BIOMICS/БИОМИКА

ISSN 2221-6197 http://biomicsj.ru

ВЛИЯНИЕ СВЕТА И ТЕМПЕРАТУРНОГО РЕЖИМА НА СОДЕРЖАНИЕ КАРОТИНОИДОВ В КЛЕТКАХ МИКРОВОДОРОСЛИ *CHLOROMONAS RETICULATA* (GOROSCHANKIN) GOBI

О.В. Дымова[1], И.В. Новаковская[1], Е.Н. Патова[1], Д.А. Постельный[2], А.А.Петухов[2]

[1]Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, 167982, Россия, Республика Коми, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28,
[2]Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина, 167001, Россия,
Республика Коми, Сыктывкар, Октябрьский пр., 55.
E-mails: dymovao@ib.komisc.ru, novakovskaya@ib.komisc.ru

Резюме

Изучено влияние света и температуры на синтез каротиноидов в клетках зеленой криофильной водоросли *Chloromonas reticulata* при культивировании в лабораторных условиях. Получены первые сведения о составе и количестве каротиноидов на примере штамма SYKOA Ch-054-11 (Коллекция живых культур водорослей Института биологии Коми НЦ УрО РАН). В клетках водоросли синтезируются β-каротин (предшественник астаксантина), ксантофиллы – неоксантин и лютеин, и пигменты виолаксантинового цикла (виолаксантин, антераксантин, зеаксантин). При освещении 500 мкМоль/(м^{2}с) ФАР концентрация каротиноидов в клетках водоросли составила 63.5±6.5 мкг/мл, что в 8 раз выше по сравнению с показателями, полученными в эксперименте с освещенностью 35 мкмоль/(м^{2}с) ФАР. Отмечено незначительное увеличение содержания каротиноидов (до 26 мкг/мл) при понижении температуры культивирования от 20 до 10°С. Наблюдали тенденцию к индукции синтеза астаксантина при высокой освещенности.

Ключевые слова: *Chloromonas reticulata*, водоросли, каротиноиды, астаксантин, высокий свет, температурный режим

Цитирование: Дымова О.В., Новаковская И.В., Патова Е.Н., Постельный Д.А., Петухов А.А. Влияние света и температурного режима на содержание каротиноидов в клетках микроводоросли *Chloromonas reticulata* (Goroschankin) Gobi // Биомика. 2020. Т.12(3). С. 359-366. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-24

© Авторы

EFFECT OF LIGHT AND TEMPERATURE REGIME ON THE CONTENT OF CAROTENOIDS IN CELLS OF *CHLOROMONAS RETICULATA* (GOROSHANKIN) GOBI

O.V. Dymova[1], I.V. Novakovskaya[1], E.N. Patova[1], D.A. Postelniy[1], A.A. Petychov[2]

[1]Institute of Biology, Komi Scientific Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences,
Kommunisticheskaya St. 28, Syktyvkar, Komi Republic, 167982, Russia
[2]Pitirim Sorokin Syktyvkar State University, Oktyabrsky prosp., 55, Syktyvkar, Komi Republic, 167001, Russia
E-mails: dymovao@ib.komisc.ru, novakovskaya@ib.komisc.ru

Resume

We studied the effect of light and temperature on the content of carotenoids in the cells of the green cryophilic alga *Chloromonas reticulata* during cultivation in laboratory conditions. We obtained the first information on the amount and composition of the carotenoids of the SYKOA Ch-054-11 strain from the collection of live cultures of algae of the Institute of Biology of the Komi Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences. In the algal cells the carotenoids profile were β-carotene (precursor to astaxanthin), xanthophylls – neoxanthin and lutein, and the violaxanthin cycle pigments such as violaxanthin, antheraxanthin, zeaxanthin). At light of 500 μM/(m^{2}s) PAR the concentration of carotenoids consisted of 63.5±6.5 μg/ml. At light of 35 μM/(m^{2}s) PAR the carotenoid content in algal cells was lower by factor of 8-fold. The content of photosynthetic carotenoids increased slightly (up to 26.0 μg/ml) with a decrease of temperature from 20 to 10 ° C. The tendency to induce of astaxanthin synthesis at high light was observed.

Key words: *Chloromonas reticulata*, algae, carotenoids, astaxanthin, high light, temperature

Citation: Dymova O.V., Novakovskaya I.V., Patova E.N., Postelniy D.A., Petychov A.A. Effect of light and temperature regime on the content of carotenoids in cells of *Chloromonas reticulata* (Goroshankin) Gobi. *Biomics*. 2020. V. 12(3). P. 359-366. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2020-24 (In Russian)

© The Authors

Введение

Микроводоросли относятся к важнейшим возобновляемым сырьевым ресурсам планеты, т.к. способны синтезировать и накапливать в коммерчески значимых количествах ценные метаболиты, витамины и различные органические соединения [Apt, Behrens, 1999; Минюк и др. (Minyuk et al.), 2008; Mostafa, 2012]. По сравнению с высшими растениями, они имеют более высокий темп роста, пластичный метаболизм, большее разнообразие видов, а также в условиях интенсивной культуры качеством и количеством клеток водорослей можно управлять. Такое преимущество позволяет активно развивать промышленную биотехнологию микроводорослей. В настоящее время они широко используются для производства белка, кормов для птицеводства и рыбоводства, удобрений, биотоплива, биогаза, сырья для фармацевтической промышленности, пластмасс и других технических продуктов [Минюк и др. (Minyuk et al.), 2008; Mostafa, 2012; Ng et al., 2015]. Большой интерес представляют виды, способные накапливать вторичные каротиноиды (ВКар) – нефотосинтетические пигменты, локализованные во внетилакоидных структурах (липидных глобулах) [Del Campo et al., 2007]. Структура ВКар существенно варьирует у различных групп микроводорослей.

Различают первичные и вторичные каротиноиды: первичные (фотосинтетические) являются структурными и функциональными компонентами пигментного аппарата, необходимы для осуществления процесса фотосинтеза; вторичные – производятся микроводорослями после воздействия специфических стимулов окружающей среды (посредством каротеногенеза). Характерные для высших растений фотосинтетические ксантофиллы такие как виолаксантин, антераксантин, зеаксантин, неоксантин и лютеин, также могут быть синтезированы зелёными микроводорослями, у которых накапливаются дополнительные ксантофиллы (кетокаротиноиды): астаксантин, кантаксантин и др. [Ben-Amotz et al., 1982; Bidigare et al., 1993; Del Campo et al, 2001; Соловченко (Solovchenko), 2013б]. Кетокаротиноиды являются продуктами многостадийного ферментативного окисления β-каротина в астаксантин [Grung et al., 1992; Lemoine, Schoefs, 2010]. В стрессовых условиях многие виды водорослей способны вырабатывать каротиноиды в больших количествах. На их биосинтез оказывают влияние высокие потоки ФАР, дефицит азота и фосфора, доступность минеральных солей, температура, кислотность и др. [Hagen et al., 1994; Liu et al., 2000; Соловченко (Solovchenko), 2013б]. Экстремофильные виды обладают способностью к индукции синтеза ВКар и накоплению их в больших количествах [Соловченко (Solovchenko), 2013б].

Одним из видов – продуцентов ВКар – является криофильная одноклеточная двужгутиковая зеленая водоросль *Chloromonas reticulat*a (Goroschankin) Gobi, которая характеризуется одноядерными эллипсоидными или яйцевидными клетками, с выпуклым носиком, чашевидным хлоропластом с перфорациями и разрезами на поверхности, без пиреноида (Рис. 1). Размножается бесполым путем за счет формирования преимущественно 4 или 8, реже 2, зооспор в родительской клеточной стенке. Клетки 11-20 мкм в длину и 5-15 мкм в ширину. Вид относится к числу пластичных организмов и имеет широкий ареал [Matsuzaki et al., 2012; Novakovskaya et al., 2018].

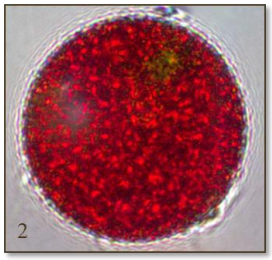

Рис. 1. Живые клетки водоросли *Chloromonas reticulata.* 1 – вегетативные клетки; 2 – клетки на поверхности снега
Fig.1. Living cells of *Chloromonas reticulata.* 1 – vegetative young cells; 2. – cell in the snow samples

Эта микроводоросль способна синтезировать кетокаротиноид астаксантин в природных условиях. Астаксантин (3,3'-дигидрокси-4,4'-диоксо-β-каротин) – достаточно широко распространенный красный пигмент из группы ксантофиллов. В клетках снежных водорослей астаксантин выступает в роли защитного фильтра от излучения [Bidigare et al., 1993; Boussiba, 2000]. Благодаря своей антиоксидантной активности он может служить мощным поглотителем свободных радикалов, а также участвует в защите от перекисного окисления липидных мембран незаменимых полиненасыщенных жирных кислот и белков, повреждения ДНК и в иммунологической защите [Hussein et al., 2006; Ikeda et al., 2008]. Антиоксидантные свойства этого кетокаротиноида широко используют в косметологии, медицине в качестве биологически активных добавок.

Для криофильных водорослей стрессовыми факторами являются субоптимальные температуры в сочетании с высокими потоками ФАР [Bidigare et al., 1993; Соловченко и др. (Solovchenko et al.), 2013a; Osterrothová et al., 2019]. В связи с этим нами было изучено влияние высокого света и разных температур на накопление каротиноидов и способность синтезировать астаксантин в клетках водоросли *C. reticulata*.

Цель работы – изучить влияние высокого света и температурного режима на накопление каротиноидов в клетках водоросли *C. reticulata* при культивировании в лабораторных условиях.

Материалы и методы

В качестве объекта для изучения был использован альгологически чистый штамм *C. reticulata* из коллекции живых культур водорослей Института биологии Коми НЦ УрО РАН (SYKOA Ch-054-11). Водоросль была выделена с поверхности красного снега на Приполярном Урале в 2010 г. (65°13’49.5”N, 60°13’19.4”E). Проведены исследования по изучению ее морфологических и молекулярно-генетических особенностей. Фрагменты последовательностей штамма 18S рДНК и ITS1-5.8S-ITS2 представлены в GenBank под номерами KF361494 и MF033356 [Novakovskaya et al., 2018]. В настоящей работе выполнено несколько серий экспериментов по влиянию высокой освещенности и температурного режима на накопление каротиноидов в клетках водоросли *C. reticulata*. Все эксперименты проводили в двух повторностях для каждого варианта. В первой серии экспериментов изучали воздействие света интенсивностью 500 мкмоль/(м^{2}с) ФАР на накопление каротиноидов. Для этого клетки *C. reticulata*, которые до начала эксперимента культивировали в 50 мл флаконах (Falcon) на стандартной питательной среде для зеленых водорослей 3N BBM (pH=6) при слабом освещении 35 мкмоль/(м^{2}с) ФАР (фитолампа Sylvania GRO-Lux F36 W/Gro-TB, Германия) и комнатной температуре, брали с экспоненциальной фазы роста (6 сутки) и помещали в 4 чашки Петри. Две из них освещали под лампой POLAM LRW 400W (Польша) при 500 мкмоль/(м^{2}с) ФАР в течение 1 ч., а две другие были оставлены в качестве контроля при освещении 35 мкмоль/(м^{2}с) ФАР.

Во второй серии – изучали влияние различных температур (10 и 20°C) на накопление каротиноидов в клетках водоросли. Для этого в 50 мл флакон наливали 35 мл питательной среды 3N BBM и вносили 1 мл исходной жидкой культуры водоросли (предварительно наращённой при тех же условиях, что описано выше). Наращивание биомассы проводили в холодильнике (10°C) и при комнатной температуре (20°C, контроль) на шейкерах со скоростью 150 оборотов/мин в течение двух недель при освещении 45 мкмоль/(м^{2}с) (фитолампа Uniel ULI-P11-35 W/SPFR IP40 WHITE, Китай). Соотношение периодов день/ночь – 12/12 часов.

Для идентификации состава хлорофиллов (Хл) и Кар в биомассе *C. reticulata* проводили экстракцию с использованием диметилсульфоксида [Дымова, Кузиванова (Dymova, Kuzivanova), 2018]. Пигменты анализировали методом обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе (Knauer, Германия) [Gilmore, Yamamoto, 1991].

Результаты и обсуждение

В ходе эксперимента выявлено, что при сильном освещении в клетках водоросли повышается содержание каротиноидов, при этом видимых невооруженным взглядом изменений в чашках с водорослью не наблюдали. Хроматографический анализ показал (табл. 1), что освещение клеток *C. reticulata* светом высокой интенсивности (500 мкмоль/(м^{2}с) ФАР) приводило к накоплению каротиноидов (63.5 мкг/мл). Среди них преобладал β-каротин (36% от суммы каротиноидов), присутствовали ксантофиллы – неоксантин и лютеин (по 24% каждый), и пигменты виолаксантинового цикла (виолаксантин, антераксантин, зеаксантин). Согласно нашим данным, повышение освещенности способствовало синтезу астаксантина (до 0.5% от суммы каротиноидов).

Известно, что астаксантин имеет высокие значения коэффициента экстинкции в полосе его поглощения в сине-зеленой области [Britton, 1995]. Благодаря этому данный пигмент способен осуществлять защиту клетки от фотоповреждения путем оптического экранирования поглощающих свет фотосинтетических пигментов [Hagen et al., 1994; Boussiba, 2000; Solovchenko et al., 2010]. При действии на клетки высокой освещенности происходит миграция липидных глобул от центра к периферии. В этом заключается фотозащитная роль находящегося в них астаксантина: увеличение интенсивности света приводит к изменению пространственной ориентации внутриклеточных структур таким образом, что все они оказываются заслонены поглощающими свет глобулами. Следует отметить, что эффективное экранирование может осуществляться только при избыточном содержании

астаксантина [Fan et al., 1998]. При этом сильно редуцированный ФСА клеток оттесняется в центральную часть клетки липидными глобулами, заслоняющими его от света [Lang, 1968]. В природных условиях при повышенной солнечной инсоляции у многих водорослей, в том числе и *C. reticulata*, вегетативные клетки способны переходить в устойчивые к фотоокислительному стрессу покоящиеся клетки - цисты красного цвета. Они отличаются высоким содержанием астаксантина и низким - хлорофилла [Соловченко и др. (Solovchenko et al.), 2011].

Полученные результаты для криофильной водоросли *C. reticulata* согласуются с данными, подтверждающими влияние света высокой интенсивности на биосинтез ВКар [Rise et al., 1994; Boussiba, 2000; Соловченко и др. (Solovchenko et al.), 2008; 2011; 2013a и др.].

Таблица 1

Содержание индивидуальных каротиноидов (мкг/мл) в клетках водоросли *Chloromonas reticulata*, выращенных при 35 мкмоль/(м^{2}с) ФАР (1) и после облучения светом 500 мкмоль/(м^{2}с) ФАР (2) в течение 1 ч.
Table 1. Content of individual carotenoids (μg/ml) in cells of algae *Chloromonas reticulata* grown at 35 μmol/(m^{2}s) PAR (1) and after exposure to light of 500 μmol/(m^{2}s) PAR (2) for 1 h.

Вариант/Variant	Нео/Neo	Вио/Vio	Ант/Ant	Лют/Lut	Зеа/Zea	β-кар/ β-car	Аст/Ast	Сумма Кар/Car amount
1	0.81± 0.04	0.52± 0.03	0.07± 0.01	2.78± 0.30	1.47± 0.15	1.88± 0.20	не найден not found	7.54± 0.80
2	14.94± 1.50	7.82± 0.80	0.53± 0.05	15.36± 1.60	1.81± 0.20	22.85± 2.30	0.22±0.02	63.53± 6.54

Пигменты/Pigments: Нео/Neo – неоксантин/neoxanthin, вио/vio – виолаксантин/violaxanthin, ант/ant – антераксантин/antheraxanthin, лют/lut – лютеин/lutein, зеа/zea – зеаксантин/zeaxanthin, β-кар/ β-kar–β-каротин/ β-carotene, аст/ast – астаксантин/astaxanthin, сумма Кар/car amount – сумма каротиноидов/ carotenoids amount.

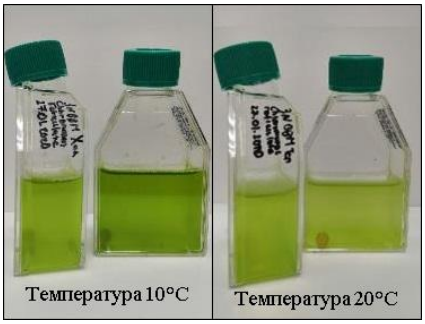

Рис. 2. Культуральные флаконы с накопленной биомассой водоросли *Chloromonas reticulata* после эксперимента по влиянию различных температур (10 и 20°С) на накопление каротиноидов в клетках.
Fig. 2. Culture vials with accumulated algae biomass *Chloromonas reticulata* after an experiment on the effect of different temperatures (10 and 20°C) on the carotenoids accumulation in cells.

Во второй серии эксперимента изучали влияние разных температур на содержание каротиноидов в клетках водоросли. По окончанию исследования наблюдали заметную разницу в окраске культур и накопленной биомассе (Рис. 2). Выявили (табл. 2), что при 10°С концентрация каротиноидов (26±8 мкг/мл) была на 40% выше, чем при 20°С. При низкой температуре наблюдали накопление всех каротиноидов – β-каротина (на 33%), неоксантина (на 44%), лютеина (на 50%), и компонентов виолаксантинового цикла (зеаксантин + виолаксантин + антераксантин) (на 27%). Содержание астаксантина в клетках штамма при разных температурах достигало 0.6-0.7% и было выше при 10°С.

Таблица 2. Влияние температуры на содержание каротиноидов в клетках водоросли *Chloromonas reticulata*, выращенной на среде 3N BBM, мкг/мл (n=3) / Table 2. Effect of temperature on the content of carotenoids in cells of alga *Chloromonas reticulata* grown on 3N BBM medium, μg/ml (n = 3)

Вариант/ Variant	Нео/Neo	Вио/Vio	Ант/Ant	Лют/Lut	Зеа/Zea	β-кар/ β-car	Аст/Ast	Сумма Кар/Car amount
10°С	7.50± 2.26	3.56± 0.73	0.15± 0.05	6.19± 3.55	0.54± 0.31	7.61± 1.34	0.15± 0.03	25.70± 8.2
20°С	4.19± 0.29	2.73± 0.17	0.12± 0.02	3.03± 0.98	0.24± 0.05	5.11± 0.12	0.10± 0.02	15.51± 0.86

Названия пигментов – как в таблице 1. / Names of pigments see in Table 1.

Криофильные водоросли имеют особые механизмы адаптации к экстремальным нагрузкам окружающей среды (низким температурам, высокой освещенности и др.). Согласно [Zheng et al., 2020] у *C. nivalis* как одной из самых распространенных и хорошо изученных снежных водорослей, при низких температурах снижается светособирающая способность фотосистемы II и повышается циклический перенос электронов вокруг фотосистемы I. Это предотвращает повреждение фотосистем от избыточной световой энергии и приводит к продукции АТФ, необходимой для поддержания клеточного роста и других физиологических процессов. При этом наличие каротиноидов и активность антиоксидантных ферментов регулируют уровни активных форм кислорода у *C. nivalis*, способствуя снижению фотоокислительного повреждения в клетке. Такие адаптивные механизмы, связанные с регуляцией фотосинтеза, способствуют не только выживанию, но и цветению *C. nivalis* в условиях низких температур [Zheng et al., 2020]. В работах авторов [Bidigare et al., 1993; Remias et al., 2010; Rezanka et al., 2014] показано, что при адаптации к высокой освещенности в клетках *C. nivalis* накапливаются липиды и каротиноиды, уменьшается число светособирающих пигмент-белковых комплексов и повышается уровень этерифицированного жирными кислотами астаксантина, что снижает повреждение фотосинтетического аппарата, предотвращает фотоингибирование и способствует поддержанию максимальной эффективности фотосинтеза.

На основании приведенных выше данных литературы и основываясь на собственных экспериментальных данных по накоплению каротиноидов в клетках *C. reticulata*, можно предположить, что адаптация изучаемой нами микроводоросли к низкой температуре и повышенной инсоляции осуществляется за счет сходных с клетками *C. nivalis* механизмов и требует дальнейших исследований пигментного аппарата *C. reticulata*.

Заключение

В ходе проведенного исследования получены первые сведения о составе и количестве каротиноидов, накапливаемых зеленой микроводорослью *C. reticulata* (на примере штамма (SYKOA Ch-054-11). Показано, что интенсивность освещения и температура влияют на накопление каротиноидов у *C. reticulata*. При освещении 500 мкмоль/(м^{2}с) ФАР концентрация каротиноидов увеличивалась почти на порядок (в 8.5 раза). При температуре 10°С содержание каротиноидов в клетках водоросли возрастало почти вдвое по сравнению с клетками, культивируемыми при 20°С. Количество кетокаротиноида астаксантина в клетках *C. reticulata* достигало 0.5% как при высоком освещении, так и при низкой температуре. На основании полученных нами данных можно предположить, что накопление каротиноидов и их наличие в липофильной фазе мембран тилакоидов хлоропластов способно обеспечить текучесть мембран при низких температурах. Штамм водоросли (SYKOA Ch-054-11) является перспективным для биотехнологических исследований. В дальнейшем будет продолжена работа по подбору оптимальных условий культивирования, обеспечивающих высокую динамику роста культуры *C. reticulata* и максимальное накопление каротиноидов, в первую очередь астаксантина в клетках.

Финансирование исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственных заданий Института биологии Коми НЦ УрО РАН (№АААА-А17-117033010038-7 и №АААА-А19-119011790022-1).

Литература

1. Дымова О.В., Кузиванова О.А. Оптимизация способа экстракции фотосинтетических пигментов и их содержание в талломах лишайников. *Химия растительного сырья*. 2018. №2. С. 137-144. doi: 10.14258/jcprm.2018023013

2. Минюк Г.С., Дробецкая И.В., Чубчикова И.Н., Терентьева Н.В. Одноклеточные водоросли как возобновляемый биологический ресурс: Обзор. *Морський екологічний журнал*. 2008. Т. VII (2). С. 5-23.

3. Соловченко А.Е. Физиология и адаптивное значение вторичного каротиногенеза у зеленых микроводорослей. *Физиология растений*. Т. 60(1). 2013б. С. 3-16. doi: 10.7868/S0015330313010089

4.Соловченко А.Е., Хозина-Голдберг И., Диди-Коэн Ш., Коэн Ц., Мерзляк М.Н. Влияние света и азотного голодания на содержание и состав каротиноидов зеленой водоросли *Parietochloris incisa*. *Физиология растений*. 2008. Т. 55(4). С. 507-515.

5. Соловченко А.Е., Чивкунова О.Б., Маслова И.П. Пигментный состав, оптические свойства и устойчивость фотодеструкции микроводоросли *Haematococcus pluvialis*, культивируемой при высокой освещенности. *Физиология растений*. 2011. Т. 58(1). С. 12-20.

6. Соловченко А.Е., Чивкунова О.Б., Семенова Л.Р., Селях И.О., Щербаков П.Н., Карпова Е.А., Лобакова Е.С. Влияние стрессов на содержание пигментов и жирных кислот липидов в клетках микроводоросли *Desmodesmus* sp. из Беломорского гидроида. *Физиология растений*. 2013а. Т. 60(3). С. 320-329. doi: 10.7868/S0015330313030135

7. Apt K.E., Behrens P.W. Commercial developments in microalgal biotechnology. *Journal of Phycology*. 1999. V. 35(2). P. 215-226. doi: 10.1046/j.1529-8817.1999.3520215.x
8. Ben-Amotz A., Katz A., Avron M. Accumulation of β-carotene in halotolerant alga: purification and characterization of β-carotene-rich globules from *Dunaliella bardawil* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*. 1982. V. 18. P. 529-537.
9. Bidigare R., Ondrusek M., Kennicutt M., Iturriaga R., Harvey H., Hoham R., Macko S. Evidence a photoprotective for secondary carotenoids of snow algae. *Journal of Phycology*. 1993. V. 29. P. 427-434.
10. Boussiba S. Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: cellular physiology and stress response. *Physiologia Plantharum*. 2000. V. 108. P. 111-117. doi: 10.1034/j.1399-3054.2000.108002111.x
11. Britton G. UV/Visible Spectroscopy. In G.Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander (Eds.). Carotenoids. Basel: Birkhauser Verlag. 1995. P. 13-62.
12. Del Campo J.A., García-González M., Guerrero M.G. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2007. V. 74(6). P. 1163-1174. doi: 10.1007/s00253-007-0844-9
13. Del Campo J.A., Rodríguez H., Moreno J., Vargas M., Rivas J., Guerrero M.G. Lutein production by *Muriellopsis* sp. in an outdoor tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*. 2001. V. 85(3). P. 289-295. doi: 10.1016/S0168-1656(00)00380-1
14. Gilmore A. M., Yamamoto H. Y. Resolution of lutein and zeaxanthin using a non-endcapped, lightly carbon-loaded C18 high-performance liquid chromatographic column. *Journal of Chromatography A*. 1991. V. 543. P. 137–145.
15. Grung M., D'Souza F.M.L., Borowitzka M. Algal carotenoids 1. Seconday carotenoids 2. *Haematococcus pluvialis* aplanospores as a source of (3S, 3'S)-astaxanthin esters. *Journal of Applied Phycology*. 1992. V. 4. P. 165-171.
16. Fan L., Vonchak A., Zarka A., Boussiba S. Does astaxanthin protect *Haematococcus* against light damage? // *Zeitschrift für Naturforschung*. 1998. V. 53. P. 93-100. doi: https://doi.org/10.1515/znc-1998-1-217
17. Hagen C., Braune W., Bjorn L. Functional aspects of secondary carotenoids in *Haematococcus lacustris* (Volvocales). III. Action as a «sunshade». *Journal of Phycology*. 1994. V. 30(2). P. 241-248. doi: 10.1111/j.0022-3646.1994.00241.x
18. 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. V. 69. P. 443-449. doi: 10.1021/np050354+
19. Ikeda Y., Tsuji S., Satoh A., Ishikura M., Shirasawa T., Shimizu T. Protective effects of astaxanthin on 6-hydroxydopamine induced apoptosis in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Journal of Neurochemistry*. 2008. V. 107. P. 1730-1740. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05743.x
20. Lang N.J. Electron microscopic studies of extraplastidic astaxanthin in *Haematococcus*. *Journal of Phycology*. 1968. V. 4 (1). P. 12-19.
21. Lemoine Y., Schoefs B. Secondary ketocarotenoid astaxanthin biosynthesis in algae: a multifunctional response to stress. *Photosynthesis Research*. 2010. V.106. P. 155-177. doi: 10.1007/s11120-010-9583-3.
22. Liu B.-H., Lee Y.-K. Secondary carotenoids formation by the green alga *Chlorococcum* sp. *Journal of Applied Phycology*. 2000. V. 12(3/5). P. 301-307. doi:10.1023/a:1008185212724
23. Matsuzaki R., Hara Y., Nozaki H. A taxonomic revision of *Chloromonas reticulata* (Volvocales, Chlorophyceae), the type species of the genus *Chloromonas*, based on multigene phylogeny and comparative light and electron microscopy. *Phycologia*. 2012. V. 51(1). P. 74-85. doi: 10.2216/11-18.1
24. Mostafa S.S.M. Microalgal Biotechnology: Prospects and Applications. In *Plant Science*. Edited by Nabin Kumar D. INTech. 2012. doi: 10.5772/53694. Available from: https://www.intechopen.com/books/plant-science/microalgal-biotechnology-prospects-and-applications
25. Ng D.H.P., Ng Y.K., Shen H., Lee Y.K. Microalgal biotechnology: The way forward. In S.K. Kim (Ed.). *Handbook of marine microalgae: Biotechnology Advances*. London: Academic Press. 2015. 69-77 p. doi:10.1016/b978-0-12-800776-1.00006-6
26. Novakovskaya I.V., Patova E.N., Boldina O.N., Patova A.D., Shadrin D.M. Molecular phylogenetic analyses, ecology and morphological characteristics of *Chloromonas reticulata* (Goroschankin) Gobi which causes red blooming of snow in the Subpolar Urals. *Cryptogamie, Algologie*. 2018. V. 39(2). P. 199-213. doi: 10.7872/crya/v39.iss2.2018.199
27. Osterrothová K., Culka A., Němečková K., Kaftan D., Nedbalová L., Procházková L., Jehlička J. Analyzing carotenoids of snow algae by Raman microspectroscopy and high-performance liquid chromatography. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2019. V. 212. P. 262-271. doi: 10.1016/j.saa.2019.01.013
28. Remias D., Albert A., Lütz C. Effects of realistically simulated, elevated UV irradiation on photosynthesis and pigment composition of the alpine snow alga *Chlamydomonas nivalis* and the arctic soil alga *Tetracystis* sp. (Chlorophyceae). *Photosynthetica*. 2010. V. 48 (2). P. 269-277.
29. Rezanka T., Nedbalova L., Prochazkova L., Sigler K. Lipidomic profiling of snow algae by ESI-MS and silver-

LC/APCI-MS. *Phytochemistry* 2014. V. 100. P. 34-42. doi: 10.1016/j.phytochem.2014.01.017
30. Rise M., Cohen E., Vishkautsan M., Cojocaru M., Gottlieb H.E., Arad S. (M.). Accumulation of Secondary Carotenoids in *Chlorella zofingiensis*. *Journal of Plant Physiology*. 1994. V. 144. P. 287-292. doi: 10.1016/S0176-1617(11)81189-2
31. Solovchenko A., Merzlyak M.N., Khozin-Goldberg I., Cohen Z., Bousibba S. Coordinated carotenoid and lipid synthesis induced in *Parietochloris insica* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae) mutant deficient in Δ5 desaturase by nitrogen starvation and high light. *Journal of Phycology*. 2010. V. 46. P. 763-772. doi.org/10.1111/j.1529-8817.2010.00849.x
32. Zheng Y., Xue C., Chen H., He C., Wang, Q. Low-temperature adaptation of the snow alga *Chlamydomonas nivalis* is associated with the photosynthetic system regulatory process. *Frontiers in Microbiology*. 2020. № 11. doi:10.3389/fmicb.2020.01233

References

1. Apt K.E., Behrens P.W. Commercial developments in microalgal biotechnology. *Journal of Phycology*. 1999. V. 35(2). P. 215-226. doi: 10.1046/j.1529-8817.1999.3520215.x
2. Ben-Amotz A., Katz A., Avron M. Accumulation of β-carotene in halotolerant alga: Purification and characterization of β-carotene-rich globules from *Dunaliella bardawil* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*. 1982. V. 18. P. 529-537.
3. Bidigare R., Ondrusek M., Kennicutt M., Iturriaga R., Harvey H., Hoham R., Macko S. Evidence a photoprotective for secondary carotenoids of snow algae. *Journal of Phycology*. 1993. V. 29. P. 427-434.
4. Boussiba S. Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: cellular physiology and stress response. *Physiologia Plantharum*. 2000. V. 108. P. 111-117. doi: 10.1034/j.1399-3054.2000.108002111.x
5. Britton G. UV/Visible Spectroscopy. In G.Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander (Eds.). *Carotenoids*. Basel: Birkhauser Verlag. 1995. P. 13-62.
6. Del Campo J.A., García-González M., Guerrero M.G. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2007. V. 74(6). P. 1163-1174. doi: 10.1007/s00253-007-0844-9
7. Del Campo J .A., Rodríguez H., Moreno J., Vargas M., Rivas J., Guerrero M.G. Lutein production by *Muriellopsis* sp. in an outdoor tubular photobioreactor. *Journal of Biotechnology*. 2001. V. 85(3). P. 289-295. doi: 10.1016/S0168-1656(00)00380-1
8. Dymova O.V., Kuzivanova O.A. The optimization of extraction routine of photosynthetic pigments and its content in lichens thalli. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2018. № 2. P. 137-144. (in Russian). doi: 10.14258/jcprm.2018023013
9. Fan L., Vonchak A., Zarka A., Boussiba S. Does astaxanthin protect *Haematococcus* against light damage? // *Zeitschrift für Naturforschung*. 1998. V. 53. P. 93-100.
10. Hagen C., Braune W., Bjorn L. Functional aspects of secondary carotenoids in *Haematococcus lacustris* (Volvocales). III. Action as a «sunshade». *Journal of Phycology*. 1994. V. 30(2). P. 241-248. doi: 10.1111/j.0022-3646.1994.00241.x
11. 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. V. 69. P. 443-449. doi: 11.1021/np050354+
12. Gilmore A. M., Yamamoto H. Y. Resolution of lutein and zeaxanthin using a non-endcapped, lightly carbon-loaded C18 high-performance liquid chromatographic column. *Journal of Chromatography A*. 1991. V. 543. P. 137-145.
13. Grung M., D'Souza F.M.L., Borowitzka M. Algal carotenoids 1. Seconday carotenoids 2. *Haematococcus pluvialis* aplanospores as a source of (3S, 3'S)-astaxanthin esters. *Journal of Applied Phycology*. 1992. V. 4. P. 165-171.
14. Ikeda Y., Tsuji S., Satoh A., Ishikura M., Shirasawa T., Shimizu T. Protective effects of astaxanthin on 6-hydroxydopamine induced apoptosis in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. Journal of Neurochemistry. 2008. V. 107. P. 1730-1740. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05743.x
15. Lang N.J. Electron microscopic studies of extraplastidic astaxanthin in *Haematococcus*. *Journal of Phycology*. 1968. V. 4 (1). P. 12-19.
16. Lemoine Y., Schoefs B. Secondary ketocarotenoid astaxanthin biosynthesis in algae: a multifunctional response to stress. *Photosynthesis Research*. 2010. V.106. P. 155-177. doi: 10.1007/s11120-010-9583-3.
17. Liu B.-H. & Lee Y.-K. Secondary carotenoids formation by the green alga *Chlorococcum* sp. *Journal of Applied Phycology*. 2000. V. 12(3/5). P. 301-307. doi:10.1023/a:1008185212724
18. Matsuzaki R., Hara Y., Nozaki H. A taxonomic revision of *Chloromonas reticulata* (Volvocales, Chlorophyceae), the type species of the genus *Chloromonas*, based on multigene phylogeny and comparative light and electron microscopy. *Phycologia*. 2012. Vol. 51(1). P. 74-85. doi: 10.2216/11-18.1
19. Minyuk G.S., Drobetskaya I.V., Chubchikova I.N., Terentyeva N.V. Odnokletochnye vodorosli kak vozobnovlyaemyj biologicheskij resurs: Obzor. *Mors'kij ekologichnij zhurnal*. 2008. T. VII(2). S. 5-23. (In Russian)
20. Mostafa S.S.M. Microalgal biotechnology: prospects and applications. In *Plant Science*. Edited by Nabin Kumar D. INTech. 2012. doi: 10.5772/53694. Available

from: https://www.intechopen.com/books/plant-science/microalgal-biotechnology-prospects-and-applications
21. Ng D.H.P., Ng Y.K., Shen H., Lee Y.K. Microalgal biotechnology: The way forward. In S.K. Kim (Ed.). *Handbook of marine microalgae: Biotechnology Advances*. London: Academic Press. 2015. 69-77 p. doi:10.1016/b978-0-12-800776-1.00006-6
22. Novakovskaya I.V., Patova E.N., Boldina O.N., Patova A.D., Shadrin D.M. Molecular phylogenetic analyses, ecology and morphological characteristics of *Chloromonas reticulata* (Goroschankin) Gobi which causes red blooming of snow in the Subpolar Urals. *Cryptogamie, Algologie*. 2018. V. 39 (2). P. 199-213. doi: 10.7872/crya/v39.iss2.2018.199
23. Osterrothová K., Culka A., Němečková K., Kaftan D., Nedbalová L., Procházková L., Jehlička J. Analyzing carotenoids of snow algae by Raman microspectroscopy and high-performance liquid chromatography. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2019. V. 212. P. 262-271. doi: 10.1016/j.saa.2019.01.013
24. Remias D., Albert A., Lütz C. Effects of realistically simulated, elevated UV irradiation on photosynthesis and pigment composition of the alpine snow alga *Chlamydomonas nivalis* and the arctic soil alga *Tetracystis* sp. (Chlorophyceae). *Photosynthetica.* 2010. V. 48 (2). P. 269-277.
25. Rezanka T., Nedbalova L., Prochazkova L., Sigler K. Lipidomic profiling of snow algae by ESI-MS and silver-LC/APCI-MS. Phytochemistry. 2014. V. 100. P. 34-42. doi: 10.1016/j.phytochem.2014.01.017
26. Rise M., Cohen E., Vishkautsan M., Cojocaru M., Gottlieb H.E., Arad S. (M.). Accumulation of secondary carotenoids in *Chlorella zofingiensis*. *Journal of Plant Physiology*. 1994. V. 144. P. 287-292. doi: 10.1016/S0176-1617(11)81189-2
27. Solovchenko A.E. Physiology and adaptive significance of secondary carotenogenesis in green microalgae. *Russian Journal of Plant Physiology*. V. 60 (1). 2013b. P.1-13.
doi: 10.1134/S1021443713010081
28. Solovchenko A.E., Chivkunovaa O.B., Maslova I.P. Pigment composition, optical properties, and resistance to photodamage of the microalga *Haematococcus pluvialis* cultivated under high light. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2011. V. 58(1). P. 9-17.
doi: 10.1134/S1021443710061056
29. Solovchenko A.E., Chivkunovaa O.B., Semenovaa L.R., Selyakha I.O., Shcherbakova P.N., Karpovaa E.A., Lobakova E.S. Stress-induced changes in pigment and fatty acid content in the microalga *Desmodesmus* sp. isolated from a White Sea hydroid. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2013a. V. 60(3). P. 313-321. doi: 10.1134/S1021443713030138
30. Solovchenko A.E., Khozin-Goldbergb I., Didi-Cohenb S., Cohenb Z., Merzlyaka M.N. Effects of light and nitrogen starvation on the content and composition of carotenoids of the green microalga *Parietochloris incisa*. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2008. V. 55(4). P. 455-462.
31. Solovchenko A., Merzlyak M.N., Khozin-Goldberg I., Cohen Z., Bousibba S. Coordinated carotenoid and lipid synthesis induced in *Parietochloris insica* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae) mutant deficient in Δ5 desaturase by nitrogen starvation and high light. *Journal of Phycology*. 2010. V. 46. P. 763-772.
32. Zheng Y., Xue C., Chen H., He C., Wang, Q. Low-temperature adaptation of the snow alga *Chlamydomonas nivalis* is associated with the photosynthetic system regulatory process. *Frontiers in Microbiology*. 2020. № 11. doi:10.3389/fmicb.2020.01233