

ISSN 1029-8940 (print)

УДК 581.1

Поступила в редакцию 08.06.2017

Received 08.06.2017

Н. Г. АВЕРИНА, Р. А. ЩЕРБАКОВ, Н. В. КОЗЕЛ, Е. Е. МАНАНКИНА,
Р. Г. ГОНЧАРИК, Н. В. ШАЛЫГО

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ И ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ ВОДОРΟΣЛИ *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS*

Аннотация. Изучено влияние экзогенной 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК) на продуктивность водоросли *Haematococcus pluvialis*, оцениваемой по таким показателям, как сухой вес, количество и размер клеток, а также содержание белка и фотосинтетических пигментов. Выращивание водоросли на среде Рудика с добавлением экзогенной АЛК стимулировало накопление сухой биомассы гематококка в период активного роста водоросли по сравнению как с контрольной культурой, выращиваемой без АЛК, так и с исходной. За 2 сут инкубации гематококка с АЛК в концентрации 10 мг/л сухая биомасса выросла в среднем на 31 % по отношению к таковой в исходной культуре и на 17 % по сравнению с контролем. В вариантах с использованием АЛК отмечено дозозависимое повышение содержания клеток водоросли в среднем на 26 % и уменьшение их диаметра на 15 % по сравнению с этими показателями в контрольной культуре. В 7-суточной культуре во всех вариантах опыта при добавлении АЛК повышалось содержание фотосинтетических пигментов и белка. Так, при расчете на 1 г сухого вещества содержание хлорофиллов *a*, *b* и β -каротина при использовании всех концентраций АЛК превысило контрольные значения в среднем на 37, 37 и 58 %, а ксантофиллов – неоксантина, виолаксантина и лютеина – на 31, 30 и 47 % соответственно. При этом содержание белка возросло в среднем на 20–73 %. После 12 сут инкубации эффективность действия АЛК снижалась при сохранении отмеченной выше тенденции. При обсуждении результатов учитывалось влияние экзогенной АЛК на синтез эндогенных цитокининов и стимуляцию последними роста и развития клеток водоросли, а также на формирование пигментного аппарата фотосинтеза.

Ключевые слова: *Haematococcus pluvialis*, 5-аминолевулиновая кислота, сухой вес, количество и размер клеток, белок, фотосинтетические пигменты

Для цитирования: Влияние 5-аминолевулиновой кислоты на продуктивность и пигментный состав водоросли *Haematococcus pluvialis* / Н. Г. Аверина [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2017. – № 4. – С. 21–32.

N. G. Averina, R. A. Sherbakov, N. V. Kozel, E. E. Manankina, R. G. Goncharik, N. V. Shalygo

Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

INFLUENCE OF 5-AMINOLEVULINIC ACID ON THE PRODUCTIVITY AND PIGMENT COMPOSITION OF ALGAE *HAEMATOCOCCUS PLUVIALIS*

Abstract. Influence of exogenous 5-aminolevulinic acid (ALA) on the algae *Haematococcus pluvialis* productivity – dry weight, number and size of cells as well as proteins and photosynthetic pigment content has been studied. Growing of algae cells in Rudic's medium with supplementation of ALA (0.5; 5; 10; 20 and 30 mg/l) stimulated accumulation of cell dry weight during active algae growth as compared with control cells as well as with initial algae culture. So, for two days of algae incubation with ALA 10 mg/l the dry weight increased by an average of 31 % in relation to initial culture and by 17 % in relation to control. A dose-dependent increase in content of cell number by an average of 26 % and decrease of cell diameter by 15 % was registered in "ALA" variants as compared with these characteristics in control. After 7 days of incubation with ALA content of the photosynthetic pigments and proteins increased. So, content of chlorophylls *a*, *b* and β -carotene per g of dry matter exceeded the control values by 37, 37 and 58 %, respectively. For xanthophylls such as neoxanthin, violaxanthin and lutein – by 31, 30 and 47 %, respectively. While the protein content on average increased by 20–73 %. After 12 days of incubation, the effectiveness of ALA decreased while maintaining the above trend. The results are discussed from the position of using exogenous ALA in the synthesis of endogenous cytokinins that stimulated the growth and development of algal cells, as well as the formation of the pigmentary apparatus of photosynthesis.

Keywords: *Haematococcus pluvialis*, 5-aminolevulinic acid, dry weight, number and size of cells, protein, photosynthetic pigments

For citation: Averina N. G., Sherbakov R. A., Kozel N. V., Manankina E. E., Goncharik R. G., Shalygo N. V. Influence of 5-aminolevulinic acid on the productivity and pigment composition of algae *Haematococcus pluvialis*. *Vesti Natsyonal'noi akademii nauk Belarusi. Seriya biyalagichnykh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2017, no. 4, pp. 21–32 (in Russian).

Введение. Микроводоросль *Haematococcus pluvialis* (*H. pluvialis*) является одним из наиболее перспективных натуральных источников кетокаротиноида астаксантина (β,β -каротин-3,3'-дигидро-4,4'-диона) – красного пигмента, широко используемого в сельском хозяйстве, пищевой, фармакологической промышленности, а также в косметологии благодаря его чрезвычайно высокой антиоксидантной активности, которая в определенных условиях значительно превышает таковую β -каротина и витамина Е [1, 2]. В клетках *H. pluvialis* содержание астаксантина составляет от 2 до 5 % от сухой массы водоросли [3, 4]. Химически синтезированный искусственный астаксантин, представляющий смесь из трех стереоизомеров, отличается от натурального структурно и обладает гораздо меньшей биоактивностью, чем натуральный пигмент [5–7]. Значительно возросший в последние годы интерес к *H. pluvialis* связан с его промышленным производством, поиском способов увеличения общей продуктивности и выхода астаксантина, а также с желанием познать природу механизмов, контролирующих эти процессы.

В нормальных условиях клетки гематококка имеют зеленую окраску и достаточно подвижны. Однако при попадании в неблагоприятные, стрессовые условия они прекращают рост, превращаясь в неподвижные цисты, и начинают накапливать астаксантин для защиты от внутриклеточного окислительного потенциала, повышение которого обусловлено индуцированным стрессом. При этом клетки водоросли приобретают насыщенный красный цвет.

Один из методов повышения выхода астаксантина является сначала максимальное увеличение скорости роста культуры водоросли с целью достижения ее высокой продуктивности, а затем создание условий для перехода клеток к состоянию покоя и накоплению астаксантина [8].

В литературе описано использование физиологически активных соединений, таких как цитокинины, ауксины, брассиностероиды, с целью увеличения продуктивности *H. pluvialis* [9–11]. Ранее нами было показано, что экзогенная 5-аминолевулиновая кислота (АЛК) – предшественник всех циклических (хлорофиллов (Хл), гемов, корриноидов) и линейных (билинов, фикобилинов) тетрапирролов, которые играют центральную роль в метаболизме растительных, животных и бактериальных организмов, – проявляет свойства регулятора роста растений и антистрессора [12–14]. Кроме того, установлено, что в основе росторегулирующих и защитных свойств АЛК лежит ее способность индуцировать накопление эндогенных цитокининов [15], пролина [16], стабилизировать белковый метаболизм [14], усиливать ассимиляцию неорганического азота путем стимуляции экспрессии гена нитратредуктазы [17], а также увеличивать активность защитных ферментов [14]. Положительное действие АЛК оказывает и на водоросли. Так, добавление 3 мМ АЛК в культуральную среду для выращивания клеток *Spirulina platensis* стимулировало синтез Хл и фикоцианина, усиливало рост клеток водоросли и увеличивало их фотосинтетическую активность [18]. Имеется единственная публикация [19], в которой описывалось положительное воздействие экзогенной АЛК (0,3 мг/л) на рост водоросли *H. pluvialis*, а кроме того, отмечалось, что АЛК ограничивает накопление астаксантина в клетках водоросли.

Цель данной работы – теоретическое и практическое обоснование возможности применения экзогенной 5-аминолевулиновой кислоты при выращивании водоросли *H. pluvialis* с целью повышения ее продуктивности, оцениваемой по таким показателям, как сухой вес, количество и размер клеток, содержание белка, фотосинтетических пигментов – Хл *a*, *b* и каротиноидов.

Объекты и методы исследования. Объектом исследований служила альгологически чистая культура одноклеточной зеленой жгутиковой водоросли *H. pluvialis*, штамм IBCE Н-17, из коллекции водорослей Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси [20]. Клетки гематококка, эллипсовидные или удлинено-яйцевидные, с гладкой оболочкой и двумя жгутиками, стерильно пересевали на чашки Петри с агаризованной питательной средой ВВМ [21], состав которой приведен в табл. 1. Чашки выносили на свет и подращивали культуру гематококка в течение 5–7 сут при температуре 23 ± 2 °С. После этого клетки водоросли смывали с чашек стерильной средой Рудика [22] (табл. 1) в стерильные стеклянные колбы объемом 250–300 мл, где с целью накопления их выращивали в режиме 14 ч света – 10 ч темноты при температуре в световом периоде 23 ± 2 °С, используя люминесцентные лампы Philips TD-36/765 с освещенностью 2000 лк.

Т а б л и ц а 1. Составы питательной среды BBM [21] и среды Рудика [22]
 Table 1. Compositions of the BBM nutrient medium [21] and the Rudic's medium [22]

Среда BBM				Среда Рудика			
Макроэлементы		Микроэлементы, мг/л		Макроэлементы, г/л		Микроэлементы, мг/л	
NaNO ₃ , г/л	0,25	H ₃ BO ₃	2,86	NaNO ₃	0,3	H ₃ BO ₃	0,3
KH ₂ PO ₄ , г/л	0,175	MnCl ₂ ·4H ₂ O	1,81	K ₂ HPO ₄	0,08	MnSO ₄ ·H ₂ O	1,5
K ₂ HPO ₄ , г/л	0,075	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,222	KH ₂ PO ₄	0,02	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,1
MgSO ₄ ·7H ₂ O, г/л	0,075	MoO ₃	0,017	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,01	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·9H ₂ O	0,3
CaCl ₂ ·2H ₂ O, г/л	0,025	NH ₄ VO ₃	0,023	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,0585	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,08
NaCl, г/л	0,025			ЭДТА	0,0075	Co(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	0,26
FeSO ₄ , г/л	0,005			NaCl	0,02	FeCl ₃ ·6H ₂ O	17,0
ЭДТА, г/л	0,05						
Агар, %	1,7						

В процессе выращивания водоросли культуру гематококка барботировали (продували воздухом) с помощью компрессора АСО-9903 для аквариумов HAILEA, подающего воздух со скоростью до 4,2 л/мин. Через 4 сут выращивания суспензию гематококка, находящуюся на стадии активного роста и содержащую около 80 % подвижных клеток, использовали в экспериментах (суспензия А). На этой стадии в суспензию водорослей с оптической плотностью (ОП) 0,3–0,4 (при длине волны 560 нм) добавляли АЛК таким образом, чтобы ее конечная концентрация в суспензии составляла 0,5; 5; 10; 20 и 30 мг/л. В этих условиях водоросль культивировали в течение 12 сут. В отдельных опытах культуру клеток выращивали в накопительном режиме в жидкой среде в течение 1 мес. Периодически клетки осаждали, помещали в свежую питательную среду Рудика и через 4 сут суспензию, содержащую около 80 % подвижных клеток, доводили до ОП 0,3–0,4 (при длине волны 560 нм) и использовали в эксперименте, как описано выше (суспензия Б). Перспективность использования среды Рудика для интенсивного культивирования гематококка показана в работе [23].

Количество клеток в культуре водоросли оценивали при помощи камеры Горяева [24] и построения калибровочной кривой. Для построения последней измеряли ОП суспензии клеток гематококка при длине волны 560 нм, предварительно определив количество клеток. Количество клеток определяли по формуле

$$y = -8,4 \cdot 10^4 + 101 \cdot 10^4 x,$$

где y – количество клеток гематококка в 1 мл суспензии; x – ОП суспензии клеток гематококка при длине волны 560 нм.

После проведения предварительной калибровки определяли диаметр клеток гематококка с помощью микроскопа Nikon Eclipse TS100 с камерой Nikon DS-Fi2, используя программное обеспечение NIS-Elements Advanced Solutions v.4.40 (Nikon, Япония).

Продуктивность *H. pluvialis* определяли по изменению сухой биомассы, которую оценивали по поглощению и светорассеянию суспензий водоросли в красной и инфракрасной областях спектра при длине волны 680 и 750 нм на спектрофотометре Solar PB-2201 (Беларусь). Поглощение при 680 нм соответствует максимуму поглощения Хл, а поглощение при 750 нм определяется в основном светорассеянием на клетках гематококка. Для количественного расчета сухой массы *H. pluvialis* использовали формулу, описанную Tomohisa Katsuda с соавт. в работе [25]:

$$\text{Сухой вес (мг/мл)} = (3,04((\text{ОП}_{750} - \text{ОП}_{680})/\text{ОП}_{680}) + 1,40)\text{ОП}_{680}.$$

Для определения белка промытую и осажденную путем центрифугирования сырую биомассу *H. pluvialis* (20–100 мг) заливали 0,2 мл 1 М NaOH и экстрагировали белок в течение 10 мин на шейкере при 80 °С и 500 об/мин. Экстракт разбавляли 1,8 мл дистиллированной воды и центрифугировали при 4 °С 30 мин при ускорении 12 000 g на центрифуге Sigma 1-15K (Sigma Laborzentrifugen,

Германия). Экстракцию, разбавление и центрифугирование повторяли еще 2 раза. Экстракты объединяли, отбирали 10 мкл для определения количества белка по методу Бредфорд [30]. Контролем служили 10 мкл экстракта, к которому приливали реактив Бредфорд без Кумасси G-250. Из показателя ОП опытной пробы вычитали значение поглощения контрольной пробы (при длине волны 595 нм) и по калибровочной кривой определяли количество белка (в мкг) в 1 мл суспензии [30].

Для определения качественного и количественного состава фотосинтетических пигментов в клетках водоросли использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Содержание Хл и каротиноидов в образцах оценивали с помощью хроматографа высокого давления Shimadzu Prominence LC 20 (Япония) с хроматографической колонкой Nucleodur C18 Gravity (тип C18, размер частиц 3 мкм, длина 15 см) фирмы Macherey-Nagel (Германия). В основу метода выделения, разделения и идентификации пигментов были положены методики, описанные в работах [26–29]. Экстракцию фотосинтетических пигментов из клеток *H. pluvialis* осуществляли с помощью щелочного ацетона (100 % ацетона + 0,4 % водного NH_3 в соотношении 9:1). Экстракт центрифугировали 5 мин при 17 000 g на центрифуге Heraeus Pico 17 (Thermo Fisher Scientific Inc., США), супернатант переносили в мерные пробирки, а осадок промывали щелочным ацетоном. Процедуру отмывки повторяли до полного извлечения пигментов. Для разделения экстрагированных пигментов в колонке использовали растворы А (90 % ацетонитрила, 9,9 % H_2O , 0,1 % триэтиламина) и В (100 % этилацетата) по программе (табл. 2) с потоком 0,5 мл/мин. Пигменты регистрировали спектрофотометрическим детектором с диодной матрицей Shimadzu SPD-M20A (Япония) в диапазоне 200–800 нм. Для визуализации профиля хроматограммы выделяли спектр поглощения при 440 нм. Для количественного определения пигментов использовали площади пиков хроматограммы. Содержание пигментов рассчитывали по формуле

$$C_{\text{пигм}} = S_{440} F_{\text{пигм}} V/V_{\text{инъекц}} m,$$

где $C_{\text{пигм}}$ – содержание пигмента, мкг/г сухой массы; S_{440} – площадь пика поглощения при 440 нм; $F_{\text{пигм}}$ – фактор (коэффициент) для расчета, полученный с помощью стандартов разделяемых веществ; V – объем супернатанта; $V_{\text{инъекц}}$ – объем инъекции; m – масса навески, г.

Таблица 2. Программа изменения концентрации растворителей для разделения фотосинтетических пигментов на хроматографической колонке Nucleodur C18 Gravity (тип C18, размер частиц 3 мкм, длина 15 см)

Table 2. The program for changing of the concentration of solvents for separation of photosynthetic pigments on a Nucleodur C18 Gravity chromatographic column (type C18, particle size 3 μm , length 15 cm)

Время проведения хроматографии, мин	Скорость потока, мл/мин	Раствор А, %	Раствор В, %	Режим
0,01	0,5	100	0	Линейный градиент
15,00	0,5	0	100	Изократический режим
18,00	0,5	0	100	Линейный градиент
19,00	0,5	100	0	Изократический режим
25,00	0,5	100	0	Остановка

В ходе обработки экспериментальных данных вычисляли среднее, стандартное отклонение среднего, достоверность различий между вариантами определяли с учетом коэффициента Стьюдента для принятого уровня значимости ($p = 0,05$) и данного числа степеней свободы. Представлены данные 8 опытов в двукратной биологической повторности. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали пакеты программ Excel 2010, SigmaPlot 12.0 и статистические методы, принятые в области биологических исследований [31].

Результаты и их обсуждение. Прежде всего было изучено влияние экзогенной АЛК на содержание клеток *H. pluvialis*, их диаметр и сухой вес в отдельные периоды 12-суточного культивирования водоросли. Количественная оценка содержания клеток водоросли, выращиваемых в течение 5–7 сут (с учетом разных вариантов), приведена в табл. 3. Подсчет клеток в контрольной культуре и выращиваемой на среде с добавлением АЛК показал значительное увеличение их содержания в вариантах с применением АЛК. Так, при выращивании водоросли с использо-

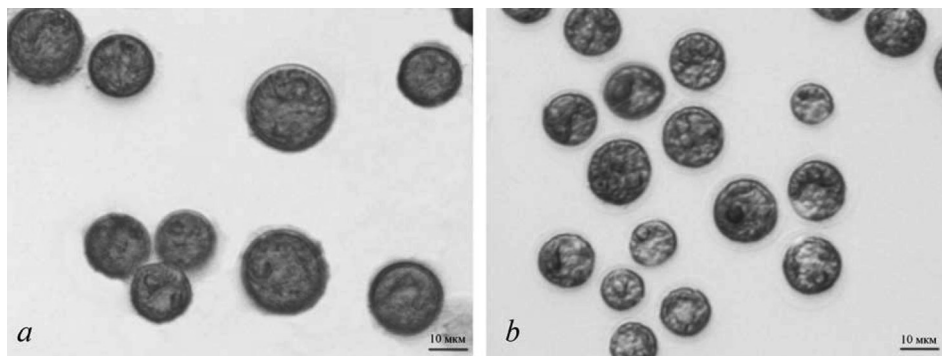


Рис. 1. Клетки водоросли *H. pluvialis* в контрольной (а) и опытной (б, АЛК 20 мг/л) культурах, выращиваемых в течение 7 сут на среде Рудика

Fig. 1. Cells of *H. pluvialis* algae in control (a) and experimental (b, ALA 20 mg/l) cultures grown for 7 days on Rudic's medium

ванием АЛК (0,5; 5; 10; 20 и 30 мг/л) их количество в 1 мл суспензии возрастало на 12; 33; 11–30; 37 и 31 % соответственно по сравнению с контролем (табл. 3). При этом размер клеток в вариантах с применением АЛК существенно уменьшался, составляя в среднем 85 % от контроля (рис. 1). В опыте № 2 (см. табл. 3) с использованием 5 мг/л АЛК к 5-м суткам инкубации отмечено снижение содержания клеток в обоих вариантах в среднем на 15 %. Но и в этом случае количество клеток в варианте с применением АЛК оказалось на 33 % выше, чем в контрольной культуре. При этом диаметр клеток в среднем составил 89 % от такового в контрольной культуре.

Таблица 3. Влияние АЛК (0,5; 5; 10; 20 и 30 мг/л) на количество клеток в 1 мл суспензии водоросли, выращиваемой в течение 5–7 сут, а также на диаметр клеток

Table 3. Effect of ALA (0,5, 5, 10, 20 and 30 mg/l) on the number of cells in 1 ml of the algae suspension grown for 5–7 days, as well as the diameter of the cells

Вариант опыта	К-во клеток		Диаметр клеток	
	тыс/мл	%	мкм	%
Опыт 1 (7 сут инкубации)				
Контроль	108	100	19,66	100
АЛК, мг/л:				
0,5	121	112	19,73	100
10	140	130	16,63	85
20	148	137	16,63	85
30	142	131	17,36	88
Опыт 2 (5 сут инкубации)				
Контроль	72	100	21,32	100
АЛК 5 мг/л	96	133	19,10	89
Опыт 3 (5 сут инкубации)				
Контроль	300	100	19,50	100
АЛК 10 мг/л	334	111	15,70	80

Примечание. Показатели в контроле приняты за 100 %. Представлены результаты трех опытов.

Через сутки после начала культивирования с АЛК (0,5; 5 и 10 мг/л) клеток гематококка, взятых из культуры, выращиваемой в жидкой среде в накопительном режиме (суспензия Б), наблюдали возрастание сухой биомассы в 1 мл суспензии водоросли как в контрольном (112 %), так и в опытных вариантах (122, 128 и 132 % соответственно) по отношению к показателям в исходной культуре, принятыми за 100 % (рис. 2). На рис. 2 отчетливо видна зависящая от концентрации АЛК стимуляция накопления сухой биомассы водоросли по сравнению с контролем. Аналогичная картина наблюдалась и через 2 сут инкубации – 111 % для контроля и 108, 131 и 127 % для вариантов с применением 0,5; 5,0 и 10 мг/л АЛК соответственно (рис. 2). На 5-е сутки инку-

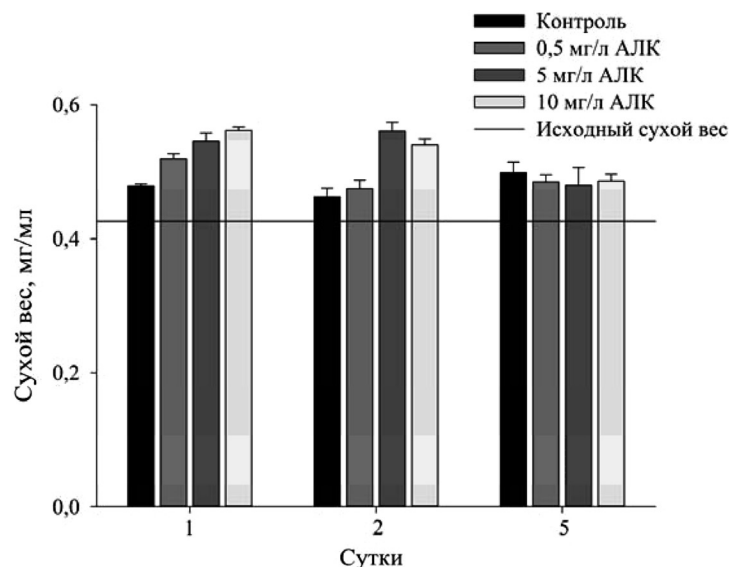


Рис. 2. Изменение сухого веса клеток водоросли *H. phuvialis* в контрольной и опытных культурах, выращиваемых в течение 1, 2, 5 сут на среде Рудика с добавлением АЛК (0,5; 10; 20 и 30 мг/л). Линия на рисунке показывает содержание сухого вещества в исходной культуре

Fig. 2. Change in dry weight of *H. phuvialis* algae cells in control and experimental cultures grown for 1, 2, 5 days in Rudic's medium supplemented with ALA (0,5, 10, 20 and 30 mg/l). The line in the figure shows the dry matter content of the initial culture

бации наблюдали снижение сухой биомассы водоросли при всех вариантах АЛК, так что эти показатели оказывались на уровне контроля (117 % от сухой биомассы исходной культуры) и составляли 114, 112 и 114 % для соответствующих вариантов АЛК. Таким образом, за 2 сут инкубации культуры клеток с 10 мг/л экзогенной АЛК сухая биомасса клеток водоросли выросла в среднем на 31 % по отношению к исходной культуре и на 17 % по сравнению с контролем.

В ряде опытов с использованием суспензии А, полученной после смыва клеток с чашек Петри, наряду с концентрациями 0,5 и 10 мг/л АЛК использовали также концентрации 20 и 30 мг/л и более длительный период инкубации культуры (вплоть до 12 сут). Анализ содержания сухого вещества в 7-суточной культуре показал снижение сухого веса как в контроле, так и в вариантах с применением АЛК, составляя в среднем в контроле 83, а в вариантах с использованием АЛК в концентрациях 0,5; 10; 20 и 30 мг/л – 78, 80, 76 и 83 % соответственно по сравнению с величиной сухого веса в исходной культуре до инкубации, принятой за 100 %.

В течение последующих 5 сут инкубации (12-суточная культура) сухой вес возрастал при применении всех вариантов, превышая сухую биомассу исходной культуры (рис. 3). Из рис. 3 видно, что экзогенная АЛК стимулировала процесс накопления сухого вещества и способствовала увеличению сухого веса клеток водоросли к 12-м суткам инкубации по сравнению как с контрольной, так и с исходной культурой. Для контрольной культуры превышение над сухим весом исходной культуры составило 116 %, для вариантов с добавлением 0,5; 10; 20 и 30 мг/л АЛК – 130, 105, 128 и 121 % соответственно.

Далее было изучено влияние экзогенной АЛК на содержание белка и фотосинтетических пигментов в клетках гематококка. Добавление в питательную среду АЛК эффективно сказалось на содержании общего белка. При использовании 0,5; 10; 20 и 30 мг/л АЛК содержание белка в расчете на 1 г сухого вещества через 7 сут культивирования клеток водоросли возрастало в среднем на 20, 24, 42 и 73 % соответственно по сравнению с контролем (рис. 4, а). Через 12 сут культивирования положительное действие АЛК несколько снижалось при сохранении отмеченной выше тенденции (рис. 4, б).

Под действием экзогенной АЛК возросло и содержание фотосинтетических пигментов – Хл и каротиноидов. Так, при расчете на 1 мл суспензии клеток содержание Хл а, б и β-каротина возросло на 8, 5 и 12 % по сравнению с 7-суточным контролем в случае использования 0,5 мг/л АЛК. При добавлении 10 мг/л АЛК эти величины составили 18, 17 и 18 %. При выращивании в среде

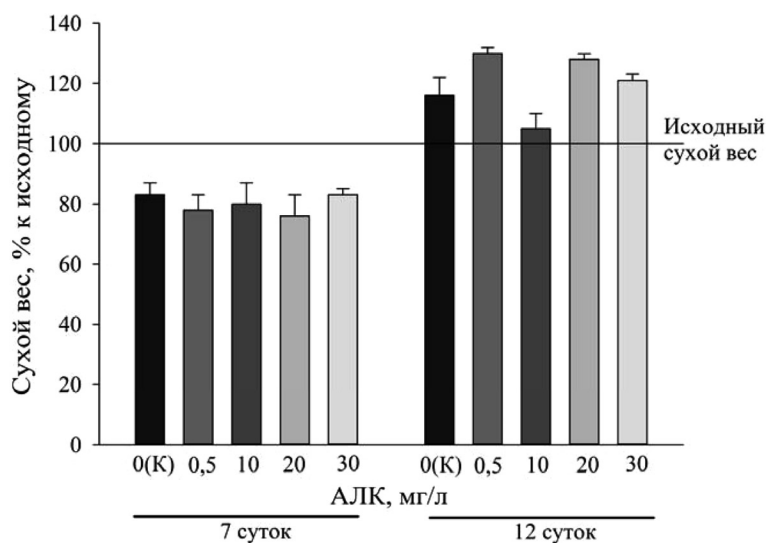


Рис. 3. Изменение сухого веса клеток водоросли *H. pluvialis* при культивировании в течение 7 и 12 сут на среде Рудика с добавлением разных концентраций АЛК либо без ее добавления (К). За 100 % принят сухой вес в исходной культуре

Fig. 3. Change in dry weight of *H. pluvialis* algae cells during cultivation for 7 and 12 days in Rudic's medium with addition of different concentrations of ALA, or without its additives (K). Dry weight in the initial culture is presented as 100 %

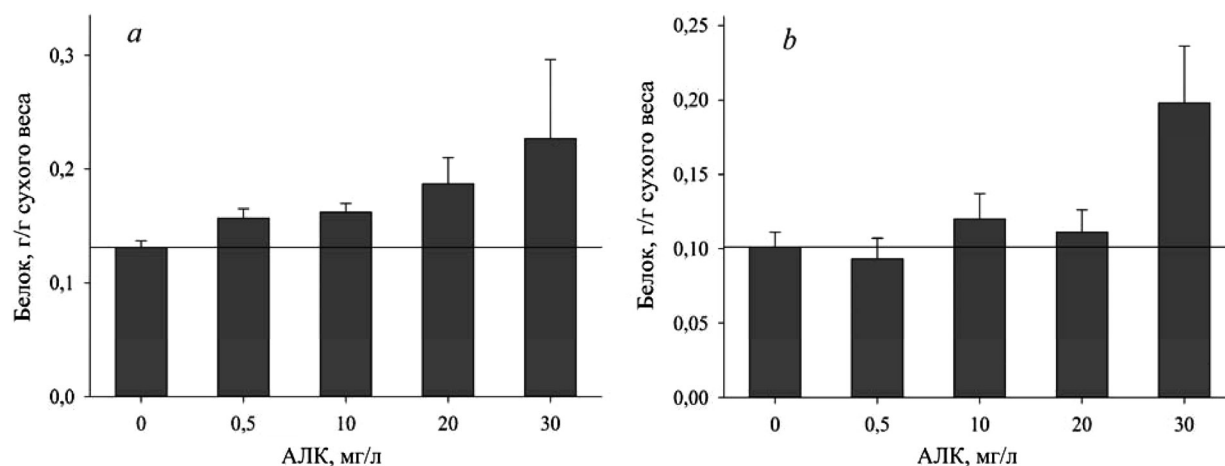


Рис. 4. Влияние экзогенной АЛК (0,5–30 мг/л) на содержание общего белка в клетках водоросли *H. pluvialis*, выращиваемой в течение 7 (а) и 12 (б) сут. Линии на рисунках показывают содержание белка в контрольной культуре

Fig. 4. Effect of exogenous ALA (0,5–30 mg/l) on the total protein content in *H. pluvialis* algae cells grown for 7 (a) and 12 (b) days. The lines in the figures show the protein content in the control cultures

с добавлением 20 мг/л АЛК содержание Хл *a*, *b* и β -каротина по сравнению с контролем возросло в среднем на 21, 21 и 15 %, а при добавлении 30 мг/л АЛК – на 30, 34 и 36 % соответственно. Положительный эффект отмечен и для ксантофилловых пигментов. Так, содержание неоксантина, виолаксантина и лютеина по сравнению с 7-суточным контролем составило 105, 95 и 106 % при использовании 0,5 мг/л АЛК; 104, 102 и 117 % при добавлении 10 мг/л АЛК; 84, 79 и 115 % при использовании 20 мг/л АЛК и 112, 107 и 134 % при добавлении 30 мг/л экзогенной АЛК.

Наиболее впечатляющие результаты получены при расчете содержания пигментов на единицу сухого веса вещества (данные представлены на рис. 5, *a*, *b*). В частности, содержание Хл *a*, *b* и β -каротина при добавлении 0,5 мг/л АЛК составило 120, 115 и 133 % от показателей 7-суточного контроля, при добавлении 10 мг/л АЛК – 147, 141 и 160 %. При использовании 20 мг/л АЛК эти величины составили 149, 152 и 159 %, а при применении 30 мг/л АЛК – 132, 141 и 182 % соответственно. Стимуляция накопления ксантофилловых пигментов – неоксантина, виолаксантина

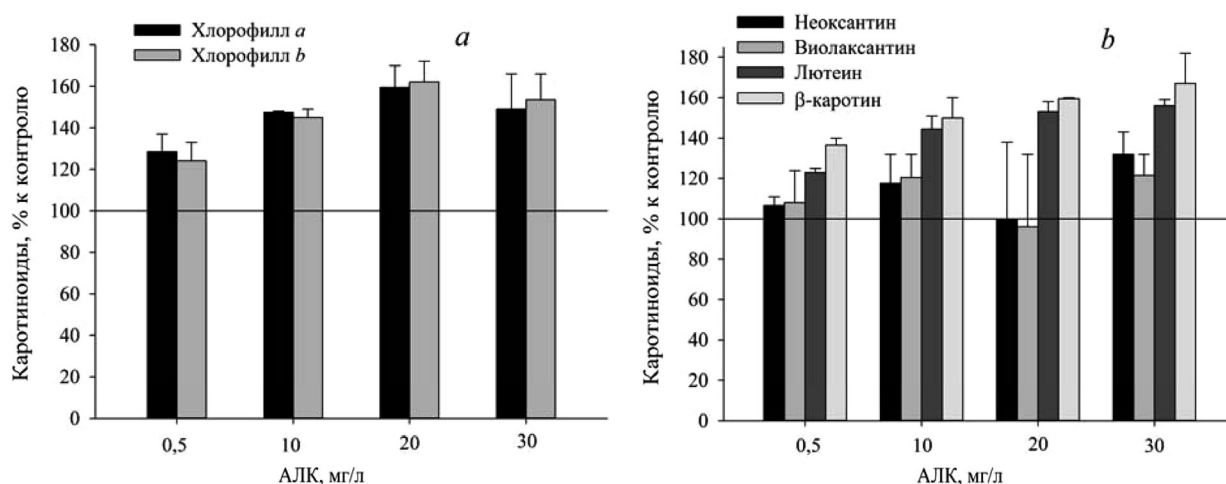


Рис. 5. Влияние экзогенной АЛК (0,5–30 мг/л) на содержание Хл (a) и каротиноидов (b) в клетках водоросли *H. pluvialis*, выращиваемой в течение 7 сут. За 100 % принято содержание пигментов в контрольной культуре, выращиваемой без добавления АЛК

Fig. 5. Effect of exogenous ALA (0.5–30 mg/l) on the content of chlorophyll (a) and carotenoids (b) in cells of *H. pluvialis* algae grown for 7 days. Content of pigments in the control cultures grown without ALA is presented as 100 %

и лютеина – составила 11, 24 и 21 % при добавлении 0,5 мг/л АЛК; 32, 32 и 51 % при применении 10 мг/л АЛК; 38, 32 и 58 % при использовании 20 мг/л АЛК и 43, 32 и 59 % при добавлении 30 мг/л АЛК.

Закключение. Таким образом, выращивание водоросли на среде Рудика с добавлением экзогенной АЛК стимулировало накопление сухой биомассы гематококка в период активного роста водоросли, что приводило к превышению содержания сухого вещества по сравнению с таковым как в контрольной, так и в исходной культуре. АЛК как регулятор роста хорошо зарекомендовал себя в опытах на высших растениях [32–34]. Ранее нами было показано, что в основе росторегулирующих свойств АЛК лежит ее способность индуцировать накопление эндогенных цитокининов – зеатина и его производных [15]. Содержание веществ с цитокининовой активностью было отмечено в клетках водоросли *Chlorella* и в 7 штаммах *Chlorophyta* [35–38]. Наряду с этим выращивание хлореллы в условиях избыточного накопления эндогенной АЛК (инкубация на левулиновой кислоте) увеличивало цитокининовую активность культуральной среды, содержащей экскретируемые клетками водоросли метаболиты, а также экстрактов клеток хлореллы в биотестах на цитокинины по сравнению с контрольной культурой без добавления левулиновой кислоты [37]. Наблюдаемое нами повышение продуктивности гематококка при использовании экзогенной АЛК позволяет предположить, что результатом ее положительного действия может являться повышение уровня эндогенных цитокининов в клетках гематококка. Полученные результаты показывают, что увеличение содержания клеток гематококка при добавлении АЛК разной концентрации может быть связано со стимуляцией клеточного деления избыточными количествами цитокининов, одной из основных функций которых является индукция клеточного деления [39, 40].

Значительное повышение содержания фотосинтетических пигментов – Хл и каротиноидов в клетках гематококка при выращивании в присутствии экзогенной АЛК может быть результатом влияния экзогенного субстрата на процессы синтеза дополнительного количества пигментов. Наряду с этим одним из ярких проявлений биологической активности цитокининов является контроль биогенеза хлоропластов путем стимуляции формирования внутренней структуры хлоропластов, повышения фотосинтетической активности и активации синтеза фотосинтетических пигментов – Хл и каротиноидов. Не исключено, что этот механизм может вносить вклад и в стимуляцию образования фотосинтетических пигментов в клетках гематококка, наблюдаемую в присутствии экзогенной АЛК.

Добавление экзогенной АЛК способствовало также увеличению содержания белка (от 20 до 73 %) в расчете на 1 г сухого вещества водоросли после 7 сут культивирования. Ранее нами показано,

что в условиях усиления роста растений, обработанных экзогенной АЛК, наблюдаются активация экспрессии гена нитратредуктазы – ключевого фермента ассимиляции неорганического азота, повышение активности фермента, его содержания, а также возрастание содержания белка в таких растениях [17]. Выявленная нами активация белкового метаболизма в клетках гематоккокка может быть результатом усиления ассимиляции неорганического азота в присутствии экзогенной АЛК и его превращения в органическую форму, в частности в белковые аминокислоты.

Список использованных источников

1. Shimidzu, N. Carotenoids as singlet oxygen quenchers in marine organisms / N. Shimidzu, M. Goto, W. Miki // Fisheries Science. – 1996. – Vol. 62, N 1. – P. 134–137.
2. Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition / G. Hussein [et al.] // J. Nat. Prod. – 2006. – Vol. 69, N 3. – P. 443–449.
3. Johnson, E. A. Microbial carotenoids / E. A. Johnson, W. A. Schroeder // Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. – 1996. – Vol. 53. – P. 119–178.
4. Krishna, K. B. Secondary carotenoid production in green algae / K. B. Krishna, P. Mohanty // J. Sci. Industr. Res. – 1998. – Vol. 57. – P. 51–63.
5. Guerin, M. *Haematococcus* astaxanthin: applications for human health and nutrition / M. Guerin, M. E. Huntley, M. Olaizola // Trends Biotechnol. – 2003. – Vol. 21, N 5. – P. 210–216.
6. Higuera-Ciapara, I. Astaxanthin: a review of its chemistry and applications / I. Higuera-Ciapara, L. Felix-Valenzuela, F. Goycoolea // Crit. Rev. in Food Sci. and Nutrition. – 2006. – Vol. 46, N 2. – P. 185–196.
7. Yuan, J.-P. Identification of astaxanthin isomers in *Haematococcus lacustris* by HPLC-photodiode array detection / J.-P. Yuan, F. Chen // Biotechnol. Techniques. – 1997. – Vol. 11, N 7. – P. 455–459.
8. Optimization of biomass, total carotenoids and astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* Flotow strain Steptoe (Nevada, USA) under laboratory conditions / A. Cifuentes [et al.] // Biol. Res. – 2003. – Vol. 36. – P. 343–357.
9. Chunmei, H. Cell growth and astaxanthin accumulation of four strains of *Haematococcus pluvialis* exposed to different plant regulators / H. Chunmei, L. Jianguo, Z. Yong // Oceanologia et Limologia Sinica. – 2006. – Vol. 40, N 4. – P. 430–436.
10. Raposo, M. Influence of the growth regulators kinetin and 2,4-D on the growth of two chlorophyte microalgae, *Haematococcus pluvialis* and *Dunaliella salina* / M. Raposo, R. M. de Moraes // J. of Basic and Appl. Sci. – 2013. – Vol. 9. – P. 302–308.
11. Analysis of mRNA expression profiles of carotenogenesis and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis* under exogenous 2,4-epibrassinolide (EBR) / Z. Gao [et al.] // Biol. Res. – 2013. – Vol. 46, N 2. – P. 201–206.
12. Аверина, Н. Г. Изучение влияния 5-аминолевулиновой кислоты на рост растений ячменя / Н. Г. Аверина, Е. Б. Яронская // Физиология растений. – 1988. – Т. 35, вып. 5. – С. 916–920.
13. Averina, N. G. Involvement of 5-aminolevulinic acid in the regulation of plant growth / N. G. Averina, E. B. Yaronskaya // Photosynthetica. – 1991. – Vol. 25, N 1. – P. 27–31.
14. Аверина, Н. Г. Биосинтез тетрапирролов в растениях / Н. Г. Аверина, Е. Б. Яронская. – Минск : Беларус. навука, 2012. – 413 с.
15. Яронская, Е. Б. Содержание зеатина и его производных в проростках ячменя (*Hordeum vulgare* L.) с повышенным уровнем 5-аминолевулиновой кислоты / Е. Б. Яронская, И. В. Вершиловская, Н. Г. Аверина // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2004. – № 3. – С. 70–73.
16. Mechanisms of salt stress tolerance development in barley plants under the influence of 5-aminolevulinic acid / N. G. Averina [et al.] // Rus. J. of Plant Physiol. – 2010. – Vol. 57, N 6. – P. 792–798.
17. Beyzaei, Z. Response of nitrate reductase to exogenous application of 5-aminolevulinic acid in barley plants / Z. Beyzaei, R. A. Sherbakov, N. G. Averina // J. Plant Growth Regul. – 2014. – Vol. 33, N 4. – P. 745–750.
18. Promotive effect of 5-aminolevulinic acid on the growth and photosynthesis of *Spirulina platensis* / K. Sasaki [et al.] // J. Ferment. Bioengin. – 1995. – Vol. 79, N 5. – P. 453–457.
19. Jie, L. Effect of 5-Aminolevulinic acid on algae growth and product accumulation: Master's Thesis / L. Jie. – Hangzhou : Zhejiang University, 2013. – 67 p.
20. Каталог генетического фонда хозяйственно полезных видов водорослей / Нац. акад. наук Беларусі, Ин-т биологии и клеточной инженерии ; [сост.: С. С. Мельников и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2011. – 101 с.
21. Nichols, H. W. *Trichosarcina polymorpha* gen. et sp. nov. / H. W. Nichols, H. C. Bold // J. of Phycology. – 1965. – Vol. 1. – P. 34–38.
22. Imamoglu, E. Influences of different stress media and high light intensities on accumulation of Astaxanthin in the green alga *Haematococcus pluvialis* / E. Imamoglu, M. C. Dalay, F. V. Sukan // New Biotechnol. – 2009. – Vol. 26, N 3/4. – P. 199–204.
23. Imamoglu, E. Effect of different culture media and light intensities on growth of *Haematococcus pluvialis* / E. Imamoglu, F. Sukan, M. Dalay // Int. J. of Natural & Engineering Sci. – 2007. – Vol. 1, N 3. – P. 5–9.
24. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / Л. А. Сиренко [и др.]. – Киев : Наук. думка, 1975. – 248 с.

25. Effect of flashing light from blue light emitting diodes on cell growth and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis* / T. Katsuda [et al.] // J. Biosci. Bioeng. – 2006. – Vol. 102, N 5. – P. 442–446.
26. Rodriguez-Amaya, D. B. HarvestPlus handbook for carotenoid analysis / D. B. Rodriguez-Amaya, M. Kimura. – Washington : HarvestPlus, 2004. – 63 p.
27. The identification of chlorophyll and its derivatives in the pigment mixtures: HPLC-chromatography, visible and mass spectroscopy studies / S.V. Milenković [et al.] // Advanced technologies. – 2012. – Vol. 1. – P. 16–24.
28. Forni, E. HPLC separation and fluorimetric estimation of chlorophylls and pheophytins in fresh and frozen peas / E. Forni, M. Ghezzi, A. Polesello // Chromatography. – 2012. – Vol. 1. – P. 120–124.
29. Occurrence and distribution of metals and porphyrins in Nigerian coal minerals / A. A. Olajire [et al.] // J. Fuel. Chem. Technol. – 2007. – Vol. 35. – P. 641–647.
30. Bradford, M. A. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. A. Bradford // Analyt. Biochem. – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254.
31. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. – Минск : Выш. шк., 1973. – 320 с.
32. New physiological effects of 5-aminolevulinic acid in plants: the increase of photosynthesis, chlorophyll content and plant growth / Y. Hotta [et al.] // Biosci. Biotech. Biochem. – 1997. – Vol. 61, N 12. – P. 2025–2028.
33. Promotive effect of 5-aminolevulinic acid on the yield of several crops / Y. Hotta [et al.] // Plant Growth Regul. – 1997. – Vol. 22. – P. 109–114.
34. Roy, C. B. Role of aminolevulinic acid in improving biomass production in *Vigna catjung*, *V. mungo*, and *V. radiata* / C. B. Roy, M. Vivekanandan // Biol. Plantarum. – 1998. – Vol. 41, N 2. – P. 211–215.
35. Мельников, С. С. Цитокининовая активность экзометаболитов хлореллы / С. С. Мельников, Е. Е. Мананкина, Е. А. Будакова // Вест. акад. наук БССР. Сер. биол. наук. – 1988. – № 6. – С. 97–99.
36. Мельников, С. С. Биосинтез цитокининов клетками хлореллы из 5-аминолевулиновой кислот / С. С. Мельников, Е. Е. Мананкина // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2002. – № 4. – С. 47–49.
37. Stirk, W. Changes in the phytohormones of *Chlorella minutissima* on a daily cycle / W. Stirk, D. Drimalova, M. Strnad // South African J. of Botany. – 2006. – Vol. 72. – P. 333.
38. Cytokinin- and auxin-like activity in Cyanophyta and microalgae / W. Stirk [et al.] // J. of Appl. Phycology. – 2002. – Vol. 14. – P. 215–221.
39. Isolation, structure and synthesis of kinetin, a substance promoting cell division / C. O. Miler [et al.] // J. Am. Chem. Soc. – 1956. – Vol. 78. – P. 1375.
40. Кулаева, О. Н. Цитокинины, их структура и функции / О. Н. Кулаева. – М. : Наука, 1973. – 264 с.

References

1. Shimidzu N., Goto M., Miki W. Carotenoids as singlet oxygen quenchers in marine organisms. *Fisheries Science*, 1996, vol. 62, no. 1, pp. 134–137.
2. Hussein G., Sankawa U., Goto H., Matsumoto K., Watanabe H. Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition. *Journal of Natural Products*, 2006, vol. 69, no. 3, pp. 443–449. DOI: 10.1021/np050354+
3. Johnson E. A., Schroeder W. A. Microbial carotenoids. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 1996, vol. 53, pp. 119–178.
4. Krishna K. B., Mohanty P. Secondary carotenoid production in green algae. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 1998, vol. 57, pp. 51–63.
5. Guerin M., Huntley M. E., Olaizola M. *Haematococcus astaxanthin*: applications for human health and nutrition. *Trends in Biotechnology*, 2003, vol. 21, no. 5, pp. 210–216. DOI: 10.1016/S0167-7799(03)00078-7
6. Higuera-Ciapara I., Felix-Valenzuela L., Goycoolea Higuera-Ciapara F. Astaxanthin: a review of its chemistry and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2006, vol. 46, no. 2, pp. 185–196. DOI: 10.1080/10408690590957188
7. Yuan J-P., Chen F. Identification of astaxanthin isomers in *Haematococcus lacustris* by HPLC-photodiode array detection. *Biotechnology Techniques*, 1997, vol. 11, no. 7, pp. 455–459.
8. Cifuentes A. S., González M. A., Vargas S., Hoeneisen M., González N. Optimization of biomass, total carotenoids and astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* Flotow strain Steptoe (Nevada, USA) under laboratory conditions. *Biological Research*, 2003, vol. 36, pp. 343–357.
9. Chunmei H., Janguo L., Yong Z. Cell growth and astaxanthin accumulation of four strains of *Haematococcus pluvialis* exposed to different plant regulators. *Oceanologia et Limologia Sinica*, 2006, vol. 40, no. 4, pp. 430–436.
10. Raposo M., de Moraes R. M. Influence of the growth regulators kinetin and 2,4-D on the growth of two chlorophyte microalgae, *Haematococcus pluvialis* and *Dunaliella salina*. *Journal of Basic and Applied Sciences*, 2013, vol. 9, pp. 302–308.
11. Gao Z., Meng C., Gao H., Zhang X., Xu D., Su Y., Wang Y., Zhao Y., Ye N. Analysis of mRNA expression profiles of carotenogenesis and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis* under exogenous 2,4-epibrassinolide (EBR). *Biological Research*, 2013, vol. 46, no. 2, pp. 201–206. DOI: 10.4067/S0716-97602013000200012
12. Averina N. G., Iaronskaia E. B. The study of the effect of 5-aminolevulinic acid on the growth of barley plants. *Fiziologiya rastenii* [Plant Physiology], 1988, vol. 35, no. 5, pp. 916–920 (in Russian).
13. Averina N. G., Yaronskaya E. B. Involvement of 5-aminolevulinic acid in the regulation of plant growth. *Photosynthetic*, 1991, vol. 25, no. 1, pp. 27–31.
14. Averina N. G., Yaronskaya E. B. *Biosynthesis of tetrapyrroles in plants*. Minsk, Belarusian Science, 2012. 413 p. (in Russian).

15. Yaronskaya E. B., Vershilovskaia I. V., Averina N. G. The content of zeatin and its derivatives in barley sprouts (*Hordeum vulgare* L.) with an increased level of 5-aminolevulinic acid. *Vestsi Natsyianal'nai Akademii navuk Belarusi. Seriya biialagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2004, no. 3, pp. 70–73 (in Russian).
16. Averina N. G., Gritskevich E. R., Vershilovskaya I. V., Usatov A. V., Yaronskaya E. B. Mechanisms of salt stress tolerance development in barley plants under the influence of 5-aminolevulinic acid. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2010, vol. 57, no. 6, pp. 792–798.
17. Beyzaei Z., Sherbakov R. A., Averina N. G. Response of nitrate reductase to exogenous application of 5-aminolevulinic acid in barley plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2014, vol. 33, no. 4, pp. 745–750. DOI: 10.1007/s00344-014-9422-4
18. Sasaki K., Marquez F. J., Nishio N., Nagai S. Promotive effect of 5-aminolevulinic acid on the growth and photosynthesis of *Spirulina platensis*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1995, vol. 79, no. 5, pp. 453–457.
19. Jie, L. *Effect of 5-Aminolevulinic acid on algae growth and product accumulation*, Master's Thesis. Hangzhou, Zhejiang University, 2013. 67 p.
20. *Catalog of the genetic fund of economically useful species of algae*, compilers: Mel'nikov S. S., Manankina E. E., Budakova E. F., Shalygo N. V. Minsk, Belarusian science, 2011. 101 p. (in Russian).
21. Nichols H. W., Bold H. C. *Trichosarcina polymorpha* gen. et sp. nov. *Journal of Phycology*, 1965, vol. 1, pp. 34–38. DOI: 10.1111/j.1529-8817.1965.tb04552.x
22. Imamoglu E., Dalay M. C., Sukan F. V. Influences of different stress media and high light intensities on accumulation of Astaxanthin in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *New Biotechnology*, 2009, vol. 26, no. 3/4, pp. 199–204. DOI: 10.1016/j.nbt.2009.08.007
23. Imamoglu E., Sukan F. V., Dalay M. C. Effect of different culture media and light intensities on growth of *Haematococcus pluvialis*. *International Journal of Natural & Engineering Sciences*, 2007, vol. 1, no. 3, pp. 5–9.
24. Sidorenko L. F., Sakevich A. I., Osipov L. F., Lukina I. F., Kuzmenko M. I., Kozitskaia V. N., Velichko I. M., Myslovich V. O., Gavrilenko V. Y., Arendarchuk V. V., Kirpenko U. A. Methods of physiological and biochemical study of algae in hydrobiological practice. Kiev, Scientific thought, 1975. 248 p. (in Russian).
25. Katsuda T., Shimahara K., Shiraishi H., Yamagami K., Ranjbar R., Katoh S. Effect of Flashing light from blue light emitting diodes on cell growth and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2006, vol. 102, no. 5, pp. 442–446.
26. Rodriguez-Amaya D. B., Kimura M. *HarvestPlus handbook for carotenoid analysis*. Washington, HarvestPlus, 2004. 63 p.
27. Milenković S. V., Anđelković T. D., Zvezdanović J. B., Marković D. Z. The identification of chlorophyll and its derivatives in the pigment mixtures: HPLC-chromatography, visible and mass spectroscopy studies. *Advanced Technologies*, 2012, vol. 1, pp. 16–24.
28. Forni E., Ghezzi M., Polesello A. HPLC separation and fluorimetric estimation of chlorophylls and pheophytins in fresh and frozen peas. *Chromatography*, 2012, vol. 1, pp. 120–124.
29. Olajire A. A., Ameen A. B., Abdul-Hameed M., Adekola F. A. Occurrence and distribution of metals and porphyrins in Nigerian coal minerals. *Journal of Fuel Chemistry and Technology*, 2007, vol. 35, pp. 641–647.
30. Bradford M. A. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, vol. 72, pp. 248–254.
31. Rokitskii P. F. *Biological statistics*. Minsk, Graduate school, 1973. 320 p. (in Russian).
32. Hotta Y., Tanaka T., Takaoka H., Takeuchi Y., Konnai M. New physiological effects of 5-aminolevulinic acid in plants: the increase of photosynthesis, chlorophyll content and plant growth. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 1997, vol. 61, no. 12, pp. 2025–2028. DOI:10.1271/bbb.61.2025
33. Hotta Y., Tanaka T., Takaoka H., Takeuchi Y., Konnai M. Promotive effect of 5-aminolevulinic acid on the yield of several crops. *Plant Growth Regulation*, 1997, vol. 22, pp. 109–114.
34. Roy C. B., Vivekanandan M. Role of aminolevulinic acid in improving biomass production in *Vigna catjang*, *V. mungo*, and *V. radiata*. *Biologia Plantarum*, 1998, vol. 41, no. 2, pp. 211–215.
35. Melnikov S. S., Manankina E. E., Budakova E. A. Cytokinin activity of chlorella exometabolites. *Vestsi akademii navuk BSSR. Seriya biialagichnykh navuk = Proceedings of the Academy of Sciences of BSSR*, 1988, no. 6, pp. 97–99 (in Russian).
36. Melnikov S. S., Manankina E. E. Biosynthesis of cytokinins by chlorella cells from 5-aminolevulinic acids. *Vestsi Natsyianal'nai Akademii navuk Belarusi. Seriya biialagichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2002, no. 4, pp. 47–49 (in Russian).
37. Stirck W., Drimalova D., Strnad M. Changes in the phytohormones of *Chlorella minutissima* on a daily cycle. *South African Journal of Botany*, 2006, vol. 72, p. 333.
38. Stirck W., Ördög V., J. V. Staden, Jäger K. Cytokinin- and auxin-like activity in Cyanophyta and microalgae. *Journal of Applied Phycology*, 2002, vol. 14, pp. 215–221.
39. Miler C. O., Skoog F., Okumura F. S., Von Saltza M. H., Strong F. M. Isolation, structure and synthesis of kinetin, a substance promoting cell division. *Journal of the American Chemical Society*, 1956, vol. 78, p. 1375.
40. Kulaeva O. N. *Cytokinins, their structure and functions*. Moscow, Science, 1973. 264 p. (in Russian).

Информация об авторах

Аверина Наталья Георгиевна – д-р биол. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: averina@ibp.org.by.

Шербakov Ростислав Александрович – канд. биол. наук, науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: sherbakov@ibp.org.by.

Козел Николай Владимирович – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kmu@tut.by.

Мананкина Елена Евгеньевна – канд. биол. наук, науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: room454@mail.ru.

Гончарик Руслан Геннадьевич – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: rusgon@mail.ru.

Шалыго Николай Владимирович – член-корреспондент, д-р биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: shalygo@ibp.org.by.

Information about the authors

Nataliya G. Averina – D. Sc. (Biol.), Professor, Chief researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: averina@ibp.org.by.

Rostislav A. Sherbakov – Ph. D. (Biol.), Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sherbakov@ibp.org.by.

Nikolai V. Kozel – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kmu@tut.by.

Elena E. Manankina – Ph. D. (Biol.), Researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: room454@mail.ru.

Ruslan G. Goncharik – Junior researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rusgon@mail.ru.

Nikolai V. Shalygo – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Associate Professor, Head of the Laboratory. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shalygo@ibp.org.by.