была контрольной, то есть культура росла без добавления стимулятора.

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

Для определения содержания общих углеводов пробу взвеси водорослей подвергали кислотному гидролизу. При нём образовавшиеся моносахаридные единицы переходят в фурфурольные производные, формирующие при добавлении в раствор L-триптофана окрашенные комплексы, которые поглощают свет при длине волны 540 нм [Laurens et al., 2012].

Пробоподготовку для определения белка проводили согласно Герберту с соавторами [Herbert et al., 1971]. Содержание белка определяли методом Лоури [Lowry et al., 1951].

Определение общего содержания 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 [Johnson et al., 1977].

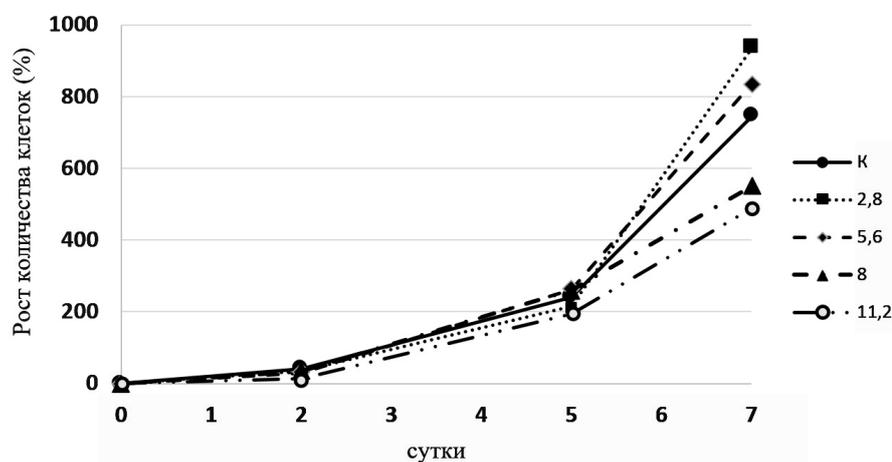
Сумму хлорофиллов выделяли методом экстракции ацетоном из предварительно замороженной биомассы водорослей [Carneiro et al., 2019]. Количественное содержание хлорофиллов определяли спектрофотометрически при длинах волн 630, 647, 664 и 750 нм. В качестве контроля использовали 90%-ный ацетон [Aminot, Ray, 2000].

Расчёт удельной скорости роста проводили по [Тренкешу, Лелеков, 2017].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Проанализировано влияние различных концентраций салициловой кислоты на динамику роста *I. galbana* в накопительной культуре.

Показано, что салициловая кислота в концентрациях от  $2,8 \times 10^{-7}$  до  $5,6 \times 10^{-7}$  моль·л<sup>-1</sup> стимулировала рост культуры. Наибольший эффект салициловая кислота оказывала при концентрации  $2,8 \times 10^{-7}$  моль·л<sup>-1</sup>: рост культуры составлял 935,4 %. Рост контрольной культуры за этот же период — 744,7 % (рис. 1). Следует отметить, что различия плотности культуры *I. galbana* контрольной группы и экспериментальной, выращиваемой при  $2,8 \times 10^{-7}$  моль·л<sup>-1</sup> салициловой кислоты, составили 190,7 %, или 1,84 млн кл.·мл<sup>-1</sup>.



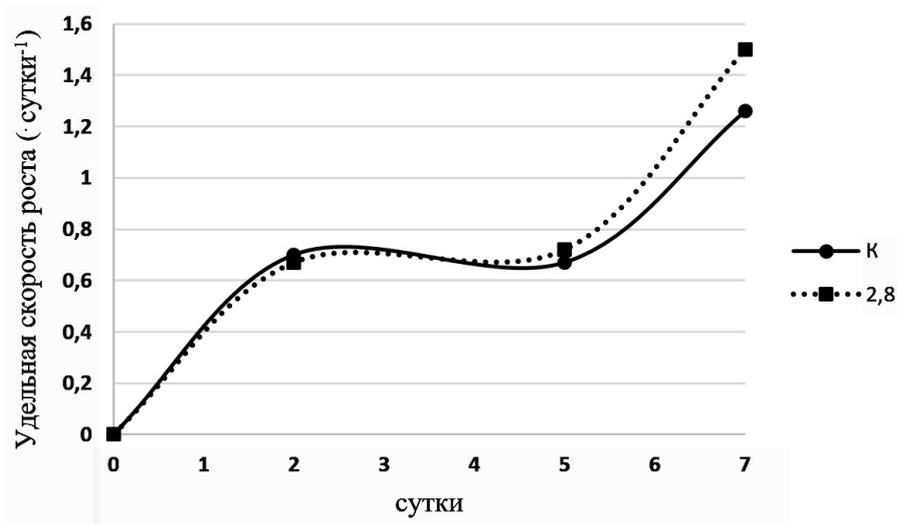
**Рис. 1.** Динамика роста культуры *Isochrysis galbana* с использованием салициловой кислоты ( $\times 10^{-7}$  моль·л<sup>-1</sup>) (К — контроль)

**Fig. 1.** Growth dynamics of *Isochrysis galbana* culture using salicylic acid ( $\times 10^{-7}$  mol·L<sup>-1</sup>) (K denotes control)

Положительные значения удельной скорости роста являются косвенным подтверждением скорости синтеза основных биохимических компонентов микроводорослей. На начальных этапах роста культур клеток исследователи отмечают изменение биохимического состава микроводорослей, тогда как в экспоненциальной фазе биохимический состав микроводорослей не меняется [Тренкешу, Лелеков, 2017].

Расчёт значений удельной скорости роста ( $\mu$ ) микроводоросли показал его линейность в первые 2 суток культивирования. Удельная скорость роста культуры в течение 5 суток культивирования с использованием салициловой кислоты в концентрации  $2,8 \times 10^{-7}$  моль·л $^{-1}$  не отличалась от таковой для контрольной группы (рис. 2).

В экспериментальной группе *I. galbana*, культивируемой с использованием салициловой кислоты в концентрации  $2,8 \times 10^{-7}$  моль·л $^{-1}$ , на 7-е сутки опыта удельная скорость роста была выше в 1,2 раза, чем в контрольной группе (рис. 2).



**Рис. 2.** Удельная скорость роста культуры *Isochrysis galbana* с использованием салициловой кислоты ( $2,8 \times 10^{-7}$  моль·л $^{-1}$ ) (К — контроль)

**Fig. 2.** Specific growth rate of *Isochrysis galbana* culture using salicylic acid ( $2.8 \times 10^{-7}$  mol·L $^{-1}$ ) (K denotes control)

В первые 5 суток культивирования в контрольной группе отмечено увеличение белка в культуре на 23 %. В экспериментальной группе с использованием салициловой кислоты содержание белка выросло на 69 %. Дальнейшее культивирование микроводоросли (до 7 суток) приводило к снижению концентрации белка в контрольной группе и к росту на 4,5 % в экспериментальной группе (табл. 1).

Динамика изменения концентрации углеводов в культуре за 5 дней культивирования схожа с динамикой изменения содержания белка. В контрольной группе отмечен рост показателя на 21,5 %, в опытной — на 87,9 %. Дальнейшее культивирование приводило к снижению концентрации углеводов в контрольной группе на 11,5 %, в опытной — на 22,9 % (табл. 1).

Проведённое исследование показало, что в процессе культивирования контрольной группы *I. galbana* содержание липидов снижалось, причём максимальное уменьшение было отмечено на 5-й день и составило 18,8 % по сравнению с содержанием липидов в стартовой культуре. Между тем в культуре *I. galbana*, выращенной с использованием салициловой кислоты, рост концентрации липидов за 5 дней составил 41,7 %; дальнейшее культивирование сопровождалось снижением показателя на 10,3 % (табл. 1).

Отмечена положительная динамика роста содержания хлорофилла в обеих группах в течение всего времени культивирования. Рост концентрации хлорофилла в контрольной группе на 5-е сутки составил 308,3 %, а на 7-е — 441,7 %. Значения для экспериментальной группы — 391,7 и 533,3 % соответственно (табл. 1).

**Таблица 1.** Влияние салициловой кислоты ( $2,8 \times 10^{-7}$  моль·л<sup>-1</sup>) на биохимические показатели *Isochrysis galbana***Table 1.** Effect of salicylic acid ( $2.8 \times 10^{-7}$  mol·L<sup>-1</sup>) on *Isochrysis galbana* biochemical parameters

Показатель	Белок, мкг·мл <sup>-1</sup>	Углеводы, мкг·мл <sup>-1</sup>	Липиды, мкг·мл <sup>-1</sup>	Хлорофилл, мкг·мл <sup>-1</sup>	Плотность культуры, млн кл.·мл <sup>-1</sup>
0 суток					
К	3,9	10,7	4,8	0,12	0,78
С					
5 суток					
К	4,8	13,0	3,9	0,49	1,64
С	6,6	20,1	6,8	0,59	2,02
7 суток					
К	4,3	11,5	4,2	0,65	1,89
С	6,9	15,5	6,1	0,76	3,73

**Примечание:** К — контроль; С — салициловая кислота.

**Note:** K denotes control; C denotes salicylic acid.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Морские микроводоросли *I. galbana* нашли широкое применение в качестве живого корма для объектов аквакультуры. Биохимический состав микроводорослей может изменяться в зависимости от условий их культивирования (фазы роста культуры, режима культивирования, температуры, освещённости, состава питательной среды и т. д.). Знание биохимического состава микроводорослей как живого корма имеет большое значение: темп роста и выживаемость личинок двустворчатых моллюсков зависят от качества корма, а оно определяется составом водорослей — содержанием белка, углеводов и липидов [Shields, Lupatsch, 2012].

Рассматриваемый вид по своим размерным и биохимическим параметрам оптимален в составе рациона питания двустворчатых моллюсков. Однако культивирование *I. galbana* в фотобиореакторных системах зависит от многих факторов и является затратным и нестабильным по количеству и качеству производимой биомассы [Табельская, Калинина, 2021; Alkhamis, Qin, 2013].

Одним из вариантов снижения производственных затрат в аквакультуре морских микроводорослей является использование сред с добавлением стимуляторов роста. Применение таких регуляторов — новая стратегия промышленного выращивания микроводорослей для улучшения показателей роста и синтеза биопродуктов.

Проведённое исследование показало, что салициловая кислота стимулировала количественный рост культуры *I. galbana* на 378 %. В то же время ранее было отмечено, что салициловая кислота в концентрации  $3,75 \times 10^{-5}$  моль·л<sup>-1</sup> стимулировала количественный рост культуры *Tetraselmis suecica* (Kyllin) Butcher, 1959 (Chlorophyta) на 415 %. Очевидно, что физиологические эффекты салициловой кислоты на микроводоросли имеют видоспецифичный характер.

В процессе эксперимента выявлен максимальный рост концентрации углеводов и липидов на 5-е сутки культивирования с применением салициловой кислоты. Между тем в ходе ранее проведённых исследований было установлено, что использование для *I. galbana* среды с внесением сельскохозяйственных удобрений и среды f/2 для культивирования приводило к снижению этих показателей в течение первых 5 дней, но к накоплению максимального количества белка [Valenzuela-Espinoza et al., 2002]. Наши работы продемонстрировали, что дальнейшее культивирование (до 7 дней) не влияет на содержание белка в культуре. Следует отметить, что ростостимулирующая концентрация салициловой кислоты снижала содержание белка и липидов в *T. suecica* при длительности культивирования 14 дней.

Липиды являются главным источником энергии в период развития личинок двустворчатых моллюсков. Для завершения метаморфоза *Magallana gigas* (Thunberg, 1793) содержание липидов в корме должно достигать определённого уровня. При кормлении спата устриц микроводорослями с высоким содержанием липидов зарегистрированы более высокие скорость роста и выживаемость личинок. Следует отметить, что в миксотрофных условиях культивирования *I. galbana* рост и количественное содержание липидов исследователи стимулировали внесением в среду глицерина в качестве дополнительного источника углерода [Danesh et al., 2019].

Содержание хлорофилла возрастало в течение всего времени культивирования *I. galbana* как в экспериментальной группе, так и в контрольной. Однако более значительный рост концентрации хлорофилла при культивировании *I. galbana* с внесением в среду салициловой кислоты свидетельствует об интенсифицирующем воздействии данного стимулятора, что, как следствие, оказывает влияние на биохимический состав биомассы микроводоросли.

Производные салициловой кислоты также являются стимуляторами биохимических процессов у микроводоросли. Так, Мадани с соавторами [Madani et al., 2020] показано, что 2,4-дихлоруксусная кислота в концентрации  $2 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$  значительно увеличивает содержание белка и полиненасыщенных жирных кислот в *I. galbana*.

Данные этих же авторов [Madani et al., 2021] свидетельствуют об эффективности улучшения роста *I. galbana* при использовании гиббереллиновой кислоты в концентрации  $4 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ . При этом было отмечено, что увеличение концентрации фитогормона с 2 до  $6 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$  приводило к увеличению содержания липидов, но к снижению содержания углеводов в пересчёте на сухую массу водоросли. Концентрация хлорофилла не изменялась.

Проведённое исследование показало, что максимальное содержание белков, липидов и углеводов отмечено при культивировании *I. galbana* с присутствием в среде  $2,8 \times 10^{-7}$  моль·л<sup>-1</sup> салициловой кислоты на 5-е сутки. Полученные результаты могут иметь практическое значение при их промышленном применении — для оптимизации культивирования микроводоросли для целей марикультуры.

#### Выводы:

1. Оценено влияние различных концентраций салициловой кислоты на ростовые и биохимические показатели миксотрофной культуры *Isochrysis galbana*. Салициловая кислота в концентрации от  $2,8 \times 10^{-7}$  до  $5,6 \times 10^{-7}$  моль·л<sup>-1</sup> стимулировала количественный рост клеток микроводоросли, а в концентрациях больше  $8,0 \times 10^{-7}$  моль·л<sup>-1</sup> — угнетала.
2. Эффективная концентрация салициловой кислоты ( $2,8 \times 10^{-7}$  моль·л<sup>-1</sup>) стимулировала накопление белка в культуре на 23 %, углеводов на 87,9 % и липидов на 41,7 % на 5-й день культивирования.
3. Культивирование *I. galbana* более 5 дней сопровождалось снижением показателей биохимического состава. Это необходимо учитывать при использовании микроводоросли в качестве корма при культивировании беспозвоночных.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 121031300015-5.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. 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. [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 Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: Rybnoe khozyaystvo*. 2021. № 1. С. 90–99.]

- Rybnoe khozyaistvo*, 2021, no. 1, pp. 90–99. (in Russ.]. <https://doi.org/10.24143/2073-5529-2021-1-90-99>
2. 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. [Romanenko E. A., Kosakovskaya I. V., Romanenko P. A. Phytohormones of microalgae: Biological role and involvement in the regulation of physiological processes. Pt. II. Cytokinins and gibberellins. *Algologiya*, 2016, vol. 26, no. 2, pp. 203–229. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v18.i2.70>
  3. Табельская А. С., Калинина М. В. Рост и выживаемость заводских личинок тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* при различных концентрациях микроводорослей и солёности в условиях южного Приморья // *Известия ТИИРО*. 2021. Т. 201, № 3. С. 723–731. [Tabelskaya A. S., Kalinina M. V. Growth and survival of the hatchery larvae of Pacific oyster *Crassostrea gigas* under different concentrations of microalgae and salinity in conditions of southern Primorye. *Izvestiya TINRO*, 2021, vol. 201, no. 3, pp. 723–731. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.26428/1606-9919-2021-201-723-734>
  4. Тренкешу Р. П., Лелеков А. С. *Моделирование роста микроводорослей в культуре*. Белгород : Константа, 2017. 152 с. [Trenkeshu R. P., Lelekov A. S. *Modeling Growth of Microalgae in Culture*. Belgorod : Constanta, 2017, 152 p. (in Russ.)]. URL: <https://repository.marine-research.ru/handle/299011/2073>
  5. Alkhamis Y., Qin J. G. Cultivation of *Isochrysis galbana* in phototrophic, heterotrophic, and mixotrophic conditions. *BioMed Research International*, 2013, vol. 2013, art. no. 983465 (9 p). <https://doi.org/10.1155/2013/983465>
  6. Aminot A., Ray F. *Standard Procedure for the Determination of Chlorophyll a by Spectroscopic Methods*. Copenhagen, Denmark : International Council for the Exploration of the Sea, 2000, 17 p. (ICES Techniques in Marine Environmental Sciences).
  7. Cañavate J.-P., Hachero-Cruzado I., Pérez-Gavilán C., Fernández-Díaz C. Lipid dynamics and nutritional value of the estuarine strain *Isochrysis galbana* VLP grown from hypo to hyper salinity. *Journal of Applied Phycology*, 2020, vol. 32, iss. 6, pp. 3749–3766. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02258-2>
  8. Carneiro M., Pôjo V., Malcata F. X., Otero A. Lipid accumulation in selected *Tetraselmis* strains. *Journal of Applied Phycology*, 2019, vol. 31, iss. 5, pp. 2845–2853. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01807-8>
  9. Danesh A., Zilouei H., Farhadian O. The effect of glycerol and carbonate on the growth and lipid production of *Isochrysis galbana* under different cultivation modes. *Journal of Applied Phycology*, 2019, vol. 31, iss. 6, pp. 3411–3420. <https://doi.org/10.1007/s10811-019-01888-5>
  10. Guillard R. R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: *Culture of Marine Invertebrate Animals* / M. L. Smith, M. H. Chanley (Eds). New York ; London : Plenum Press, 1975, pp. 29–60. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8714-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8714-9_3)
  11. Herbert D., Phipps P. J., Strange R. E. Chemical analysis of microbial cells. In: *Methods in Microbiology* / J. R. Norris, D. W. Ribbons (Eds). London ; New York : Academic Press, 1971, vol. 5, pt. B, chap. 3, pp. 209–344. [http://dx.doi.org/10.1016/S0580-9517\(08\)70641-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70641-X)
  12. Johnson K. R., Ellis G., Toothill C. The sulfophosphovanillin reaction for serum lipids: A reappraisal. *Clinical Chemistry*, 1977, vol. 23, iss. 9, pp. 1669–1678. <https://doi.org/10.1093/CLINCHEM%2F23.9.1669>
  13. Laurens L. M. L., Dempster T. A., Jones H. D. T., Wolfrum E. J., Van Wychen S., 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. *Analytical Chemistry*, 2012, vol. 84, iss. 4, pp. 1879–1887. <https://doi.org/10.1021/ac202668c>
  14. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 1951, vol. 193, iss. 1, pp. 265–275. [http://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](http://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)
  15. Madani N. S. H., Hosseini Shekarabi S. P., Mehrgan M. S., Pourang N. Can 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid alter growth performance, biochemical composition, and fatty acid profile of the marine microalga *Isochrysis galbana*?

- Phycologia*, 2020, vol. 59, iss. 6, pp. 598–605. <https://doi.org/10.1080/00318884.2020.1827826>
16. Madani N. S. H., Shamsaie Mehrgan M., Hosseini Shekarabi S. P., Pourang N. Regulatory effect of gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) on the biomass productivity and some metabolites of a marine microalga, *Isochrysis galbana*. *Journal of Applied Phycology*, 2021, vol. 33, iss. 1, pp. 255–262. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02291-1>
  17. Priyadarshani I., Rath B. Commercial and industrial applications of microalgae – A review. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 2012, vol. 3, no. 4, pp. 89–100.
  18. Sánchez Á., Maceiras R., Cancela Á., Pérez A. Culture aspects of *Isochrysis galbana* for biodiesel production. *Applied Energy*, 2013, vol. 101, pp. 192–197. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.03.027>
  19. Shields R. J., Lupatsch I. Algae for aquaculture and animal feeds. *Technikfolgenabschätzung – Theorie und Praxis*, 2012, vol. 21, no. 1, pp. 23–37.
  20. Tzovenis I., De Pauw N., Sorgeloos P. Effect of different light regimes on the docosahexaenoic acid (DHA) content of *Isochrysis* aff. *galbana* (clone T-ISO). *Aquaculture International*, 1997, vol. 5, iss. 6, pp. 489–507. <https://doi.org/10.1023/A:1018349131522>
  21. Valenzuela-Espinoza E., Millán-Núñez R., Núñez-Cebrero F. Protein, carbohydrate, lipid and chlorophyll *a* content in *Isochrysis* aff. *galbana* (clone T-Iso) cultured with a low cost alternative to the f/2 medium. *Aquacultural Engineering*, 2002, vol. 25, iss. 4, pp. 207–216. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(01\)00084-X](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(01)00084-X)
  22. Van Bergeijk S. A., Salas-Leiton E., Cañavate J. P. Production of *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso) in outdoor tubular photobioreactors. 7<sup>th</sup> European Workshop “Biotechnology of Microalgae”, June 11–13, 2007, Nuthetal, Germany. [S. 1.] : [S. n.], 2007, pp. 68–72.

## GROWTH OF *ISOCHRYSIS GALBANA* PARKE, 1949 (HAPTOPHYTA) UNDER MIXOTROPHIC CONDITIONS USING SALICYLIC ACID

N. N. Kovalev, S. E. Leskova, and E. V. Mikheev

Far Eastern State Technical Fisheries University, Vladivostok, Russian Federation

E-mail: [kovalevnn61@yandex.ru](mailto:kovalevnn61@yandex.ru)

The effect of salicylic acid at different concentrations on growth dynamics of *Isochrysis galbana* Parke, 1949 in the batch culture was estimated. The cultivation was carried out in monoculture. The rise in algal biomass was evaluated by an increase in cell abundance (cells were counted in each experiment in the Goryaev chamber in triplicate under a light microscope). The experiments lasted for 7 days. As found, salicylic acid at concentrations from  $2.8 \times 10^{-7}$  to  $5.6 \times 10^{-7}$  mol·L<sup>-1</sup> had a stimulating effect on the growth dynamics of *I. galbana* cells, compared with the control group. The maximum cell growth in culture was recorded with the addition of  $2.8 \times 10^{-7}$  mol·L<sup>-1</sup> of salicylic acid, and the specific growth rate at a given concentration on the 7<sup>th</sup> day of the experiment was 1.2 times higher than in the control group. Biochemical parameters of *I. galbana* culture with salicylic acid added ( $2.8 \times 10^{-7}$  mol·L<sup>-1</sup>) during 7 days of the experiment were estimated in comparison with parameters of the control group. In the experimental group, the maximum protein content was noted on the 7<sup>th</sup> day of the experiment. A rise was 76.9% compared to the initial value. As shown, the maximum increase in the content of lipids and carbohydrates in the experimental group occurred on the 5<sup>th</sup> day. A rise in the values of these indicators was 41.7 and 87%, respectively. Chlorophyll content increased throughout the entire experiment both in the control and experimental groups, and the highest value was registered for the experimental group.

**Keywords:** microalgae, cultivation, *Isochrysis galbana*, phytohormones, salicylic acid