

Сравнительная оценка биохимического состава биомассы микроводорослей *Chlorella vulgaris* и *Scenedesmus obliquus*

© 2021. В. А. Лукьянов¹, к. б. н., н. с.,
С. Ю. Горбунова², к. б. н., с. н. с., И. В. Грибовская³, к. б. н., с. н. с.,
¹Курский федеральный аграрный научный центр,
305021, Россия, г. Курск, ул. Карла Маркса, д. 70Б,
²Федеральный исследовательский центр
«Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского» РАН,
299011, Россия, г. Севастополь, пр. Нахимова, д. 2,
³Институт биофизики Сибирского отделения РАН,
660036, Россия, г. Красноярск, Академгородок, д. 50, стр. 50,
e-mail: lukyanov27@mail.ru, svetlana_8423@mail.ru, gribov@ibp.ru

Проведена сравнительная оценка продуктивности, биохимического, минерального и жирнокислотного состава сухой биомассы двух зелёных микроводорослей *Chlorella vulgaris* и *Scenedesmus obliquus*. Достоверных отличий между значениями максимальной продуктивности микроводорослей не обнаружено, при этом отмечено превосходство качества биомассы *S. obliquus* по следующим биохимическим показателям: содержание белка – 68,7%, липидов – 27,6%, каротиноидов – 0,096 мг/г. Показано, что при выращивании исследуемых видов микроводорослей в заданных одинаковых условиях, их биомасса имеет достаточно различимый минеральный состав. Экспериментально установлено, что содержание N в клетках *S. obliquus* на 2,5% выше, чем в клетках *C. vulgaris*, при этом концентрации P практически равны. Содержание Na в клетках *C. vulgaris* в 2 раза меньше по сравнению с его количеством в *S. obliquus*; K – в 3 раза. Концентрация Ca, S, Mg, Fe выше в биомассе *C. vulgaris*; Cr и Pb – в биомассе *S. obliquus*. Установлено различие по количественному составу жирных кислот исследуемых объектов. В биомассе *C. vulgaris* основное количество (более 5%) занимали кислоты: пальмитиновая – 23,63%, стеариновая – 18,57%, линолевая – 16,73%, 4-гексадекадиеновая – 6,37%, α -линоленовая – 5,46% и лигноцериновая – 5,46%; в биомассе *S. obliquus*: линолевая – 21,54%, пальмитиновая – 18,82%, олеиновая – 10,81%, α -линоленовая – 10,74%, 3-гексатетраеновая – 9,82%.

Ключевые слова: микроводоросли, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, биохимический состав, жирные кислоты, продуктивность, биотехнология.

Comparative evaluation of biochemical composition of microalgae biomass *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus*

© 2021. V. A. Lukyanov¹ ORCID: 0000-0003-1764-4083,
S. Yu. Gorbunova² ORCID: 0000-0003-2770-1221, I. V. Gribovskaya³ ORCID: 0000-0002-3505-4629,
¹Federal Agricultural Kursk Research Center,
70B, Karla Marxa St., Kursk, Russia, 305021,
²The A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS,
2, Nakhimova Prospekt, Sevastopol, Russia, 299011,
³Institute of Biophysics, Siberian Branch of the RAS,
50/50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, Russia, 660036,
e-mail: lukyanov27@mail.ru, svetlana_8423@mail.ru, gribov@ibp.ru

A comparative evaluation of the productivity, biochemical, mineral and fatty acid composition of dry biomass of two green microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus obliquus* was carried out. Under similar conditions of cultivation, no significant differences between the values of the maximum productivity of microalgae were found. The superiority of *S. obliquus* biomass quality in the following biochemical parameters was established: 68.7% protein, 27.6% lipids, 0.096 mg/g carotenoids. It has been shown that when growing the studied species of microalgae on the same Tamiya nutrient medium, their biomass had a sufficiently distinct mineral composition. It has been experimentally established that the nitrogen content in *S. obliquus* cells was by 2.5% higher than in *C. vulgaris* cells, herewith the concentration of phosphorus was almost the same. The sodium content in *C. vulgaris* biomass was twice as little as its quantity in *S. obliquus*; potassium was 3 times less. Ca, S, Mg, Fe had a higher content in *C. vulgaris* microalgae. The concentra-

tions of Cr и Pb were higher in *S. obliquus* biomass. The difference in the quantitative composition of fatty acids of the studied objects has been established. In *C. vulgaris* biomass the following acids predominated (their content was more than 5%): 23.63% palmitic, 18.57% stearic, 16.73% linoleic, 6.37% 4-hexadecadiene, 5.46% α -linolenic, 5.46% lignoceric acid; in the biomass of *S. obliquus*: 21.54% linoleic, 18.82% palmitic, 10.81% , oleic, 10.74% α -linolenic, and 9.82% 3-hexatetraenic acid.

Keywords: microalgae, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus*, biochemical composition, fatty acids, productivity, biotechnology.

Микроводоросли (МВ) обладают высокой фотосинтетической активностью. Клетки отдельных видов способны при самых благоприятных условиях за 1 цикл развития (12 ч) поделиться на 32 автоспоры и, по сути, увеличить количество биомассы в 32 раза [1]. Удивительно пластичный и быстрый метаболизм МВ зависит от многих условий – свойств штамма, состава питательной среды, температуры, pH, концентрации CO₂, источника и мощности освещения, типа фотобиореактора, слоя освещения суспензии, режима культивирования, контаминации и обсеменённости культуры посторонними микроорганизмами и др. [2, 3].

Одноклеточные МВ являются уникальными объектами для исследований, а отдельные виды могут быть использованы в биотехнологии для решения определённых проблем современных наукоёмких предприятий. Например, приводятся данные [4–6], свидетельствующие о способности различных МВ использовать животноводческие отходы в качестве источника питательных веществ, что позволяет утилизировать сточные воды производств, которые накапливаются в огромных количествах и наносят вред экосистемам.

Отдельно стоит отметить стабильный рост исследований и разработок новой продукции из МВ для индустрии аквакультуры. Результаты многих исследований, а также перечень продукции некоторых компаний-производителей позволяют судить о востребованности и эффективности такой продукции. С другой стороны, мировое производство МВ в сравнении с производством другой продукции имеет экспоненциальный рост и всё ещё остаётся в стадии развития. Например, в глобальном масштабе по сухой массе ежегодно осуществляется производство морских водорослей около 25 млн т/год, рыбьего жира 1 млн т, в то время как МВ производят всего 30 тыс. т [7].

Наука и производство в области биотехнологии МВ успешно развиваются, изучаются новые штаммы, проводится их селекция, разрабатываются новые технологии выращивания. Наиболее выгодной продукцией по-прежнему считаются биологически активные добавки к пище, натуральная

косметика, экстракты с антиоксидантными свойствами [8, 9].

Высокая биотехнологическая ценность МВ обусловлена содержанием в их биомассе белков, углеводов, липидов, макро- и микроэлементов, витаминов, аминокислот, пигментов, антиоксидантов. Зная биохимический состав МВ, можно судить о перспективности того или иного вида в биотехнологическом отношении. В работах [10–12] показано, что биохимический состав МВ, особенно их липидов и жирных кислот, меняется в зависимости от физических и химических факторов, таких как свет, температура, аэрация, концентрации питательных веществ. Например, при выращивании при различной температуре *Chlorella vulgaris* (20, 25 и 30 °C) и *Botryococcus brauni* (18, 25 и 32 °C) при более высокой температуре происходило снижение содержания ненасыщенных жирных кислот [13]. Азотное голодание и высокая облучённость индуцировали накопление арахидоновой кислоты в зелёной водоросли *Parietochloris incisa* [14]. Таким образом, наши исследования мы стремились провести в строго аналогичных условиях.

Цель работы – сравнительная оценка ростовых характеристик, биохимического, минерального и жирнокислотного состава представителей двух разных видов микроводорослей при одинаковых условиях выращивания.

Объекты и методы исследования

В работе использовали штаммы МВ *Chlorella vulgaris* (Beijerinck) и *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Krüger из коллекции Научно-образовательного центра коллективного пользования ФГБУН ИМБИ «Коллекция гидробионтов Мирового океана». Микроводоросли культивировали в накопительном режиме в течение 72 ч. Для выращивания использовали лабораторные стеклянные фотобиореакторы закрытого типа объёмом 5 л с постоянным перемешиванием 5 л/мин. Система подачи углекислого газа была настроена таким образом, чтобы обеспечивался уровень pH от 7,0 до 7,2 [15]. Круглосуточная освещённость приёмной поверхности фотобиореактора составляла

12000 люменов, температура в фотобиореакторах – 28–30 °С. Продуктивность биомассы определяли объёмно-весовым методом путём промывки биомассы с последующей сушкой. Содержание калия и натрия определяли на пламенном фотометре Flapho-4 Carl Zeiss, кальций и магний – методом атомной абсорбции на спектрофотометре ААС-1N. Железо, марганец, медь, цинк – методом атомной абсорбции на спектрометре Квант-2А. Фосфор определяли фотометрическим способом на фотоколориметре КФК-2, серу – объёмным методом с индикатором нитрохромазо. Липиды экстрагировали из свежесобранной биомассы смесью изопропанол-хлороформ в отношении 1:1 (по объёму). Жирные кислоты анализировали в виде метиловых эфиров на газовом хроматографе с масс-спектрометрическим детектором GCD Plus, Hewlett Packard. Углеводы определяли антроновым методом, белок – по методу Лоури [16]. Рассчитывали средние арифметические (\bar{x}), стандартные отклонения (S), основные ошибки средних, доверительные интервалы для средних ($\Delta\bar{x}$). Все расчёты проводили для уровня значимости $p = 0,05$. В таблицах представлены усреднённые значения и рассчитанные доверительные интервалы ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$).

Результаты и обсуждение

Начальная плотность культур была искусственно выровнена до значения 0,2 г/л по

сухой биомассе. Исследования проводили в строго одинаковых условиях. В ходе сравнительной оценки динамики роста *C. vulgaris* и *S. obliquus* было установлено, что при указанных условиях культивирования значения максимальной продуктивности МВ практически одинаковы. Через 72 ч максимальная плотность культуры *C. vulgaris* (B_m) достигла 1,95 г/л с ежесуточной продуктивностью (P) 0,65 г/л, а плотность культуры *S. obliquus* составила 2,05 г/л с ежесуточной продуктивностью 0,68 г/л.

Следует отметить, что биохимические показатели биомассы исследуемых культур МВ *C. vulgaris* и *S. obliquus* достоверно различались, что обусловлено видоспецифичностью каждой из культур (табл. 1).

Количество белка в биомассе *C. vulgaris* составило 52,8%, что характерно для штаммов *Chlorella* [17], при этом количество белка у *S. obliquus* оказалось значительно выше – 68,7%, что не характерно для типичных представителей зелёных одноклеточных МВ [18]. Количество липидов и каротиноидов в биомассе *S. obliquus* также было выше, чем в биомассе *C. vulgaris*, причём по каротиноидам значения отличались в 2 раза. Обратная ситуация наблюдалась только с углеводами – в биомассе *C. vulgaris* их количество было выше и составило 7,0%, в биомассе *S. obliquus* – 5,8%.

Учитывая, что оба вида МВ выращивали на одной и той же питательной среде Тамия,

Таблица 1 / Table 1

Биохимические показатели микроводорослей
Biochemical indicators of microalgae

Микроводоросли Microalgae	Белок Protein	Углеводы общие Total carbohydrates	Липиды общие Total lipids	Каротиноиды Carotenoids
	% сухого вещества / % dry matter			мг/г / mg/g
<i>C. vulgaris</i>	52,80±0,13	7,000±0,018	20,00±0,05	0,0460±0,0001
<i>S. obliquus</i>	68,70±0,17	5,800±0,015	27,60±0,07	0,0970±0,0002

Таблица 2 / Table 2

Минеральный состав биомассы микроводорослей, включая тяжёлые металлы (г/кг)
Mineral composition of microalgae biomass, including heavy metals (g/kg)

Элемент The element	<i>C. vulgaris</i>	<i>S. obliquus</i>	Элемент The element	<i>C. vulgaris</i>	<i>S. obliquus</i>
N	85,00±0,26	110,00±0,33	Zn	0,210±0,001	0,230±0,001
Na	47,85±0,14	23,49±0,07	Mn	0,0900±0,0005	0,0800±0,0004
P	20,36±0,06	21,51±0,06	Cu	0,0440±0,0002	0,01600±0,00008
K	19,72±0,06	7,75±0,02	B	0,0190±0,0001	0,01500±0,00008
Ca	18,91±0,06	13,57±0,04	Se	0,00500±0,00003	0,00200±0,00001
S	16,79±0,05	8,82±0,03	Cr	0,01100±0,00006	0,01400±0,00007
Mg	12,01±0,04	10,56±0,03	Pb	0,00200±0,00001	0,00400±0,00002
Fe	0,57±0,003	0,31±0,001	Co	0,001000±0,000005	0,001000±0,000005

Таблица 3 / Table 3

Состав жирных кислот (ЖК) микроводорослей (% от суммы ЖК)
The composition of microalgae fatty acids (FA) (% of FA amounts)

Жирные кислоты / Fatty acids	<i>C. vulgaris</i>	<i>S. obliquus</i>
Каприновая / Capric	0,02	0,01
Лауриновая / Lauric	0,10	0,06
Миристиновая / Myristic	1,29	0,60
Пентадециловая / Pentadecylic	2,06	0,24
13-метил-тетрадекановая / 13-methyl-Tetradecanoic	0,17	0,26
12-метилтетрадекановая / 12-methyl-Tetradecanoic	0,28	–
Пальмитиновая / Palmitic	23,63	18,82
Изопальмитиновая / Isopalmitic	0,16	–
7-Гексадеценовая / 7-Hexadecenoic	0,50	1,08
Пальмитолеиновая / Palmitoleic	0,84	3,37
3-Гексадеценовая / 3-Hexadecenoic	1,85	1,20
Гексадекадиеновая / Hexadecadienoic	0,03	0,24
4-Гексадекадиеновая / 4-Hexadecadienoic	6,37	3,60
3-Гексадекатриеновая / 3-Hexadecatrienoic	2,23	3,50
3-Гексадекатетраеновая / 3-Hexadecatetraenoic	–	9,82
Маргариновая / Margaric	2,55	0,35
Гептадеценовая / Heptadecenoic	0,20	–
Стеариновая / Stearic	18,57	1,98
7-Октадеценовая / 7-Octadecenoic	0,70	1,75
Олеиновая / Oleic	1,63	10,81
Гидроксиоктадеценовая / Hydroxyoctadecenoic	–	0,66
Линолевая / Linoleic	16,73	21,54
α-Линоленовая / α-Linolenic	5,46	10,74
γ-Линоленовая / γ-Linolenic	–	1,96
3-Октадекатетраеновая / 3-Octadecatetraenoic	–	2,20
Арахидовая / Arachidic	1,08	0,08
Эйкозеновая / Eicosenoic	–	1,55
Эйкозодиеновая / Eicosadienoic	–	0,16
Геникосиловая / Heneicosylic	0,29	–
Бегеновая / Behenic	1,00	0,64
Трикозиловая / Tricosylic	1,31	0,14
Лигноцериновая / Lignoceric	5,46	1,20
Церотиновая / Cerotic	2,68	0,69
Карбоцериновая / Carboceric	0,30	–
Монтановая / Montanic	2,51	0,80

Примечание: «–» – жирная кислота не была обнаружена.
Note: “–” – no fatty acid was detected.

а также были созданы одинаковые условия по температуре и освещённости, *C. vulgaris* и *S. obliquus* имели разное количество минеральных веществ, что можно объяснить их разной видовой принадлежностью. Содержание азота в сухой биомассе *C. vulgaris* составило 8,5%, что на 2,5% ниже, чем в биомассе *S. obliquus* (11,0%). Среда Тамия была модифицирована и KNO_3 был заменён на $NaNO_3$, в связи с чем содержание Na в клетках МВ оказалось выше, чем K. Натрий

преобладал в культуре *C. vulgaris* и составил 47,85 г/кг, при этом в клетках *S. obliquus* его концентрация была в 2 раза ниже. Количество P в биомассе обоих видов МВ было практически одинаковым и составило 20,36 и 21,51 г/кг соответственно. По содержанию K разница оказалась ещё значительнее – в 3 раза или 19,72 и 7,75 г/кг соответственно. Ca, S, Mg, Fe имели более высокое содержание в МВ *C. vulgaris*. Концентрация Cr и Pb была выше в биомассе *S. obliquus*, при этом

количественные показатели Zn, Mn, В и Со были практически одинаковыми.

Полученные результаты по анализу жирных кислот исследуемых видов МВ свидетельствуют об их разном качественном и количественном содержании в сухой биомассе.

В биомассе *C. vulgaris* основное количество (более 5%) занимали следующие жирные кислоты (в %): пальмитиновая – 23,63; стеариновая – 18,57; линолевая – 16,73; 4-гексадекадиеновая – 6,37; α -линоленовая и лигноцериновая – по 5,46. Менее 1% от суммы жирных кислот в клетках *C. vulgaris* занимали: каприновая, лауриновая, 13-метил-тетрадекановая, 12-метилтетрадекановая, изопальмитиновая, 7-гексадеценная, пальмитолеиновая, гексадекадиеновая, гептадеценная, 7-октадеценная, геникосиловая, карбоцериновая жирные кислоты. По сравнению с *S. obliquus* не были обнаружены: 3-гексадекатетраеновая, гидроксооктадеценная, γ -линоленовая, 3-октадекатетраеновая, эйкозеновая, эйкозодиеновая жирные кислоты.

В биомассе *S. obliquus* преобладали (более 5%): пальмитиновая – 18,82; 3-гексатетраеновая – 9,82; олеиновая – 10,81; линолевая – 21,54 и α -линоленовая – 10,74. Менее 1% от суммы жирных кислот занимали каприновая, лауриновая, миристиновая, пентадециловая, 13-метилмиристиновая, гексадекадиеновая, маргариновая, гидроксооктадеценная, арахидовая, эйкозодиеновая, бегеновая, трикозановая, церотиновая и монтановая жирные кислоты. По сравнению с *C. vulgaris* не были обнаружены 12-метилтетрадекановая, изопальмитиновая, гептадеценная, геникосиловая и карбоцериновая жирные кислоты.

Заключение

Изучены кинетические характеристики роста, биохимический, минеральный и жирнокислотный состав двух видов МВ *C. vulgaris* и *S. obliquus*. Статистически значимых отличий по продуктивности обеих культур в одинаковых заданных условиях выращивания не выявлено. Биомасса *C. vulgaris* содержит 52,8% белка, 7,0% углеводов, 20% липидов, 0,046 мг/г каротиноидов, а биомасса *S. obliquus* имеет не типичный для зелёных МВ состав – 68,7% белка, 5,8% углеводов, 27,6% липидов, 0,096 мг/г каротиноидов. Экспериментально установлено, что содержание N в сухой биомассе *S. obliquus* на 2,5% выше, чем в клетках *C. vulgaris*. Обратная ситуация отмечена с элементами Na

и K, в биомассе *C. vulgaris* они обнаружены в больших концентрациях (в 2 и 3 раза, соответственно). Количество P в биомассе обоих видов МВ было практически одинаковым. Са, S, Mg, Fe имели более высокое содержание в клетках *C. vulgaris*. Cu, В, Se, Cr, Pb, Со и Cd присутствовали в небольших количествах в биомассе обоих МВ.

Установлено различие по количественному составу жирных кислот исследуемых МВ. Яркой отличительной особенностью *S. obliquus* стало наличие 3-гексадекатетраеновой кислоты, а также высокое содержание олеиновой, линолевой и α -линоленовой жирных кислот. В биомассе *C. vulgaris* отмечено более высокое содержание пальмитиновой, 4-гексадекадиеновой, стеариновой и лигноцериновой жирных кислот.

Полученные результаты по содержанию белка, углеводов, липидов, минеральных элементов, жирнокислотному составу имеют важное практическое значение, поскольку являются необходимой информацией при выборе наиболее биотехнологически ценных и подходящих видов МВ для определённых технологических производств. Данные о продуктивности МВ можно использовать и скорректировать для проведения расчётов выхода биомассы при коммерческой организации производства МВ.

Работа подготовлена по теме государственного задания ФИЦ ИнБЮМ, номер государственной регистрации АААА-А18-118021350003-6.

References

1. Yamamoto M., Kurihara I., Kawano S. Late type of daughter cell wall synthesis in one of the Chlorellaceae, *Parachlorella kessleri* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae) // J. Planta. 2005. V. 221. No. 6. P. 766–775. doi: 10.1007/s00425-005-1486-8
2. Liang Y., Beardall J., Heraud P. Effect of UV radiation on growth, chlorophyll fluorescence and fatty acid composition of *Phaeodactylum tricorutum* and *Chaetoceros muelleri* (Bacillariophyceae) // J. Phycologia. 2006. V. 45. No. 6. P. 605–615. doi: 10.2216/04-61.1
3. Solovchenko A.E., Khozin-Goldberg I., Didi-Cohen S., Cohen Z., Merzlyak M.N. Effects of light intensity and nitrogen starvation on growth, total fatty acids and arachidonic acid in the green microalga *Parietochloris incisa* // Journal of Applied Phycology. 2008. V. 20. P. 245–251. doi: 10.1007/s10811-007-9233-0
4. Lysenko V.P. Ecological problems of poultry farms in Russia and the role of biotechnology in the processing of organic waste // Otrasley portal o promyshlennom pticevodstve v Rossii. 2016. [Internet resource]

<http://webpticeprom.ru/ru/articles-processing-waste.html?pageID=1229453737> (Accessed: 25.04.2016) (in Russian).

5. Zhondareva Ya.D., Gorbunova S.Yu. Utilization of poultry farm wastewater to increase productivity of *Arthrospira platensis* (Nordst.) Geitler. // Vestnik Sankt-Peterburgskogo Universiteta. Seriya 3: Biologiya. 2015. No. 1. P. 64–70 (in Russian).

6. Markou G. Fed-batch cultivation of *Arthrospira* and *Chlorellain* ammonia-rich wastewater: optimization of nutrient removal and biomass production // Biores. Technol. 2015. V. 193. P. 35–41. doi: 10.1016/j.biortech.2015.06.071

7. Slocombe S.P., Benemann J.R. Microalgal production for biomass and high-value products. Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor & Francis Group, 2016. 334 p.

8. Stadnichuk I.N., Tropin I.V. Phycobiliproteins: structure, function and use in biotechnology // Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya. 2017. V. 53. No. 1. P. 5–15 (in Russian). doi: 10.7868/S0555109917010184

9. Demmig-Adams B., Adams W. Antioxidants in photosynthesis and human nutrition // J. Science. 2002. V. 298. No. 5601. P. 2149–2153. doi: 10.1126/science.1078002

10. Liang Y., Beardall J., Heraud P. Effect of UV radiation on growth, chlorophyll fluorescence and fatty acid composition of *Phaeodactylum tricorutum* and *Chaetoceros muelleri* (Bacillariophyceae) // Phycologia. 2006. V. 45. No. 6. P. 605–615. doi: 10.2216/04-61.1

11. Solovchenko A.E., Khozin-Goldberg I., Didi-Cohen S., Cohen Z., Merzlyak M.N. Effects of light intensity and nitrogen starvation on growth, total fatty acids and arachidonic acid in the green microalga *Parietochloris incisa* // Journal of Applied Phycology. 2008. V. 20. No. 3. P. 245–251. doi: 10.1007/s10811-007-9233-0

12. Trenkenshu R.P., Lelekov A.S., Borovkov A.B., Novikova T.M. Unified installation for laboratory research

of microalgae // Voprosy sovremennoy al'gologii. 2017. No. 1 (13) [Internet resource] <http://algology.ru/1097> (Accessed: 11.01.2019) (in Russian).

13. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr S.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. V. 193. P. 265–275.

14. Gribovskaya I.V., Kalacheva G.S., Tirranen L.S., Kolmakova A.A., Bayanova Yu.I. Use of urine in the nutrition of *Chlorella vulgaris* // Zhurnal Sibirskogo federalnogo universiteta. Seriya: Biologiya. 2011. V. 4. No. 3. P. 243–256 (in Russian). doi: 10.17516/1997-1389-0168

15. Renuka N., Guldhe S., Singh P., Ansari F.S., Rawat I., Bux F. Evaluating the potential of cytokinins for biomass and lipid enhancement in microalga *Acutodesmus obliquus* under nitrogen stress // Energy Conversion and Management. 2017. V. 140. P. 14–23. doi: 10.1016/j.enconman.2017.02.065

16. De la Peca MR. Cell growth and nutritive value of the tropical benthic diatom, *Amphora* sp., at varying levels of nutrients and light intensity, and different culture locations // Journal of Applied Phycology. 2007. V. 19. No. 6. P. 647–655. doi: 10.1007/s10811-007-9189-0

17. Sushchik N.N., Kalacheva G.S., Zhila N.O., Gladyshev M.I., Volova T.G. A temperature dependence of the intra- and extracellular fatty-acid composition of green algae and cyanobacterium // Russian Journal of Plant Physiology. 2003. V. 50. No. 3. P. 374–380. doi: 10.1023/A:1023830405898

18. Khozin-Goldberg I., Bigogno C., Shrestha P., Cohen Z. Nitrogen starvation induces the accumulation of arachidonic acid in the freshwater green alga *Parietochloris incisa* (Trebuxiophyceae) // Journal of Phycology. 2002. V. 38. No. 5. P. 991–994. doi: 10.1046/j.1529-8817.2002.01160.x