

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ



Дальневосточный государственный технический
рыбохозяйственный университет

**ИННОВАЦИОННОЕ РАЗВИТИЕ РЫБНОЙ
ОТРАСЛИ В КОНТЕКСТЕ ОБЕСПЕЧЕНИЯ
ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Материалы VIII Национальной
научно-технической конференции**

(Владивосток, 24 октября 2024 года)

Электронное издание

Владивосток
Дальрыбвтуз
2024

УДК 639.2+338.439
ББК 65.35+65.5
И66

Организационный комитет конференции:

Председатель – Жук Татьяна Алексеевна, канд. физ.-мат. наук, доцент, врио ректора ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз».

Зам. председателя – Шестак Ольга Игоревна, канд. ист. наук, доцент, начальник научного управления ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз».

Секретарь – Образцова Елизавета Юрьевна, главный специалист научного управления

Адрес оргкомитета конференции:

690087, г. Владивосток
ул. Луговая, 52б
Дальневосточный государственный технический
рыбохозяйственный университет
Тел./факс: 8 (423) 2-44-11-76
[http:// www.conf.dalrybvtuz.ru](http://www.conf.dalrybvtuz.ru)
e-mail: dalrybvtuz-conf@mail.ru

И66 **Инновационное развитие рыбной отрасли в контексте обеспечения продовольственной безопасности Российской Федерации** : материалы VIII Нац. науч.-техн. конф. [Электронный ресурс]. – Электрон. дан. (32,5 Mb). – Владивосток : Дальрыбвтуз, 2024. – 336 с. – Систем. требования : PC не ниже класса Pentium I ; 128 Mb RAM ; Windows 98/XP/7/8/10 ; Adobe Reader V8.0 и выше. – Загл. с экрана.
ISBN 978-5-88871-791-2

Приведенные материалы охватывают широкий спектр инновационного развития рыбной отрасли, рациональной эксплуатации биоресурсов Мирового океана, производства продуктов из водных биологических ресурсов, совершенствования техники, технологии продуктов питания и управления качеством, а также эксплуатацию водного транспорта и безопасность мореплавания, гуманитарные и социально-экономические аспекты развития рыбной отрасли.

Представлены результаты научных исследований ученых Дальрыбвтуза и других вузов России.

УДК 639.2+338.439
ББК 65.35+65.5

ISBN 978-5-88871-791-2

© Дальневосточный государственный
технический рыбохозяйственный
университет, 2024

УДК 639.64

Евгений Валерьевич Михеев

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, старший научный сотрудник НИИ инновационных биотехнологий, Россия, Владивосток, e-mail: zhenyasuper79@mail.ru, ORCID: 0000-0003-3433-5653

Николай Николаевич Ковалев

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, доктор биологических наук, главный научный сотрудник НИИ инновационных биотехнологий, Россия, Владивосток, e-mail: kovalevnn61@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-7100-7208

Светлана Евгеньевна Лескова

Дальневосточный федеральный университет, доцент кафедры биоразнообразия и морских биоресурсов Института Мирового океана, e-mail: svetaleskova@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7058-3449

**Оценка комбинированного действия фитогормонов на рост
и биохимические показатели *Tetraselmis suecica***

Аннотация. Целью исследования являлась оценка сочетанного действия фитогормонов различной химической природы с целью увеличения роста биомассы и качественного состава кормовой микроводоросли *Tetraselmis suecica*. Дизайн эксперимента включал оценку влияния в период 0–7 дней салициловой кислоты и в период 7–14 дней индолуксусной кислоты. Прирост плотности культуры за этот период составил 714 и 531 % для контрольной и опытной групп соответственно. Суммарный эффект влияния двух фитогормонов был выражен в незначительной стимуляции деления клеток и удельной скорости их роста. Комбинированное действие фитогормонов не оказывает значительного влияния на биохимический состав микроводоросли.

Ключевые слова: микроводоросли, культивирование, салициловая кислота, индолуксусная кислота, стимуляторы роста, константы роста, химический состав

Evgeny V. Mikheev

Far Eastern State Technical Fisheries University, Senior Researcher, Research Institute of Innovative Biotechnologies, Russia, Vladivostok, e-mail: zhenyasuper79@mail.ru, ORCID: 0000-0003-3433-5653

Nikolay N. Kovalev

Far Eastern State Technical Fisheries University, Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher, Research Institute of Innovative Biotechnologies, Russia, Vladivostok, e-mail: kovalevnn61@yandex.ru, ORCID: 0000-0001-7100-7208

Svetlana E. Leskova

Far Eastern Federal University, Associate Professor, Department of Biodiversity and Marine Bioresources of the IWO, e-mail: svetaleskova@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7058-3449

**Evaluation of phytohormones combined effect on growth
and biochemical parameters of *Tetraselmis suecica***

Abstract. The aim of the study was to evaluate the combined effect of different chemical nature phytohormones to increase biomass growth and quality composition of the forage micro-

alga *Tetraselmis suecica*. The design of the experiment included evaluation of the effect during the period 0-7 days of salicylic acid and during the period 7-14 days of indole acetic acid. The increase in culture density during this period was 714 and 531% for the control and experimental groups, respectively. The total effect of the influence of two phytohormones was expressed in a non-significant stimulation of cell division and specific rate of cell growth. The combined effect of phytohormones without significantly affecting the biochemical composition of microalgae.

Keywords: Microalgae, cultivation, salicylic acid, indole acetic acid, growth stimulants, growth constants, chemical composition

Современные направления исследований биомассы микроводорослей перешли от интереса к биотопливу, к пищевым добавкам, устойчивому производству биомассы микроводорослей, биоудобрениям и биоремедиации воды, почвы и воздуха [1, 2].

В последние годы ведутся исследования по использованию экзогенных растительных гормонов для противостояния окислительному стрессу, вызванному условиями окружающей среды, а также для улучшения роста клеток микроводорослей и накопления энергоаккумулирующих веществ.

Гормоны растений влияют на растения различными способами, включая дополнение, синергизм или антагонизм, и их влияние зависит от количества гормона, часто в очень малых концентрациях [3].

Комбинированное использование нескольких растительных гормонов может сбалансировать негативные эффекты отдельных растительных гормонов и принести дополнительные преимущества. Так, было показано, что добавление в двухфазную культуру 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты и абсцизовой кислоты позволило увеличить биомассу и содержание липидов у *Phaeodactylum tricornutum*. Сочетание экзогенных фитогормонов и абиотических стрессовых условий может одновременно увеличить биомассу микроводорослей и выработку энергоаккумулирующих веществ.

Целью исследования являлась оценка сочетанного действия фитогормонов различной химической природы с целью увеличения роста биомассы и качественного состава кормовой микроводоросли *Tetraselmis suecica*.

Материалы и методы

В работе использовали культуру микроводорослей *Tetraselmis* из коллекции НПДМ ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз». Водоросль выращивали в накопительном режиме на питательной среде f/2. Определение продукционных характеристик микроводоросли проводили, используя в качестве значений биомассы плотность культуры в 1 мл инкубационной среды [4]. Общее содержание углеводов оценивали методом кислотного гидролиза проб взвеси водорослей [5]. Пробоподготовку для определения белка проводили согласно [6]. Определение содержания белка проводили методом Лоури [7]. Общее содержание липидов определяли методом, в основе которого лежит цветная реакция ванилина в кислой среде с липидами [8]. Сумму хлорофиллов выделяли методом экстракции ацетоном из предварительно замороженной биомассы водорослей [9]. Расчет скорости роста популяции (R), количества делений в сутки (K) и времени удвоения популяции (T₂) производили, как указано в [10]. В качестве фитогормонов использовали салициловую (СК) и индолил-3-уксусную (ИУК) кислоты (Hebei Guanlang Biotechnology Co., Ltd, China).

Расчет продуктивности проксимального состава определяли, как описано в [11], отнесенную на 1 млн клеток культуры.

Результаты и обсуждение

Дизайн эксперимента включал оценку влияния в период 0–7 дней салициловой кислоты и в период 7–14 дней индол-уксусной кислоты. Концентрации вносимых в культуральную среду фитогормонов выбраны на основании ранее проведенных исследований [12, 13, 14].

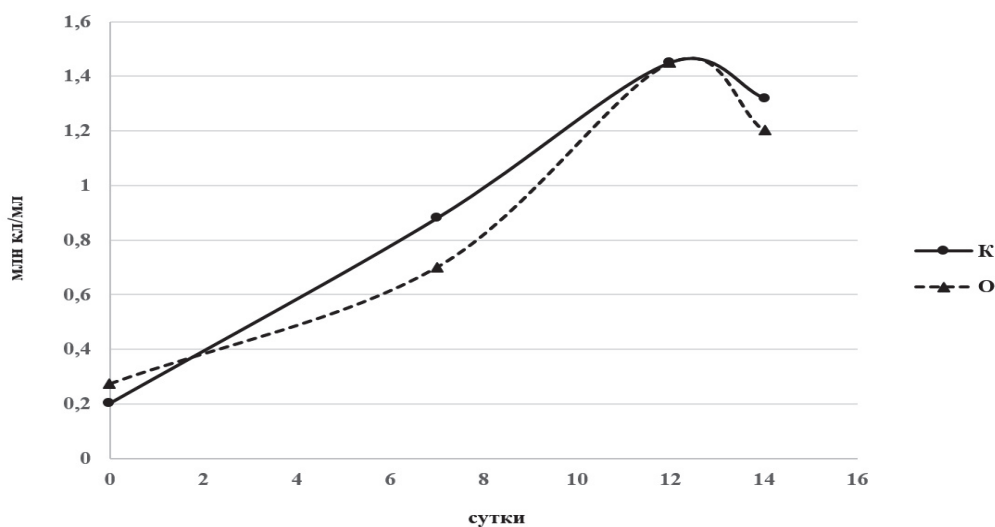


Рисунок 1 – Динамика плотности культуры *T. suescisa* под влиянием двух фитогормонов

Проведенным исследованием установлено, что как контрольная культура (без внесения фитогормонов), так и опытная культура показывают экспоненциальный рост в течение 12 дней культивирования. Прирост плотности культуры за этот период составил 714 и 531 % для контрольной и опытной групп соответственно. Конечная плотность культуры на 12-й день культивирования составила 1,45 млн кл/мл.

Таблица 1 – Константы роста культуры *T. suescisa* в контрольной и опытной группах

	Период, сутки	R (сутки ⁻¹)	К	T2
К	0-7	0,21	0,30	3,30
	7-12	0,1	0,14	6,93
	0-12	0,16	0,24	4,23
О	0-7	0,14	0,19	4,95
	7-12	0,15	0,21	4,62
	0-12	0,14	0,20	4,99

Анализ приведенных в табл. 1 данных показывает, что введение в культуральную среду салициловой кислоты (период 0–7 дней культивирования) приводит к 1,5-кратному уменьшению количества делений клеток в день и, как следствие, снижению удельной скорости роста культуры. При этом время удвоения популяции *T. suescisa* к опытной культуре увеличивается в 1,5 раза.

Дальнейшее культивирование *T. suescisa* с добавлением индол-уксусной кислоты (период 7–12-е сутки) оказывает стимулирующее влияние на удельную скорость роста культуры и количество делений клеток в день. Результирующим эффектом влияния фитогормонов является уменьшение времени удвоения популяции опытной культуры в 1,4 раза, по сравнению с контролем.

Суммарный эффект влияния двух фитогормонов (0–12-е сутки культивирования) был выражен в незначительной стимуляции деления клеток и удельной скорости их роста. Однако стимулирующий эффект практически не оказывал влияния на время удвоения популяции культуры, что подтверждается одинаковым значением плотности культуры на 12-й день культивирования.

Проведено определение динамики биохимического состава культуры *T. suescisa* под действием двух фитогормонов. Для унификации полученных данных количественное значение полученных характеристик выражали на 1 млн клеток культуры.

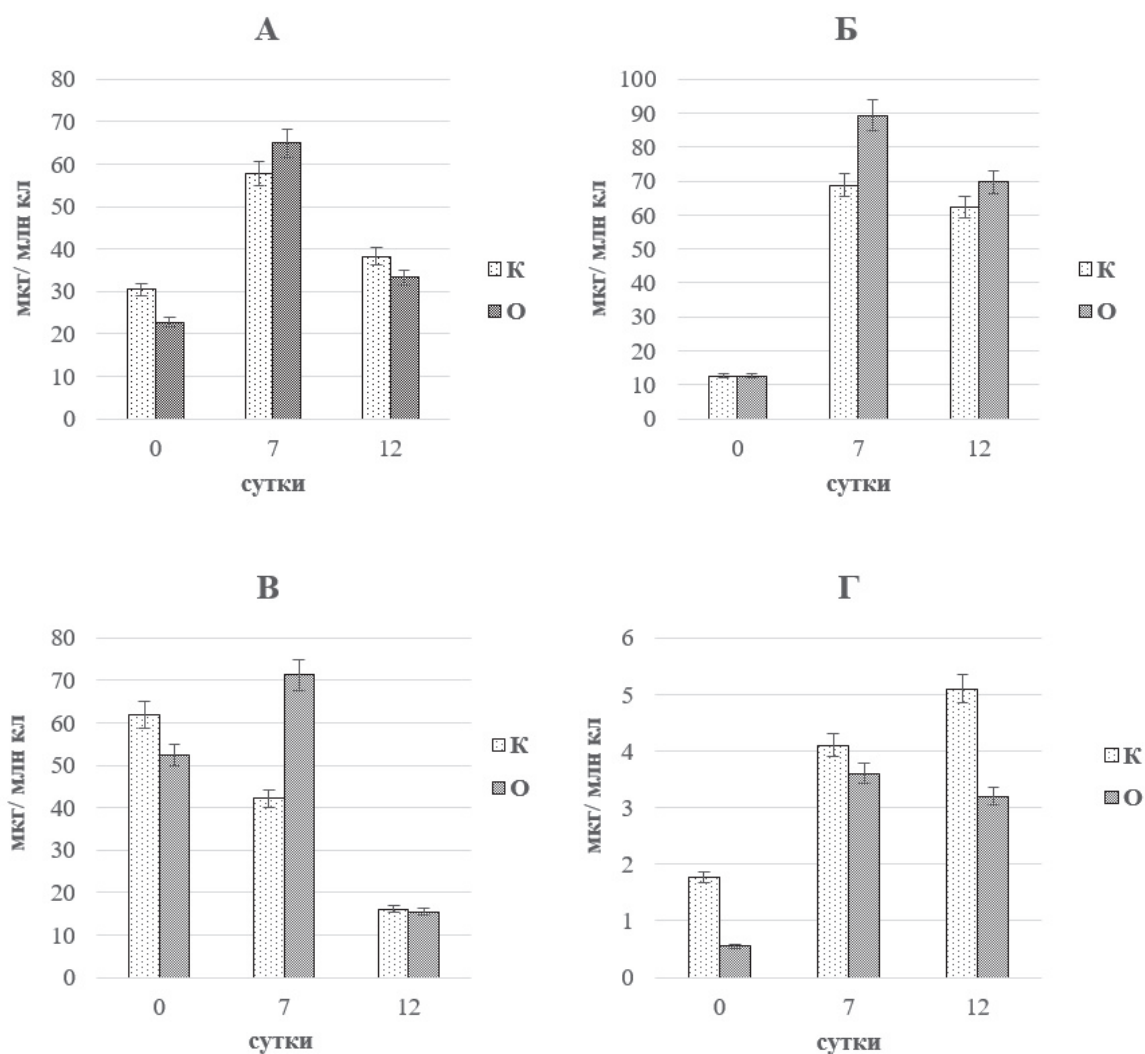


Рисунок 2 – Динамика показателей химического состава (А – белок, Б – углеводы, В – липиды, Г – хлорофилл) контрольной (К) и опытной (О) культур *T. suecica* в двух фазной культуре

Представленные на рис. 2 данные показывают, положительное влияние салициловой кислоты на накопление белка в опытной культуре. За 7 дней культивирования прирост концентрации белка составил 286 %. За этот же период в контрольной группе прирост концентрации белка составил 190 %. В то же время на 7-й день культивирования не выявлено достоверных различий по концентрации белка в двух исследованных группах. Номинальная разница в концентрации белка составила 7,05 мкг/млн кл.

Внесение в культуру ИУК сопровождалось значительным снижением концентрации белка на 12-й день культивирования. Для контрольной группы микроводоросли снижение концентрации белка составило 33,8 %, для опытной группы – 48,7 %.

Таким образом, проведенное исследование подтвердило белок стимулирующую функцию салициловой кислоты на рост культуры *T. suecica* и ингибирующий эффект ИУК.

Установлен положительный эффект влияния салициловой кислоты (0-7-е сутки культивирования) на накопление углеводов в культуре микроводоросли. Для контрольной группы прирост концентрации углеводов составил 547,7 %. Под действием фитогормона концентрация углеводов в опытной группе была достоверно выше по сравнению с контролем. Рост содержания углеводов за 7 суток культивирования составил 708,2 %.

Введение в культуру ИУК практически не оказывала влияния на концентрацию углеводов в контрольной группе. В то же время на 12-е сутки культивирования концентрация углеводов в опытной группе снижалась на 22 %.

Таким образом, установлено положительное влияние салициловой кислоты на накопление углеводов культурой *T. suecica*. Комбинированное воздействие фитогормонов оказывало ингибирующее влияние на синтез углеводов культурой.

Анализ динамики содержания липидов в культуре *T. suecica* показывает, что на 7-е сутки культивирования концентрация липидов снижается в 1,5 раза. В то же время в опытной группе под влиянием салициловой кислоты концентрация липидов на 7-е сутки культивирования возрастает на 35,9 % по сравнению с исходными значениями.

Динамика концентрации липидов в контрольной культуре на 12-е сутки культивирования показывает дальнейшее снижение их концентрации до значений 16,1 мкм/млн кл.

Экспериментально установлен факт резкого снижения концентрации липидов на 12-е сутки культивирования при внесении ИУК в опытной группе. Снижение концентрации липидов составило 78,4 %, по сравнению со значениями на 7-е сутки культивирования.

Метаболическая активность фотосинтезирующих организмов во многом определяется количественным содержанием пигментов. Проведено определение концентрации суммы хлорофиллов в культуре *T. suecica* под влиянием действия двух фитогормонов.

Проведенным исследованием установлено, что концентрация хлорофилла в контрольной культуре *T. suecica* возрастала в течение всего времени эксперимента и составила 288 % по сравнению с началом эксперимента. В опытной группе за 7 суток эксперимента, под влиянием салициловой кислоты, концентрация хлорофилла увеличилась на 654,5 %. На 12-е сутки эксперимента концентрация хлорофилла практически не изменилась и составила 3,2 мкг/млн кл.

Таким образом, проведенным экспериментом установлено положительное влияние салициловой кислоты на концентрацию хлорофилла в культуре *T. suecica* и отсутствие влияния под действием ИУК.

Оценка эффективности метаболических путей по величине констант продуктивности (табл. 2) показывает, что основным направлением метаболизма у *T. suecica* в процессе культивирования является биосинтез белка и углеводов как пластических материалов.

Таблица 2 – Константы продуктивности основных компонентов состава *T. suecica* под влиянием двух фитогормонов

Сутки		Белок	Углеводы	Липиды
0	К	0,04	0,08	0,09
	О	0,05	0,1	0,12
7	К	0,3	0,36	0,22
	О	0,2	0,28	0,22
12	К	0,48	0,77	0,20
	О	0,41	0,85	0,19

Суммарный эффект влияния двух фитогормонов (опытная группа) не изменяет основной тренд биохимического синтеза микроводоросли, но снижает интенсивность метаболизма, о чем свидетельствует динамика констант продуктивности.

Таким образом, проведенное исследование показало, что использование эффективных концентраций салициловой кислоты и ИУК оказывает влияние на константы скорости роста *T. suecica* в накопительной культуре, не оказывая значительного влияния на биохимический состав микроводоросли.

Библиографический список

1. Vazquez-Romero B., Perales J.A., Vree J.H., Bopple H.; Steinrucken P. Barbosa M.J., Kleinegris D.M.M., Ruiz, J. Techno-economic analysis of microalgae production for aquafeed in Norway // *Algal Research*. 2022. Vol. 64. P. 102679.

2. Osorio-Reyes J.G., Valenzuela-Amaro H.M., Pizana-Aranda J., Ramirez-Gamboa D., Melendez-Sanchez E.R., Lopez-Arellanes M.E., Castaneda D., Coronado K.G., Araujo R., Sosa-Hernandez J.E., Melchor-Martinez E., Iqbal H., Para R., Martinez, M. Microalgae-based biotechnology as alternative biofertilizers for soil enhancement and carbon footprint reduction: Advantages and Implications // *Marine Drugs*. 2023. Vol. 21. P. 93.
3. Gorka. B., Wiczorek P.P. Simultaneous determination of nine phytohormones in seaweed and algae extracts by HPLC- PDA // *Journal of Chromatography B*. 2017. Vol. 1057. P. 32–39.
4. Cuellar-Bermudez S.P., Garcia-Perez J.S., Rittmann B.E., Parra- Saldivar R. Photosynthetic bioenergy utilizing CO₂: an approach on flue gases utilization for third generation biofuels // *Journal of Cleaner Production*. 2015. Vol. 98. P. 53–65.
5. 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.
6. Herbert D., Phipps P. J., Strange R. E. Chemical analysis of microbial cells // *Methods in Microbiology*. 1971. № 5. P. 209–344.
7. Lowry O., Rosenbrougt N., Parr A., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent // *Journal of Biological Chemistry*. 1951. Vol. 193, № 1. P. 265–276.
8. Johnson K.R., Ellis G., Toothill C. The sulfophosphovanilin reaction for serum lipids: a reappraisal // *Clinical Chemistry*. 1977. Vol. 23. P. 1669–1673.
9. 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.
10. 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.
11. Cuellar-Bermudez S.P., Garcia-Perez J.S., Rittmann B.E. & Parra- Saldivar R. 2015. Photosynthetic bioenergy utilizing CO₂: an approach on flue gases utilization for third generation biofuels. *Journal of Cleaner Production* 98: 53–65.
12. 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 АГТУ*. 2021. № 1. С. 90–99.
13. Kovalev N.N., Leskova S.E., Mikheev E.V. Comparative assessment of the effect of gibberellic and salicylic acids on the growth and biochemical parameters of *Phaeodactylum tricoratum* // *Indonesian Aquaculture Journal*. 2023. Vol. 18, № 1. P. 37–44.
14. Ковалев Н.Н., Лескова С.Е., Михеев Е.В. Влияние фитогормонов ауксинового ряда на рост и биохимический состав *Phaeodactylum tricoratum* Bohlin, 1897 // *Вестник Астраханского государственного технического университета. Серия: Рыбное хозяйство*. 2023. № 3. С. 97–105.