

---

---

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

---

---

УДК 586.6:581.1

## РОСТ ПОПУЛЯЦИИ МИКРОВОДОРОСЛИ *TISOCHRYYSIS LUTEA* (НАРТОРНУТА) И СОДЕРЖАНИЕ КАРОТИНОИДОВ И НЕЙТРАЛЬНЫХ ЛИПИДОВ ПРИ РАЗНОЙ ОСВЕЩЕННОСТИ В УСЛОВИЯХ ПАНЕЛЬНОГО БИОРЕАКТОРА

© 2025 г. Ж. В. Маркина\* (ORCID: 0000-0001-7135-1375),  
А. А. Зинов (ORCID: 0000-0003-4705-5941)

Национальный научный центр морской биологии  
им. А.В. Жирмунского (ННЦМБ) ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия

\*e-mail: zhannav@mail.ru

Поступила в редакцию 24.07.2024 г.

После доработки 14.11.2024 г.

Принята к публикации 27.11.2024 г.

Исследовано действие освещенности (10, 30, 50 и 70 мкмоль/м<sup>2</sup>/с) на микроводоросль *Tisochrysis lutea* (Haptophyta) в условиях панельного биореактора объемом 1.8 л на примере 5 Lux – LED flat panel (Infors HT, Швейцария) в течение 14 сут. Показано, что наиболее интенсивный рост популяции микроводоросли происходил при освещенности 30 и 50 мкмоль/м<sup>2</sup>/с. При 10 мкмоль/м<sup>2</sup>/с рост популяции полностью подавлялся. Независимо от интенсивности света, в популяции водоросли после семи суток преобладали клетки размером более 4 мкм. Содержание каротиноидов при освещенности 10 и 70 мкмоль/м<sup>2</sup>/с было наибольшим на седьмые сутки. Соотношение хлорофилл *a*/каротиноиды уменьшалось к концу опыта во всех экспериментах. Наибольшее количество нейтральных липидов в клетках отмечено при 10 мкмоль/м<sup>2</sup>/с.

**Ключевые слова:** *Tisochrysis lutea*, освещенность, биореактор, каротиноиды, нейтральные липиды

**DOI:** 10.31857/S0134347525010025

Микроводоросли – важные объекты биотехнологии. Одной из массово выращиваемых микроводорослей является *Tisochrysis lutea* (Haptophyta). В ней содержится большое количество жирных кислот, например, докозагексеновой и эйкозапентаеновой, а также каротиноида фукоксантина (Mohamadnia et al., 2020). Употребление препаратов на основе данного вида рекомендовано пациентам с нарушением липидного и углеводного обменов, ожирением (Bigagly et al., 2018; Mayer et al., 2021). Известна противораковая, в том числе противометастатическая, активность фукоксантина (Alkhamis, Qin, 2016). Кроме того, есть данные об антибактериальных свойствах метаболитов водоросли (Iglesias et al., 2019). *T. lutea* также является источником фитостеролов, потребление

которых может снижать риск сердечных заболеваний (Randhir et al., 2020). Благодаря своему жирнокислотному составу и высокому содержанию липидов *T. lutea* является ценным кормом для личинок устриц в аквакультуре (da Costa et al., 2016; Leal et al., 2020). Эта водоросль обладает не только интенсивным темпом роста, но и высокой экологической пластичностью, что позволяет использовать широкий спектр условий культивирования (Mulders et al., 2013; Alkhamis, Qin, 2016; Ren et al., 2021).

Изменяя факторы среды, можно воздействовать на синтез необходимых веществ микроводорослей. Например, увеличения синтеза жирных кислот и каротиноида фукоксантина можно добиться за счет высокой концентрации железа в среде (Liu, Wang, 2014), создания

миксотрофных условий (Alkhamis, Qin, 2016), лимитирования содержания азота, фосфора и серы (Mulders et al., 2013; Huang et al., 2019), варьирования соотношения азот : фосфор (Rasdi, Qin, 2015), высокого уровня солености (Ren et al., 2021). При важности всех перечисленных факторов, первостепенным для растительного организма является свет. В связи с этим большое количество работ выполнено по оценке влияния данного фактора на рост одноклеточных водорослей, а также содержание каротиноидов и липидов (Maltsev et al., 2021). Однако во многих случаях объектами исследования являлись представители отдела Chlorophyta.

В связи с вышеизложенным, цель настоящей работы заключалась в исследовании влияния света различной интенсивности на динамику численности и размер клеток, содержание суммы каротиноидов и нейтральных липидов гаптофитовой водоросли *T. lutea*, выращенной в биореакторе панельного типа.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объектом исследования служила культура одноклеточной водоросли *Tisochrysis lutea* (Haptophyta) – штамм MBRU\_Tiso-08 из коллекции микроводорослей ресурсного центра “Морской биобанк” ННЦМБ ДВО РАН (<http://marbank.dvo.ru>). Анализ литературных данных показал, что рост и биохимический анализ *T. lutea* в биореакторах были исследованы неоднократно. Большинство этих работ были проведены в биоректорах панельного типа (Ippoliti et al., 2016; Beuzenberg et al., 2017; Delbrut et al., 2018). В нашем исследовании впервые изучено действие света различной интенсивности на водоросль *T. lutea*, выделенную из российских вод Японского моря. В качестве инокулята использовали культуру на экспоненциальной стадии роста. Продолжительность экспериментов составляла 14 сут.

Водоросль выращивали на среде *f* (Guillard, Ryther, 1962), приготовленной на основе фильтрованной и стерилизованной морской воды соленостью 32‰ в биореакторе Labfors 5 Lux (Infors HT, Швейцария) в режиме накопительной культуры.

Температура воды составляла 20°C, интенсивность освещения – 10, 30, 50 и 70 мкмоль/м<sup>2</sup>/с.

Известно, что наиболее эффективные длины волн для фотосинтеза лежат в диапазоне 600–700 нм, LED-лампы излучают свет 650 нм (Chowdury et al., 2020). Свето-температурой период составлял 12 ч свет : 12 ч темнота, скорость подачи воздуха – 0.2 л/мин. Ранее нами был проведен ряд экспериментов без использования аэрации, однако водоросли оседали на дно,слипались и погибали в первые–вторые сутки. В биореакторах для аэрирования также используют углекислый газ, он является дополнительным источником углерода (Mata et al., 2010). В настоящей работе для аэрирования использован воздух, чтобы не вносить дополнительные факторы при исследовании воздействия света разной интенсивности.

Объем колбы биореактора составлял 1.8 л, толщина слоя суспензии в панели – 45 мм. Материалом рабочей колбы биореактора Labforce 5 (Infors HT, Швейцария) является карбонатное стекло. Данный материал обладает самой высокой проницаемостью по сравнению с другими материалами для содержания водорослей (для света – 95%), высокой химической устойчивостью и возможностью стерилизации (Guedes, Malcata, 2011).

Измерения численности клеток, их диаметра, определение содержания нейтральных липидов проведены на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter, США). Проанализировано 20 000 событий (регистрируемых в пробе частиц) в течение каждого измерения. Выбор клеток водоросли из общего числа событий, регистрируемых цитометром, проводили по флуоресценции хлорофилла *a*, длина волны возбуждения составляла 488 нм, испускания – 690 нм (Нука et al., 2013). Диаметр клеток определяли с помощью калибровочных бусин (Molecular Probes, США) по показателю прямого светорассеяния. В процессе проточно-цитометрического анализа проводили отбор данных для статистической обработки только по единичным клеткам (слипшихся клеток в экспериментах было не более 1–2%).

Содержание нейтральных липидов определяли по флуоресценции флуорорхрома Nile Red в концентрации 1 мкг/мл. Окрашивание проводили в течение 15 мин при комнатной температуре в темноте (длина волны возбуждения составляла 488 нм, испускания – 580 нм).

Данный краситель накапливается исключительно в клетках и не дает фонового окрашивания среды. Контроль окрашивания клеток был проведен под микроскопом. Определение содержания липидов методом проточной цитометрии имеет преимущества в скорости определения и соответствует данным, полученным с помощью других методов, что подтверждено на разных микроводорослях (Alemán-Nava et al., 2016). У большинства водорослей запасными нейтральными липидами являются триацилглицериды, в то же время у *T. lutea*, как и у других представителей семейства Isochrysidaceae, – алкеноны (da Costa et al., 2017).

Содержание хлорофилла *a* (для расчета соотношения хлорофилл *a*/каротиноиды) и суммы каротиноидов определяли стандартным методом экстракции ацетоном с последующим определением оптической плотности на мультиомодальном планшетном ридере Spark 10M (Tecan). Расчет концентраций пигментов проводили по стандартным формулам (Jeffrey, Humphrey, 1975).

Для расчетов были использованы данные трех биологических повторностей. На графиках представлены средние значения и стандартные отклонения. Статистическую значимость различий между средними значениями определяли при  $p < 0.05$  на основе дисперсионного анализа (тест ANOVA) с использованием языка программирования Python в Google Colab. Остальная обработка данных и их визуализация проведены в Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При освещенности 10 мкмоль/м<sup>2</sup>/с рост популяции *Tisochrysis lutea* ингибиравался уже в начале эксперимента, а с седьмых суток отмечено снижение численности клеток водоросли (рис. 1). При интенсивности света 30 и 50 мкмоль/м<sup>2</sup>/с увеличение количества клеток происходило до девятых суток эксперимента, впоследствии оно снижалось (см. рис. 1). Особенно выраженным снижение было при освещенности 30 мкмоль/м<sup>2</sup>/с. Освещенность 70 мкмоль/м<sup>2</sup>/с приводила к росту числа клеток, а на 14-е сутки данный показатель снижался. В целом, количество клеток в данных условиях было ниже в течение всего эксперимента, чем при интенсивности света 30 и

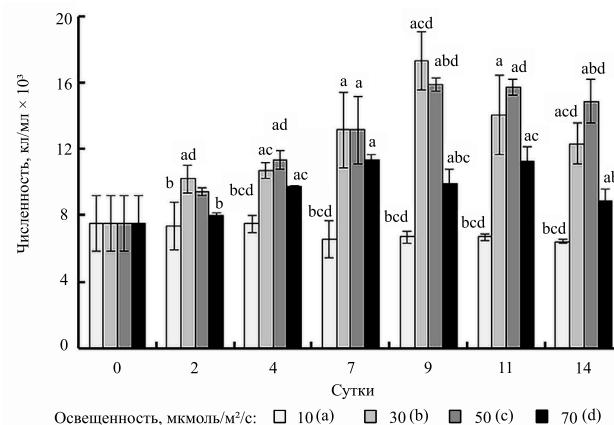


Рис. 1. Рост популяции *Tisochrysis lutea* при разной освещенности. Разными латинскими буквами отмечены статистически значимые отличия между средними значениями в каждые сутки опыта при  $p < 0.05$ .

50 мкмоль/м<sup>2</sup>/с, но выше, чем при 10 мкмоль/м<sup>2</sup>/с (см. рис. 1).

Вне зависимости от уровня освещенности, в популяции водоросли после семи суток эксперимента отмечено преобладание клеток размером более 4 мкм (рис. 2).

Содержание суммы каротиноидов в суспензии водоросли возрастало при всех исследованных условиях к седьмым суткам (рис. 3). При этом содержание суммы каротиноидов на клетку было самым высоким при освещенности 10 и 70 мкмоль/м<sup>2</sup>/с (табл. 1). К завершению опыта данный показатель снижался при 10 и 70 мкмоль/м<sup>2</sup>/с, а при 30 и 50 мкмоль/м<sup>2</sup>/с был выше, чем таковой на седьмые сутки

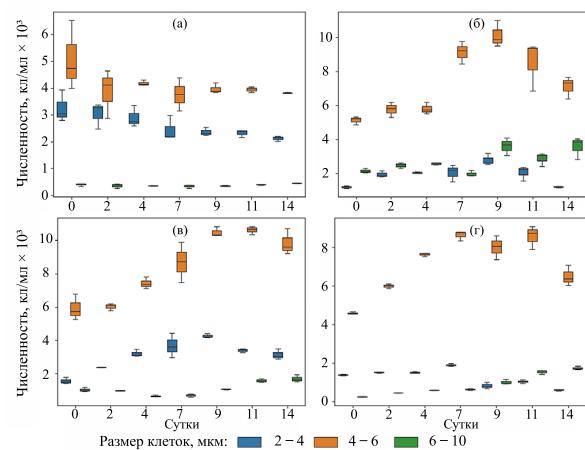
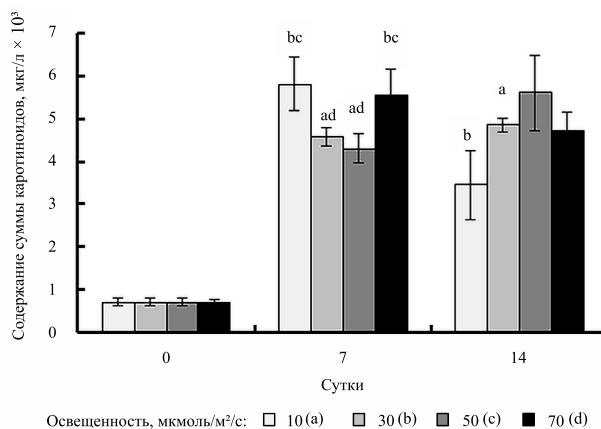


Рис. 2. Размерная структура популяции *Tisochrysis lutea* при разной освещенности: (а) – 10 мкмоль/м²/с, (б) – 30 мкмоль/м²/с, (в) – 50 мкмоль/м²/с, (г) – 70 мкмоль/м²/с.



**Рис. 3.** Содержание суммы каротиноидов у *Tisochrysis lutea* при разной освещенности. Разными латинскими буквами отмечены статистически значимые отличия между средними значениями в каждые сутки опыта при  $p < 0.05$ .

(см. рис. 3). Наибольшее содержание суммы каротиноидов на клетку к концу опыта наблюдалось при интенсивности света 10 мкмоль/ $\text{м}^2/\text{с}$ . Соотношение хлорофилл *a*/каротиноиды уменьшалось к концу опыта во всех экспериментах (см. табл. 1).

Содержание нейтральных липидов росло в течение опыта при всех значениях освещенности. Однако при 10 и 70 мкмоль/ $\text{м}^2/\text{с}$  увеличивалось более интенсивно, чем при 30 и 50 мкмоль/ $\text{м}^2/\text{с}$  (рис. 4). Интенсивность флуоресценции Nile Red в пересчете на единичную

клетку особенно возрастала при 10 мкмоль/ $\text{м}^2/\text{с}$ , что свидетельствовало о накоплении в клетках нейтральных липидов (табл. 2). При 30 мкмоль/ $\text{м}^2/\text{с}$  изменение флуоресценции на клетку было неизначительным. При 50 мкмоль/ $\text{м}^2/\text{с}$  отмечено снижение данного показателя, он достигал первоначального значения только к завершению опыта. При освещенности 70 мкмоль/ $\text{м}^2/\text{с}$  нейтральные липиды накапливались в клетках, однако менее интенсивно, чем при 10 мкмоль/ $\text{м}^2/\text{с}$ .

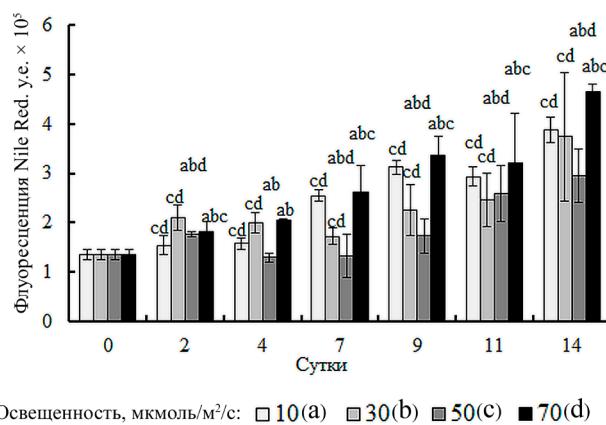
## ОБСУЖДЕНИЕ

Свет является главным фактором для растительного организма. Без него не возможен нормальный синтез хлорофиллов, формирование стабильно функционирующих хлоропластов, сам процесс фотосинтеза и, как следствие, нормальный рост и развитие растений (Chowdury et al., 2020). Даже небольшое отклонение освещенности от благоприятной ведет за собой изменение потребности в микроэлементах, необходимых для фотосинтеза (азота, железа и марганца) (Borowitzka et al., 2016).

Освещенность, при которой наблюдаются высокие темпы роста у представителей разных отделов микроводорослей, варьирует от 26 до 400 мкмоль/ $\text{м}^2/\text{с}$  (Maltsev et al., 2021). В проведенных нами исследованиях показано, что наиболее благоприятными для роста популяции

**Таблица 1.** Содержание каротиноидов и соотношение хлорофилл *a*/каротиноиды у *Tisochrysis lutea* в зависимости от освещенности

Интенсивность освещенности, мкмоль/ $\text{м}^2/\text{с}$	Соотношение хлорофилл <i>a</i> /каротиноиды	Каротиноиды, $10^{-13}$ г на клетку
10	0.40±0.01	2.89±0.01
30	0.40±0.01	2.89±0.01
50	0.40±0.01	2.89±0.01
70	0.40±0.01	2.89±0.01
7 сут		
10	0.88±0.21	9.05±0.02
30	0.64±0.01	6.11±0.01
50	0.56±0.01	4.53±0.08
70	0.56±0.01	9.05±0.01
14 сут		
10	0.59±0.01	5.37±0.02
30	0.61±0.06	4.33±0.01
50	0.46±0.01	3.91±0.01
70	0.45±0.01	3.58±0.01



**Рис. 4.** Флуоресценция клеток *Tisochrysis lutea*, окрашенных Nile Red – индикатором содержания нейтральных липидов. Разными латинскими буквами отмечены статистически значимые отличия между средними значениями в каждые сутки опыта при  $p < 0.05$ .

*Tisochrysis lutea* являются освещенность 30 и 50  $\mu\text{моль}/\text{м}^2/\text{с}$ . При 70  $\mu\text{моль}/\text{м}^2/\text{с}$  рост был менее интенсивным. Овещенность 10  $\mu\text{моль}/\text{м}^2/\text{с}$  вызывала снижение численности водоросли по сравнению с начальной, в дальнейшем роста популяции не происходило. Известно, что если интенсивность света низкая, то на клеточное дыхание тратится больше энергии, чем на процесс фотосинтеза и, как следствие, новой биомассы не образуется, а клеточное деление подавляется (Chin et al., 2023).

У *T. lutea* при освещенности 30 и 70  $\mu\text{моль}/\text{м}^2/\text{с}$  отмечено увеличение доли более крупных клеток в популяции. На зеленых микроводорослях показано, что с увеличением интенсивности света возрастает количество РНК и белка в клетках и в итоге увеличивается их размер (Borowitzka et al., 2016). В то же время причиной

преобладания крупных клеток может являться ингибиование их деления, когда необходимо для деления вещества в клетках достаточно, а деления не происходит. Такое явление наблюдается также при токсических воздействиях (Cid et al., 1996).

Свет высокой интенсивности – один из экологических факторов, применяемых для усиления синтеза каротиноидов (Maltsev et al., 2021). Выработка каротиноидов запускается растительной клеткой как для защиты фотосинтетической системы от фотоповреждений, вызванных чрезмерным облучением, так и для ослабления эффекта активных форм кислорода, которые продуцируются при высокой интенсивности света (Pick et al., 2019). Органические чешуйки гаптофитовых водорослей отражают свет (Lehmuskero et al., 2018), что возможно помогает *T. lutea* адаптироваться к высокой освещенности. В целом, накопление каротиноидов наблюдается при различных стрессовых условиях, что свидетельствует о том, что освещенность 10  $\mu\text{моль}/\text{м}^2/\text{с}$  также неблагоприятна для *T. lutea*, как и 70  $\mu\text{моль}/\text{м}^2/\text{с}$ .

Снижение соотношения хлорофилл *a*/каротиноиды, т. е. преобладание продуцирования каротиноидов над продуцированием хлорофилла *a* с повышением интенсивности света, отмечено как на седьмые, так и на 14-е сутки опыта. Возможно, это связано с тем, что чем ниже освещенность, тем больше требуется хлорофилла *a* для улавливания слабого светового потока (Borowitzka et al., 2016). Снижение данного показателя также может объясняться уменьшением содержание азота, необходимого для процессов синтеза хлорофилла *a* в процессе

**Таблица 2.** Динамика интенсивности флуоресценции Nile Red (относительные единицы) на клетку у *Tisochrysis lutea* в зависимости от освещенности

Сутки	Интенсивность освещенности, $\mu\text{моль}/\text{м}^2/\text{с}$			
	10	30	50	70
0	20.1 $\pm$ 3.1	20.1 $\pm$ 3.1	20.1 $\pm$ 3.1	20.1 $\pm$ 3.1
2	22.2 $\pm$ 7.9	19.6 $\pm$ 1.5	18.7 $\pm$ 0.8	22.9 $\pm$ 1.9
4	21.2 $\pm$ 2.9	31.7 $\pm$ 0.2	11.4 $\pm$ 1.2	31.6 $\pm$ 5.5
7	41.1 $\pm$ 13.3	19.9 $\pm$ 4.1	10.1 $\pm$ 3.1	26.5 $\pm$ 2.4
9	46.6 $\pm$ 0.1	18.1 $\pm$ 0.7	10.2 $\pm$ 3.1	33.5 $\pm$ 6.7
11	43.9 $\pm$ 1.6	21.2 $\pm$ 2.7	16.5 $\pm$ 4.2	28.2 $\pm$ 7.9
14	72.4 $\pm$ 1.6	30.2 $\pm$ 1.6	20.2 $\pm$ 5.2	52.3 $\pm$ 2.2

накопительного культивирования микроводорослей в среде (da Costa et al., 2017).

При высокой освещенности усиливается производство свободных радикалов, что приводит к фотоокислительному стрессу и, в итоге, к гибели клеток (Lehmuskero et al., 2018). Обычно при таких условиях происходит снижение скорости роста популяции и интенсивности фотосинтеза, в то время как нейтральные липиды накапливаются более активно, чем в условиях с нормальной освещенностью. Предполагается, что это обусловлено необходимостью превращения избыточной энергии света в химическую для предотвращения фотоокислительного стресса (Maltsev et al., 2021). Нейтральные липиды необходимы организму микроводоросли для сохранения энергии, которая может быть использована для восстановления клеток при неблагоприятных условиях, а при наступлении благоприятных условий способствуют быстрому росту популяции (Соловченко, 2012). Данный механизм не является специфичным ответом на изменение световых условий. Такой же процесс наблюдается, например, и при высоком содержании железа в среде (Liu, Wang, 2014). При увеличении солености, липидные капли у микроводорослей способствуют перестройке плазматической мембраны в целях адаптации, что показано на примере *Parachlorella kessleri* (You et al., 2019). В целом, увеличение содержания нейтральных липидов у *T. lutea* происходило с увеличением возраста культуры независимо от условий выращивания (da Costa et al., 2017; Huang et al., 2019).

Динамика накопления нейтральных липидов в наших экспериментах у *T. lutea* на седьмые и 14-е сутки опыта была сходной с изменением содержания каротиноидов при освещенности 10 мкмоль/м<sup>2</sup>/с. Однако при освещенности 30 и 50 мкмоль/м<sup>2</sup>/с накопление нейтральных липидов было минимальным. Ранее также показано, что у *T. lutea* не всегда содержание фотосинтетических пигментов изменяется одновременно с содержанием нейтральных липидов. Например, в миксотрофных условиях синтез каротиноидов стимулировался, однако содержание нейтральных липидов не отличалось от такового при выращивании в благоприятных условиях на свету (Alkhamis, Qin, 2016). При азотном и фосфорном голодаании у *T. lutea*

накапливались нейтральные липиды, однако содержание преобладающего у данного вида каротиноида фукоксантина снижалось на фоне ингибирования роста (Huang et al., 2019; Gao et al., 2020). В наших экспериментах при интенсивности света 70 мкмоль/м<sup>2</sup>/с также отмечено минимальное содержание суммы каротиноидов при накоплении в клетках нейтральных липидов.

Согласно обзору Мальцева с соавторами (Maltsev et al., 2021), максимальное производство нейтральных липидов у микроводорослей происходит в интервале освещенности 60–700 мкмоль/м<sup>2</sup>/с. Например, для *Phaeodactylum tricornutum* интенсивность света, позволяющая получить максимальный выход нейтральных липидов, составляла 60 мкмоль/м<sup>2</sup>/с. В нашем эксперименте самое высокое содержание нейтральных липидов на клетку отмечено при освещенности 10 и 70 мкмоль/м<sup>2</sup>/с.

Таким образом, в условиях панельного биoreактора рост популяции *T. lutea* полностью ингибировался при освещенности 10 мкмоль/м<sup>2</sup>/с. Наиболее интенсивный рост водоросли был при 30 и 50 мкмоль/м<sup>2</sup>/с. При 70 мкмоль/м<sup>2</sup>/с численность клеток была ниже, чем при 30 и 50 мкмоль/м<sup>2</sup>/с. При всех изученных условиях к завершению эксперимента наблюдалось увеличение доли клеток размером более 4 мкм. Увеличение содержания каротиноидов в клетках изученной водоросли отмечено при интенсивности света 10 и 70 мкмоль/м<sup>2</sup>/с на седьмые сутки опыта. Накопление нейтральных липидов в пересчете на клетку отмечено с седьмых суток эксперимента при освещенности 10 мкмоль/м<sup>2</sup>/с. Наименее выраженным оно было в случае освещенности 70 мкмоль/м<sup>2</sup>/с. При 30 и 50 мкмоль/м<sup>2</sup>/с накопления нейтральных липидов в пересчете на клетку не происходило.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят ресурсный центр “Морской биобанк” ННЦМБ ДВО РАН (<http://marbank.dvo.ru>) за предоставление культуры микроводоросли *Tisochrysis lutea* MBRU\_Tiso-08 (Haptophyta) и возможность работы на биореакторе Labforce 5 Lux и мультимодальном планшетном ридере Spark 10M (Tecan).

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Национального научного центра морской биологии ДВО РАН, госбюджетная тема FWFE-2024-0004

“Динамика морских экосистем, адаптации морских организмов и сообществ к факторам внешней среды”.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Соловченко А.Е. Физиологическая роль накопления нейтральных липидов эукариотическими микроводорослями при стрессах // Физиол. Раств. 2012. Т. 59. № 2. С. 192–202.*
- Alemán-Nava G.S., Cuellar-Bermudez S.P., Cuaresma M. et al. How to use Nile Red, a selective fluorescent stain for microalgal neutral lipids // J. Microbiol. Methods. 2016. V. 128. P. 74–79.*
- Alkhamis Y., Qin J.G. Comparison of pigment and proximate compositions of *Tisochrysis lutea* in phototrophic and mixotrophic cultures // J. Appl. Phycol. 2016. V. 28. P. 35–42.*
- Beuzenberg V., Goodwin E.O., Puddick J. et al. Optimising conditions for growth and xanthophyll production in continuous culture of *Tisochrysis lutea* using photobioreactor arrays and central composite design experiments // N. Z. J. Bot. 2017. V. 55. P. 64–78.*
- Bigagli E., Cinci L., Niccolai A. et al. Preliminary data on the dietary safety, tolerability and effects on lipid metabolism of the marine microalga *Tisochrysis lutea* // Algal Res. 2018. V. 34. P. 244–249.*
- Borowitzka M.A. Algal physiology and large-scale outdoor cultures of microalgae // The physiology of microalgae / Eds. M. Borowitzka, J. Beardall, J. Raven. Cham, Switzerland: Springer, 2016. P. 601–654. (Dev. Appl. Phycol.; V. 6).*
- Chin G.J.W.L., Andrew A.R., Abdul-Sani E.R. et al. The effects of light intensity and nitrogen concentration to enhance lipid production in four tropical microalgae // Biocatal. Agric. Biotechnol. 2023. V. 48. Art. ID 102660.*
- Chowdury K.H., Nahar N., Deb U.K. The growth factors involved in microalgae cultivation for biofuel production: a review // Comput. Water, Energy, Environ. Eng. 2020. V. 9. № 4. P. 185–215.*
- Cid A., Fidalgo P., Herrero C., Abalde J. Toxic action of copper on the membrane system of a marine diatom measured by flow cytometry // Cytometry. 1996. V. 25. P. 32–36.*
- da Costa F., Le Grand F., Quéré C. Effects of growth phase and nitrogen limitation on biochemical composition of two strains of *Tisochrysis lutea* // Algal Res. 2017. V. 27. P. 177–189.*
- Delbrut A., Albina P., Lapierre T. et al. Fucoxanthin and polyunsaturated fatty acids co-extraction by a green process // Molecules. 2018. V. 23. Art. ID 874.*
- Gao F., Teles (Cabanelas ITD) I., Ferrer-Ledo N. et al. Production and high throughput quantification of fucoxanthin and lipids in *Tisochrysis lutea* using single-cell fluorescence // Bioresour. Technol. 2020. V. 318. Art. ID 124104.*
- Guedes A.C., Malcata F. Bioreactors for microalgae: a review of designs, features and applications // Bioreactors: design, properties and applications. Eds. P.G. Antolli, Z. Liu. Nova Science Publishers Inc., 2011. P. 1–52.*
- Guillard R.R.L., Ryther J.H. Studies of marine planktonic diatoms. 1. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. // Can. J. Microbiol. 1962. V. 8. P. 229–239.*
- Huang B., Marchand J., Thiriet-Rupert S. et al. Betaine lipid and neutral lipid production under nitrogen or phosphorus limitation in the marine microalga *Tisochrysis lutea* (Haptophyta) // Algal Res. 2019. V. 40. Art. ID 101506.*
- Hyka P., Lickova S., Přibyl P. et al. Flow cytometry for the development of biotechnological processes with microalgae // Biotechnol. Adv. 2013. V. 31. P. 2–16.*
- Iglesias M.J., Soengas R., Probert I. et al. NMR characterization and evaluation of antibacterial and antibiofilm activity of organic extracts from stationary phase batch cultures of five marine microalgae (*Dunaliella* sp., *D. salina*, *Chaetoceros calcitrans*, *C. gracilis* and *Tisochrysis lutea*) // Phytochemistry. 2019. V. 164. P. 192–205.*
- Ippoliti D., González A., Martín I. et al. Outdoor production of *Tisochrysis lutea* in pilot-scale tubular photobioreactors // J. Appl. Phycol. 2016. V. 28. P. 3159–3166.*
- Jeffrey S.W., Humphrey G.F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c<sub>1</sub>* and *c<sub>2</sub>* in higher plants, algae and natural phytoplankton // Biochem. Physiol. Planz. 1975. V. 167. P. 191–194.*
- Leal E., de Beyer L., O'Connor W. et al. Production optimisation of *Tisochrysis lutea* as a live feed for juvenile Sydney rock oysters, *Saccostrea glomerata*,*

- using large-scale photobioreactors // Aquaculture. 2020. V. 533. Art. ID 736077.
- Lehmuskerö A., Chauton M.S., Boström T.* Light and photosynthetic microalgae: a review of cellular- and molecular-scale optical processes // Prog. Oceanogr. 2018. V. 168. P. 43–56.
- Liu Z., Wang G.* Effect of Fe<sup>3+</sup> on the growth and lipid content of *Isochrysis galbana* // Chin. J. Oceanol. Limnol. 2014. V. 32. № 1. P. 47–53.
- Maltsev Y., Maltseva K., Kulikovskiy M., Maltseva S.* Influence of light conditions on microalgae growth and content of lipids, carotenoids, and fatty acid composition // Biology. 2021. V. 10. № 10. Art. ID 1060.
- Mata T.M., Martins A.A., Caetano N.S.* Microalgae for biodiesel production and other applications: a review // Renewable Sustainable Energy Rev. 2010. V. 14. P. 217–232.
- Mayer C., Richard L., Côme M. et al.* The marine microalga, *Tisochrysis lutea*, protects against metabolic disorders associated with metabolic syndrome and obesity // Nutrients. 2021. V. 13. Art. ID 430.
- Mohamadnia S., Tavakoli O., Faramarzi M.A., Sham-sollahi Z.* Production of fucoxanthin by the microalga *Tisochrysis lutea*: a review // Aquaculture. 2020. V. 533. Art. ID 734637.
- Mulders K.J., Weesepoel Y., Lamers P.P. et al.* Growth and pigment accumulation in nutrient-depleted *Isochrysis aff. galbana* T-ISO // J. Appl. Phycol. 2013. V. 25. P. 1421–1430.
- Pick U., Zarka A., Boussiba S., Davidi L.* A hypothesis about the origin of carotenoid lipid droplets in the green algae *Dunaliella* and *Haematococcus* // Planta. 2019. V. 249. № 1. P. 31–47.
- Randhir A., Laird D.W., Maker G. et al.* Microalgae: a potential sustainable commercial source of sterols // Algal Res. 2020. V. 46. Art. ID 101772.
- Rasdi N.W., Qin J.G.* Effect of N: P ratio on growth and chemical composition of *Nannochloropsis oculata* and *Tisochrysis lutea* // J. Appl. Phycol. 2015. V. 27. P. 2221–2230.
- Ren Y., Sun H., Deng J. et al.* Carotenoid production from microalgae: biosynthesis, salinity responses and novel biotechnologies // Mar. Drugs. 2021. V. 19. № 12. Art. ID 713.
- You Z., Zhang Q., Peng Z., Miao X.* Lipid droplets mediate salt stress tolerance in *Parachlorella kessleri* // Plant Physiol. 2019. V. 181. № 2. P. 510–526.

## Population Growth of Microalga *Tisochrysis lutea* (Haptophyta) and the Content of Carotenoids and Neutral Lipids at the Different Illuminations in a Panel Bioreactor

Zh. V. Markina, A. A. Zinov

*A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology,  
Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia*

The effect of illumination (10, 30, 50, and 70 μmol/m<sup>2</sup>/s) on microalga *Tisochrysis lutea* (Haptophyta) in a 1.8 L panel bioreactor was studied using a 5 Lux–LED flat panel (Infors HT, Switzerland) for 14 days. It was found that the most intensive growth of microalga occurred at 30 and 50 μmol/m<sup>2</sup>/s. At 10 μmol/m<sup>2</sup>/s, population growth was completely suppressed. Regardless of the light intensity, cells larger than 4 μm predominated in the algae population after seven days. The carotenoid content at illuminations of 10 and 70 μmol/m<sup>2</sup>/s was highest on the seventh day. The chlorophyll *a* to carotenoid ratio decreased by the end of the experiment in all conditions. The highest amount of neutral lipids in cells was noted at 10 μmol/m<sup>2</sup>/s.

**Keywords:** *Tisochrysis lutea*, illumination, bioreactor, carotenoids, neutral lipids